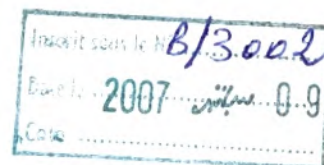


République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère d'enseignement et de la recherche scientifique
UNIVERSITÉ ABOU BAKR BELKAID –TLEMCEEN-

Faculté des sciences
Département de biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du
Diplôme de Magister en biologie

Option : Substances naturelles, activités biologiques et synthèse

**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**

Présenté par : *M^r AZZI Rachid*

Soutenu le :

devant le jury :

M ^r BOUCHERIT K.	M.C.	Président
M ^r TABTI B.	Pr	Examineur
M ^r BENMANSOUR A.	M.C	Examineur
M ^r LAHFA F.	C.C	Co promoteur
M ^r DJAZIRI R.	M.C	Promoteur

Année Universitaire : 2006-2007

Remerciements

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

En premier lieu, je tiens à remercier Monsieur **Djaziri R.**, Maître de conférence au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen-, pour avoir accepté de diriger et suivi ce travail avec disponibilité, patience et bienveillance.

J'exprime également ma profonde reconnaissance et mes respects à Monsieur **Lahfa F.**, Chargé de cours au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen- pour avoir participer à la direction de ce travail, pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Je tiens à remercier Monsieur **Boucherit K.**, Maître de Conférence au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen- directeur du laboratoire antibiotique antifangique physico-chimique synthèse et activité biologique, d'avoir accepter de présider le jury.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **Tabti B.**, Professeur au Département de chimie, faculté des sciences, Université d'Abou Bakr Belkaid-Tlemcen-, Doyen de la faculté des sciences, d'avoir accepter d'examiner et discuter ce travail.

Mes remerciements à Monsieur **Benmansour A.**, Maître de conférence au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen- d'avoir accepter de faire partie de ce jury.

Mes vifs remerciements s'adressent également au dirigeant de laboratoire antibiotique antifangique physico-chimique synthèse et activité biologique (ATB ATF) et laboratoire des produits naturels (LAPRONA).

Je voudrais aussi remercier toutes personnes ayant contribuées à la réalisation de ce mémoire, en particulier à M^{elle} **Benariba N.**, Maître assistante au département de biologie, faculté des sciences, Université d'Abou Bakr Belkaid -Tlemcen-, pour leur aide précieuse, aux responsables des laboratoires en particulier M^R **Rahmoun M.N.**, **Douzi K.**, **Dib F.**, **Dahmani A.**, **Amel S.**, aux responsables de l'animalerie, au responsable de la salle d'Internet M^{elle} **Belkacem N.** et à mes collègues de Magister en particulier M^{elle} **Zeriouh M.**, **Haddouchi F.**, **Baba Ahmed Z.**

Résumé

Ce travail porte sur la recherche d'effets antidiabétiques des alcaloïdes totaux, des extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) « Handal », famille des cucurbitacées, sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques par Streptozotocine.

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

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

L'influence de ces extraits sur le taux de glucose sanguin chez les rats normaux et chez les rats diabétiques a été suivi à court terme (0, 1, 2 et 4h) et à long terme (durant 9 semaines) après une injection unique, par voie intra-péritonéale, d'alcaloïdes totaux, à la dose de : 60 mg/kg p.c ou de 20 mg/kg p.c d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines ou de 20 mg/kg p.c d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines.

Cet effet est également analysé chez les rats normaux et diabétiques soumis au test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (test tolérance au glucose).

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

Par ailleurs, l'effet de ces extraits sur la captation du glucose par les cellules adipeuses isolées du tissu épидидymal des rats mâles, a été analysé, *in vitro*.

Au préalable, la toxicité aiguë de ces extraits a été évaluée par la détermination de la DL₅₀ et la DL₁₀₀. la DL₅₀ est respectivement de 800 mg/kg p.c pour les alcaloïdes totaux, 200 mg/kg p.c pour les glycosides cucurbitacines extrait chloroformique et 75mg/kg p.c pour les glycosides cucurbitacines extrait éthanolique.

Les résultats obtenus montrent un effet antihyperglycémiant de ces extraits. Les alcaloïdes totaux diminuent l'hyperglycémie de 49% 4h après leurs injections chez le rat diabétique. Cette diminution persiste durant 3 semaines.

Les extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides cucurbitacines réduisent l'hyperglycémie à 40% et 9% respectivement après 4h. Cet effet persiste durant 5 semaines.

Les alcaloïdes et les glycosides cucurbitacines ne semblent pas avoir d'effets notables sur le métabolisme des rats normaux.

Enfin, ces extraits montrent un effet stimulateur sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolés de rats de laboratoire.

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

Abstract

This study was designed to evaluate the antidiabetic effect of alkaloidal and glycosidic cucurbitacin extract from seeds of colocynthis (*Citrullus colocynthis* L. Shard) "handal", family of cucurbitaceae, in streptozotocin diabetic rats.

This plants was used as remedy for treatment of diabetes in folk medicine in Maghreb and middle east regions.

Adult rats (*Rattus norvegicus*) were used. Diabetes mellitus was induced in the groups of diabetic rats by intra peritoneal injection of streptozotocin (65mg/kg).

Antidiabetic effect of these components was investigated in fasted normal and diabetic rats. Blood glucose levels were determined at short times (0, 1, 2 and 4h), long times (9 weeks) and under oral glucose tolerance test (OGTT), after single intra peritoneal administration of alkaloidal extract (60 and 80mg/kg b.w) or chloroformic glycosides cucurbitacin extract (20 mg/kg b.w) or ethanolic glycosides cucurbitacin extract (20 mg/kg b.w).

Else, these fractions were tested in vitro on glucose uptake in adipocytes cells isolated.

First, toxic effects of these compounds were determined. The alkaloidal extract was moderately toxic (LD50= 800mg/kg b.w), LD50 for chloroformic glycosides cucurbitacin extract was 200mg/kg w.b and LD50 for ethanolic glycosides cucurbitacin extract was 75 mg/kg b.w.

Results showed an antihyperglycemic effect of all extract studied. Alkaloidal extract produced significant reduction of blood glucose levels in diabetic rats by 49% after 4h, this effect persists for 3 weeks.

Chloroformic and ethanolic glycosides cucurbitacin reduced blood glucose concentrations of the fasted diabetic rats by 40 and 9%, respectively. This reduction persists for 5 weeks after single administration.

Finally, alkaloidal extract and glycosidal extract did not lowered significantly blood glucose levels in fasted normal rats.

Key words: *Citullus colocynthis*, Diabetes mellitus, alkaloids, glycosides cucurbitacin, isolated adipocytes, streptozotocin, rats.

الملخص

هذا العمل يدخل في اطار البحث عن تأثير مستخلصات الألكلويدات و الغليكوزيدات المستحضرة في الكلوروفورم أو الكحول, المستخرجة من حبوب نبات الحنظل (*Citrullus colocynthis*), في خفض نسبة السكر في الدم عند الفئران المخبرية عادية و أخرى مصابة بالسكري من خلال حقن مادة الستربتوزوتوسين.

نبات الحنظل نبات طبيعي يستعمل تقليديا عند مرضى السكري لخفض نسبة السكر في الدم خاصة في منطقة المغرب العربي و الشرق الأوسط.

تأثير هذه المستخلصات عند الفئران المخبرية العادية و كذا المصابة بالسكري تم بمراقبة تغيرات نسبة السكر في الأربع الساعات الأولى (0, 1, 2, 4 ساعات) من حقن 60 إلى 80 مغ/كغ من الألكلويدات أو 20 مغ/كغ من مستخلص الغليكوزيدات المستحضرة في الكلوروفورم أو 20 مغ/كغ من مستخلص الغليكوزيدات المستحضرة في الكحول. نفس الفئران تم مراقبتها أسبوعيا (لمدة 9 أسابيع) من خلال مراقبة تغيرات نسبة السكر و نسبة الكولسترول في الدم و كذا مراقبة تغيرات أوزان هذه الفئران خلال نفس الفترة.

و لقد تم مراقبة مجموعة أخرى من الفئران العادية و المصابة بالسكري بعد رفع نسبة السكر في الدم من خلال تقديم 2.5 غ/كغ من السكر عن طريق الفم 30 دقيقة بعد حقن نفس الكميات من نفس المستحضرات.

كما أنه تم تتبع دور هذه المواد في تسهيل عملية دخول السكر الى داخل الخلايا الدهنية المستخلصة من النسيج الدهني لذكور الفئران.

في الأول, تم تحديد درجة تسمم كل مستخلص من خلال تعيين التركيز الذي يسبب مقتل 50 % من المجموعة. النتائج أفرزت 800 مغ/كغ عند الألكلويدات و 200 مغ/كغ عند مستحضر الكلوروفورم للغليكوزيدات و 75 مغ/كغ لمستحضر الكحول للغليكوزيدات.

النتائج الأولية أوضحت تأثير هذه المستحضرات في خفض نسبة السكر في الدم عند الفئران المصابة بالسكري حيث أن الألكلويدات تمكنت من خفض هذه النسبة الى 49% بعد 4 ساعات, هذا الإنخفاض دام 3 أسابيع. الغليكوزيدات المستحضرة في الكلوروفورم و الكحول تمكنت هي الأخرى من خفض نسبة السكر في الدم بمعدلات 40 و 9% على التوالي, و التي دامت خمس أسابيع ابتداء من حقن هذه المواد. أما بانسبة للفئران العادية لم يظهر عليها أي تغيير في نسب السكر بعد حقن نفس المستخلات.

و لقد لوحظ الدور الإيجابي لهذه المواد في إدخال السكر الى داخل الخلايا الدهنية.

الكلمات المفتاحية: الحنظل, مرض السكري, الألكلويدات, الغليكوزيدات, الفئران المخبرية, الخلايا الدهنية, الستربتوزوتوسين

Sommaire

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

1^{ère} Partie : Synthèse bibliographique

Chapitre1 : Diabète

1. Définition du diabète sucré.....	03
2. Epidémiologie du diabète	03
2.1. Dans le monde.....	03
2.2. En Algérie et à Tlemcen.....	04
3. Critères diagnostiques du diabète sucré et nouvelle classification.....	04
3.1. Critères diagnostiques.....	04
3.2. Classification du diabète sucré.....	05
4. Le diabète type 1.....	07
4.1. Diabète de type 1 auto immune	07
4.2. Diabète de type 1 idiopathique.....	08
5. Le diabète type2	08
5.1. Etiologies (Facteurs de risques).....	08
5.1.1. Facteurs génétiques.....	08
5.1.2. Facteurs environnementaux.....	09
5.2. Physiopathologie du diabète de type 2.....	11
5.2.1 L'insulinorésistance.....	11
5.2.2. Anomalies de la sécrétion d'insuline.....	12
5.3. Complications du diabète.....	12
5.3.1. Les complications aiguës.....	13
5.3.2. Les complications chroniques.....	14
5.4. Traitement du diabète type 2.....	16
5.4.1. La diététique	18
5.4.2. Les antidiabétiques oraux.....	19
5.4.3. L'insulinothérapie dans le diabète type 2.....	25
5.4.4. Nouveaux traitements.....	25

Chapitre 2 : Insuline et transport du glucose

1. Insuline.....	27
1.1. Pancréas.....	27
1.2. Structure d'insuline.....	27
1.3. Biosynthèse d'insuline.....	28
1.4. Régulation de l'insulinosécrétion	28

1.5. Mécanisme d'action de l'insuline.....	29
1.6. Actions physiologiques.....	30
2. Les transporteurs de glucose.....	31
3. Transporteurs du glucose au niveau de tissu adipeux.....	34
3.1. Tissus adipeux.....	34
3.2. Rôle physiologique de tissu adipeux.....	34
3.3. Transporteurs de glucose au niveau des adipocytes.....	35
3.4. GLUT 4 et diabète de type2	35

Chapitre 3 : Plantes antidiabétiques

1. Introduction	37
2. Plantes antidiabétiques.....	37
3. Coloquinte.....	42
3.1. Noms vernaculaires	42
3.2. Taxonomie.....	42
3.3. Description morphologique.....	43
3.4. Répartition géographique.....	43
3.5. Actions thérapeutiques	44
3.6. <i>Citrullus colocynthis</i> plante anti- diabétique.....	44
3.7. Utilisation populaire	45
3.8. Composition chimique.....	46
4. Alcaloïdes.....	49
4.1. Définition	49
4.2. Distribution.....	49
4.3. Propriétés physico-chimiques.....	49
4.4. Détection, caractérisation.....	50
4.5. Classification des alcaloïdes.....	51
4.6. Extraction des alcaloïdes.....	53
4.7. Action thérapeutique.....	53
4.8. Les alcaloïdes à activité hypoglycémiant.....	54
5. les glycosides.....	54
5.1. Définition.....	54
5.2. Types et classification des glycosides.....	54
5.3. Action thérapeutique.....	56
5.4. Glycosides à activité hypoglycémiant.....	56

2^{ème} Partie : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

I. Analyses phytochimiques.....	57
1. Matériel végétal.....	57
2. Dégraissage du matériel végétal.....	57
3. Extraction des alcaloïdes totaux.....	57
3.1. Extraction en milieu acide.....	57

3.2. Caractérisation des alcaloïdes.....	59
3.3. Identification des alcaloïdes	59
4. Extraction des glycosides cucurbitacines.....	60
4.1. Extraction des glycosides.....	60
4.2. Caractérisation des glycosides.....	62
4.3. Identification des glycosides.....	62
II. Analyses biologiques.....	62
1. Les animaux.....	62
2. Détermination de la dose létale	62
3. Effets antidiabétiques des alcaloïdes et des glycosides : <i>in vivo</i>	64
3.1. Induction du diabète expérimental.....	64
3.2. Répartitions des lots de rats.....	64
3.3. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte à court terme.....	65
3.4. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte à long terme.....	65
3.5. Effet des extraits de la coloquinte sur la régulation de l'hyperglycémie provoquée par voie orale.....	68
4. L'effet des alcaloïdes totaux et les glycosides cucurbitacine sur la captation du glucose par les adipocytes isolés.....	69
4.1. Préparation du milieu d'incubation KRBA.....	69
4.2. Isolement des adipocytes de rats.....	70
4.3. Viabilité et numération cellulaire.....	71
4.4. Incubation des adipocytes.....	72
5. Analyses statistiques.....	73
Chapitre 2 : Résultats et interprétation	
I. Analyses phytochimiques.....	75
1. Extraction des alcaloïdes totaux.....	75
2. Extraction des glycosides cucurbitacines.....	75
II. Détermination de la dose létale	77
III. Induction du diabète par la Streptozotocine (STZ).....	78
IV. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte.....	78
1. Effets à court terme.....	78
2. Effets à long terme.....	83
2.1. Evolution de la glycémie.....	83
2.2. Evolution de la cholestérolémie.....	88
2.3. Evolution du poids corporel.....	91
3. Test de hyperglycémie provoquée par voie orale.....	95
4. Captation du glucose par les adipocytes isolées.....	99
Discussion.....	105
Conclusion générale.....	110
Références bibliographiques.....	111
Annexes.....	127

Figure 31 : concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 0.54g/l du glucose en absence et en présence des adipocytes.....	100
Figure 32 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1.6g/l du glucose en absence et en présence des adipocytes.....	100

Listes des tableaux

Tableau 01 : Prévalence (%) du diabète de type 2 estimée en 1997 dans les différents continents.....	04
Tableau 02 : Critères diagnostiques du diabète sucré et les intolérances au glucose selon l'ADA et l'OMS.....	05
Tableau 03 : Autres types spécifiques du diabète sucré selon l'ADA.....	06
Tableau 04 : Complications du diabète.....	12
Tableau 05 : Les transporteurs de glucose à système de transport facilité chez les mammifères : Distribution tissulaire et fonctions physiologiques.....	33
Tableau 06 : recherche bibliographique sur les plantes antidiabétiques dans différents régions du monde (études ethnobotanique)	38
Tableau 07 : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la régions de Tlemcen, parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles.....	39
Tableau 08 : Quelques plantes à pouvoir antidiabétiques recensées par Bnouham et al., 2006	41
Tableau 09 : Étude bibliographique sur les glycosides de la coloquinte.....	47
Tableau 10 : Les alcaloïdes à activité hypoglycémiant.....	54
Tableau 11 : Classification des hétérosides végétaux (selon le mode de liaison de la génine et la structure de celui-ci.....	55
Tableau 12 : Les glycosides à activité hypoglycémiant.....	56
Tableau 13 : Détermination des dose létale des différents doses d'alcaloïdes et des glycosides injectées aux rats par voie intra-péritonéale.....	63
Tableau 14 : Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques	65
Tableau 15 : Tableau récapitulatif des différents injections des extraits de la coloquinte à long terme.....	66
Tableau 16 : Test d'hyperglycémie provoquée, répartition des lots de rats et injection des extraits de coloquinte 30min avant le gavage de 2.5g/kg p.c du glucose par voie orale.....	69
Tableau 17 : Préparation du KRB.....	70
Tableau 18 : Concentrations d'insuline, d'alcaloïdes totaux et l'extraits chloroformiques des glycosides cucurbitacines ajoutés au milieu d'incubation contenant des adipocytes.....	72
Tableau 19 : Analyses phytochimiques des alcaloïdes totaux des graines de coloquinte.....	75
Tableau 20 : Analyses phytochimiques d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte.	75
Tableau 21 : Analyses phytochimiques d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte.....	76
Tableau 22 : Détermination de la dose létale des extraits d' alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines chloroformique et éthanolique, répartition des lots, doses injectées par voie intra péritonéale et effets observés.....	77
Tableau 23 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les différents extraits des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> durant 4 heures par rapport aux rats diabétiques témoins.....	82
Tableau 24 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats normaux traités par les différents extraits des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> pondant 4 heures par rapport aux rats normaux témoins.....	82
Tableau 25 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les différents extraits des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> durant 9 semaines par rapport aux rats diabétiques témoins.....	87

Tableau 26 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats normaux traités par les différents extraits des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> durant 9 semaines par rapport aux rats normaux témoins.....	87
Tableau 27 : Comparaison entre l'effet des trois extraits des graines de la <i>Citrullus colocynthis</i> sur la variation de la glycémie provoquée par voie orale chez les rats normaux.....	98
Tableau 28 : Comparaison entre l'effet des trois extraits des graines de la <i>Citrullus colocynthis</i> sur la variation de la glycémie provoquée par voie orale chez les rats diabétiques...	99
Tableau 29 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'insulines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l...	101
Tableau 30 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'insulines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l...	101
Tableau 31 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes totaux dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l.....	102
Tableau 32: Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes totaux dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l.....	102
Tableau 33: Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l.....	103
Tableau 34 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l.....	103
Tableau 25 : Taux de glucose (en pourcentage) capté par les adipocytes isolés incubés dans un milieu contenant 0.45g/l en présence de différents concentrations d'insuline, d'alcaloïdes et des glycosides par rapport au témoin (adipocytes incubés avec 0.45g/l du glucose en absence d'extraits).....	104
Tableau 36 : Taux de glucose (en pourcentage) capté par les adipocytes isolés incubés durant 1h dans un milieu contenant 1.6g/l en présence de différentes concentrations d'insuline, d'alcaloïdes et des glycosides par rapport au témoin (adipocytes incubés avec 1.6g/l du glucose en absence d'extraits).....	104

Liste d'abréviation

< :	Inférieure stricte
> :	Supérieure stricte
≤ :	Inférieure ou égale
≥ :	Supérieure ou égale
ADA :	American Diabetic Association.
AG :	Acides Gras.
ALFEDIAM :	L'Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies métaboliques.
AMPc :	Adénosine Monophosphate Cyclique
ANAES :	l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
ANAES :	Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
ATP :	Adénosine Triphosphate
BMI:	Body Mass Index.
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CHE :	Cholestérol Estérase
CHOD :	Cholesterol Oxydase
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité.
CPG:	Chromatographie en phase Gazeuse
DID :	Diabète Insulino -Dépendant.
DL100 :	Dose létale
DL50 :	Dose médiane
DNID :	Diabète Non Insulino-Dépendant.
DOD :	Densité Optique de Dosage
DOE :	Densité Optique de l'Etalon
FID :	Fédération Internationale du Diabète.
GAD :	Anti-glutamate décarboxylase.
GLUT :	GLUcose Transporter.
GOD :	Glucose Oxydase
GPO :	Glycérol 3-P.Oxidase
GRB-2:	Growth factor Receptor-Bound protein 2.
HDL:	High Density Lipoprotein.
HGPO :	Hyperglycémie Provoquée par voie Orale
HGPO:	Hyperglycémie Provoquée par voix Orale
HPLC :	Haute performance liquide chromatographie
I.v:	Intraveineuses.

ICA :	Islet Cell Antibody.
ICM :	Indice de Masse Corporelle.
IDL:	Intermediate Density Lipoprotein.
IL-6 :	Interleukine-6.
IP:	Intra péritonéale.
IRS-1 :	Insulin receptor substrate-1.
KRBA :	Kerbs –Ringer Bicarbonaté Albuminé
LDL:	Low Density Lipoprotein.
MODY :	Maturity Onset Diabetes of the Young.
Moy :	Moyenne
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
O.N.A.B :	Ont National d'Aliment Des Bétails
p.c. :	Poids corporel
PAI-1 :	Inhibiteur de l'Activation du Plasminogène.
PDK-1 :	La phosphoinositide-dependent-kinase-1
PI 3-K :	La phosphatidylinositol 3-kinase.
POD :	Peroxydase
PPARγ:	Peroxisome proliferator activated receptor
S.c :	Sous cutané.
S.H. :	Sulfamides Hypoglycémiant
SEM:	Erreur Moyenne Standard
sp:	Espèce.
STZ:	Streptozotocine.
TDZ :	Thiazolidine-diones .
TG :	Triglycérides.
UKPDS :	United kingdom Prospective Diabetes Study Group.
UV :	Ultraviolet
VLDL:	Very Low Density Lipoprotein.
α :	Alfa
B :	Bêta

Liste des unités

% :	Pourcent
°C :	Degré Celsius
μ :	Micro
cm :	centimètre
dl :	Décilitre
g :	Gramme
g/dl :	Gramme par Décilitre
g/kg :	Gramme par Kilogramme
g/l :	Gramme par Litre
h :	Heure
Kg :	Kilogramme
l :	Litre
m :	Mètre
M :	Molaire
mg :	Milligramme
mg/j :	Milligramme par jour
min :	Minute
ml :	Millilitre
mmol :	Millimole
mmol/l :	Millimole par Litre
mol :	Mole
nm :	Nanomètre
T/mn :	Tours par minute
UI :	Unité Internationale

Chapitre I:

Diabète sucré

Introduction générale

Le diabète est une maladie métabolique grave. 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. Le nombre total de cas de diabète, estimé actuellement est de 194 millions. Il peut atteindre plus de 330 millions en 2025. Dans la majorité des cas, au moins 90 %, il s'agit d'un diabète de type 2, il se manifeste sous forme de véritable « épidémie silencieuse ». Il a de graves conséquences en termes de morbidité, de mortalité et de prise en charge médicale très coûteuse. D'après des nouvelles estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS) et la fédération internationale du diabète (FID) en 2004, le diabète serait à l'origine de plus de 3,2 millions de décès chaque année dans le monde [OMS et FAD, 2004].

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

Les traitements de cette affection consistent, à contrôler le niveau glycémique des malades par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou par l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et par l'insulinothérapie dans le cas des diabétiques de type 1 [Charbonnel et cariou, 1997].

Toutefois, ces différentes approches thérapeutiques restent ou deviennent inefficaces chez beaucoup de diabétiques, en raison de la non disponibilité des médicaments et d'une prise en charge médicale correcte.

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

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

Bnouham et al., 2006, ont regroupé 176 espèces des plantes appartenant à 84 familles montrant un pouvoir antidiabétique et reportées dans la littérature entre 1990 et 2000.

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., 200 ; 1Bnouham et al., 2002]

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

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 des extraits de la coloquinte : extrait brut aqueux, flavonoïdes, saponosides, alcaloïdes, glycosides, acides aminés libres, présentent tous des effets antihyperglycémiant.

Pour notre part, nous nous sommes intéressées à l'étude des effets antidiabétiques de quelques extraits de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez les rats normaux et rendus daibétiques par la Streptozotocine. Ces extraits sont : les alcaloïdes totaux et les glycosides (extrait chloroformique et extrait éthanolique). Leurs effets sur le taux de glucose sanguin ont été étudiés à court terme (dans les 4 premières heures suivant une injection de l'extrait), à long terme (durant 9 semaines). Cet effet est également évalué chez les rats soumis à un test hyperglycémie provoquée par voie orale.

Par ailleurs, leurs effets *in vitro* sur la consommation de glucose par les cellules adipeuses isolées ont été également examinés.

1. Définition du diabète sucré

Le diabète sucré est une affection qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que l'organisme ne peut utiliser de manière efficace l'insuline qui est produite. Il en résulte une glycémie qui peut provoquer des lésions graves dans de nombreux organes, surtout les vaisseaux sanguins et les nerfs [OMS, 2002].

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie résultant soit de défauts de la sécrétion soit de l'action de l'insuline, ou des deux conjuguées [The expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1997]. Cette hyperglycémie chronique est associée, à des degrés divers et par des mécanismes encore mal connus, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins [Fontbonne et Simon ; 2004].

Le diabète se définit par une hyperglycémie chronique, soit 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].

2. Epidémiologie du diabète

2.1. Dans le monde

Le diabète est une maladie courante dont la fréquence augmente à une vitesse alarmante partout dans le monde. En 1985, le nombre de diabétiques dans le monde était estimé à 30 millions. En 1995, il était monté à 135 millions. En 2000, on recensait 171 millions de diabétiques dans le monde. En 2003, ce nombre a été estimé à 189 millions. L'évolution prévue est de 221 millions en 2010, 324 millions en 2025 et 366 millions en 2030 [Simon et al., 2005 ; OMS et FID, 2004].

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

L'étude de la prévalence du diabète sucré montre de grands écarts entre les différentes régions du monde. La prévalence du DNID est très élevée chez les Indiens Pima du sud de l'Arizona (30 à 35%) [Zimmet, 1982]. En Europe et chez les populations de races blanches du Canada et des Etats-Unis, la prévalence du diabète est moins élevée, variant de 2 à 7% [Verrillo et al., 1985 ; Simomons, 1991]. C'est en Alaska et dans certains pays d'Afrique que l'on a enregistré les taux les plus bas [Middaugh et al., 1991 ; Teuscher et al. ; 1987 ; Fisch et al., 1987].

(La prévalence : est définie comme le rapport à un instant donné du nombre de cas observés dans une population au nombre total d'individus de cette population [Halimi et al., 1999]).

Tableau 01 : Prévalence (%) du diabète de type 2 estimée en 1997 dans les différents continents [Eschwege et al., 1998].

Afrique	Asie	Amérique Latine	Océanie	Amérique du Nord
1,00	1,83	2,62	3,07	4,13

D'après les données existantes, l'incidence du diabète chez les sujets de 50 ans et plus sont de l'ordre de 0,4 à 0,6 % par an en Europe, de 0,9 % aux Etats-Unis. Dans les groupes de population "exposée", ces incidences peuvent s'élever à 5 % par an (Indiens Pima de plus de 15 ans). Seule les données d'incidence peuvent permettre de reconnaître des modifications dans la fréquence de survenue du diabète, d'en rechercher les causes puis de proposer et d'évaluer les mesures pour les neutraliser [Eschwege et al., 1998].

(l'incidence du diabète de type 2 : c'est le nombre de nouveaux cas diagnostiqués par unité de temps - en général l'année - rapporté à la population surveillée pendant le même temps).

2. 2. En Algérie

En 1998 ; le nombre de diabétiques en Algérie était estimé à plus de 3 millions dont 25% ignorent leur maladie. Dans la Wilaya de Tlemcen, des données statistiques déclarées en l'an 2000 par l'association d'aide aux diabétiques de la Wilaya de Tlemcen, révèle qu'il y a environ 18272 cas de diabète dans la Wilaya [Association d'aide aux diabétiques Tlemcen, 2000].

3. Critères de diagnostics du diabète sucré et nouvelle classification

3. 1. Critères de diagnostics

De nouveaux critères de diagnostics du diabète ont été proposés, en juin 1997, par l'American Diabetes Association (ADA) sur la base des études épidémiologiques qui ont permis de corréler les niveaux de la glycémie et le risque de survenue ultérieure d'une microangiopathie (rétinopathie, néphropathie et neuropathie), de complications cardiovasculaires (coronaropathie et artérite des membres inférieurs) [The expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1997]. Ces nouveaux critères viennent d'être retenus par l'Organisation Mondiale de la Santé [Alberti et Zimmet, 1998], l'ALFEDIAM et l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) [Drouin et al., 1999] (tableau 02).

Une glycémie plasmatique à jeun de 110 mg/dl (6 mmol/l) a été choisie comme limite supérieure de la normale, de même qu'une valeur de 140 mg/dl (7,8mmol/l) à la deuxième heure d'une H GPO (75 g glucose). Les critères de diagnostics modifiés permettent désormais d'établir de trois manières la présence d'un diabète sucré tel que indiqué dans le tableau 2. Chacune doit cependant être confirmée ultérieurement (un autre jour) par une des trois méthodes 2. Il est cependant conseillé de privilégier le diagnostic du diabète sur la mesure de la glycémie à jeun ≥ 126 mg/dl (≥ 7 mmol/l).

Le Comité d'Experts a également identifié un groupe intermédiaire de sujets chez lesquels les valeurs glycémiques, bien qu'inférieures aux nouvelles limites, sont considérées comme excessives pour être qualifiées de normales. Les sujets situés dans cette zone «frontière» présentent ce qu'il est désormais convenu d'appeler une «homéostasie glucidique anormale». Ils consistent en un groupe présentant une intolérance glucidique «classique» (définie par une valeur ≥ 140 et < 200

mg/dl ($\geq 7,8$ mmol/l et $< 11,1$ mmol/l) à la deuxième heure d'une HGPO, et un deuxième groupe de sujets présentant «seulement» une hyperglycémie à jeun ≥ 110 et < 126 mg/dl (*tableau 02*).

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

Tableau 02 : Critères de diagnostics du diabète sucré et les intolérances au glucose selon l'ADA [Halimi et Benhamou, 1997] et l'OMS [Alberti et Zimmet, 1998].

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

3. 2. Classification du diabète sucré

Une nouvelle classification du diabète a été proposée par l'American Diabetes Association (ADA) en 1997.

Cette classification différencie quatre grands types de diabète :

- Le diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant) ;
- Le diabète de type 2 (anciennement non insulino-dépendant) ;
- Les autres types de diabètes spécifiques ;
- Le diabète gestationnel [The expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1997].

Les expressions de diabète insulino-dépendant et non-insulino-dépendant sont supprimées. Le Comité d'Experts a estimé que ces termes, sources de confusion, étaient basés sur une classification thérapeutique plutôt qu'étiologique. La nouvelle classification définit le diabète de type 1, le diabète de type 2 et les autres diabètes d'étiologies spécifiques.

Diabète de type 1 (ex-insulino-dépendant) : est caractérisé par une destruction des cellules β . Il aboutit à une déficience absolue en insuline. Il en existe deux formes: une forme auto-immune, la plus fréquente, dans laquelle une immunité cellulaire anormale détruit les cellules β , et une forme idiopathique, plus rare;

Diabète de type 2 (ex-non-insulino-dépendant) : est caractérisé par la combinaison d'une résistance à l'insuline et d'un déficit généralement plus relatif qu'absolu de la sécrétion insulinaire. Les sujets diabétiques de type 2 forment donc un groupe hétérogène, avec aux deux extrêmes des patients massivement insulino-résistants (avec peu de déficit sécrétoire) et des sujets insulino-requérants (avec insulino-résistance relative);

Autres types de diabète spécifiques (ex-secondaires) : sont résumés dans le tableau 03. 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 β (diabète MODY [Maturity Onset Diabetes of the Young] et diabète mitochondrial) [Buyschaert et Hermans, 1998];

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].

Tableau 03 : Autres types spécifiques du diabète sucré selon l'ADA [ADA ; 1997 ; OMS 1999].

Diabètes secondaires liés à :	
une maladie du pancréas	<ul style="list-style-type: none"> - hémochromatose - pancréatite chronique/pancréatectomie - pancréatite fibrocalculeuse - cancer tumeur endocrine - mucoviscidose - autres
une maladie endocrinienne	<ul style="list-style-type: none"> - acromégalie - hypercorticisme - hyperaldostéronisme - hyperthyroïdie - phéochromocytome. - autres
des médicaments ou composés toxiques	<ul style="list-style-type: none"> -acide nicotinique - glucicorticoïdes - diurétiques thiazidiques - vacor - interféron α - autres

un dysfonctionnement d'origine génétique des cellules B	<ul style="list-style-type: none"> - par anomalie du chromosome 7 [MODY 2] - par anomalie du chromosome 12 [MODY 3] - par anomalie du chromosome 13 [MODY 4] - par anomalie du chromosome 20 [MODY 1] - diabète mitochondrial. - autres
une anomalie d'origine génétique de l'action de l'insuline.	
d'autres maladies génétiques (parfois associées au diabète.	

4. Le diabète type 1

Le diabète de type 1 représente 10% environ de tous les cas de diabète et se déclare généralement à l'enfance suite à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques [OMS, 2002]. L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules B fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une «insulite» pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète) [Grimaldi, 1999]. On distingue le diabète de type 1 auto-immun et le diabète de type 1 idiopathique [Tournant et al., 2004].

4.1. Diabète de type 1 auto immune

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

Le déclenchement de processus auto-immun de destruction des cellules β est contrôlé par des facteurs génétiques et environnementaux.

Plusieurs arguments démontrent l'existence d'une susceptibilité génétique au type 1. Les cas familiaux représentent 10% de diabète de type 1 et le taux de concordance chez les jumeaux monozygotes est de 35% [Timsit, 1996].

La principale région génomique contrôlant cette prédisposition génétique et celle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) dit système HLA de classe I et II ; localisé sur le bras court du chromosome 6 [Rodier, 2001].

Des marqueurs d'auto-immunité sont présents chez 85 à 90% des patients lors de la découverte de l'hyperglycémie. Ces marqueurs témoignent d'une auto-immunité dirigée contre les cellules β pancréatiques. La spécificité de ces marqueurs peut atteindre 100% quand plusieurs anticorps sont présents comme les anticorps anti-cellule d'îlots (islet cell antibody : ICA), les anticorps anti-glutamate décarboxylase (GAD), anticorps anti-tyrosine phosphatase et les anticorps anti-insuline [Giudicelli et Cattani, 2001 ; Lan et al., 1996 ; Atkinson et MacLaren, 1994].

4. 2. Diabète de type 1 idiopathique

Chez certains patients présentant un diabète de type 1 typique avec nécessité vitale d'un traitement insulinique, les marqueurs d'auto-immunité anticellules d'îlots sont absents. Ceci correspond à un faible nombre de patients présentant un diabète de type 1 et apparaît plus souvent dans les populations d'origine asiatique ou africaine par des besoins insuliniques [The expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1997].

5. Le diabète type 2

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

5. 1. Etiologies (facteurs de risques)

Le diabète type 2 est une maladie multifactorielle : concourent à son développement et à son évolution des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux qui affectent l'insulinosécrétion et l'action de l'insuline [Guillausseau et al., 1997].

5. 1.1. Facteurs génétiques

Il est hors de doute que le facteur génétique joue un rôle majeur dans l'apparition de diabète de type 2. Il est confirmé par des études effectuées sur la concordance entre jumeaux monozygotes (50 à 80%) [Barnett et al., 1981] et très largement supérieure à celle entre jumeaux dizygotes (moins de 20%) [Velho et Froguel, 1997]. L'histoire familiale et l'appartenance à un groupe ethnique à risque sont des facteurs de risques majeurs de développer un diabète de type 2 [Haffner, 1998].

Le diabète type 2 apparaît le plus souvent comme une maladie polygénique à début tardif [Velho et Froguel, 1997] ; hétérogène et multifactorielle résultant à la fois de facteur génétique de prédisposition et de facteur d'environnement [Ktorza et al., 1997].

La grande majorité des patients diabétiques de type 2 (70 à 85%) présente une pathologie dont le caractère génétique correspond à une transmission polygénique pour laquelle il n'existe pas de cause génétique clairement définie [Östenson et al., 2001].

Les premières mutations géniques associées à des troubles d'homéostasie glycémique ont été trouvés dans le gène de l'insuline et de récepteur de l'insuline [Velho et Froguel, 1997].

Des formes monogéniques, liées à une mutation portant sur un seul gène ont été décrites à l'origine dans la plupart des cas d'une insulino-pénie comme dans les diabètes de type MODY ou les diabètes mitochondriaux [Byrne et al., 1995 ; Byrne et al., 1996].

Le diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) est la forme monogénique à transmission autosomique la plus fréquente, sa prévalence représente 2 à 5% des diabètes de type 2 [Fajans et al., 2001].

Il est caractérisé par une hyperglycémie chronique d'origine non auto-immune d'apparition précoce avant l'âge de 25 ans, présentant une transmission autosomique dominante avec trois générations au moins atteintes [Busch-Brafin et Pinget, 2001].

Biologiquement, Les patients MODY ont en général une concentration normale ou basse d'insuline malgré leur hyperglycémie chronique témoignant d'une anomalie primitive de l'insulinosécrétion [Velho et Froguel, 1997].

L'augmentation rapide de la prévalence du diabète de type 2 ne peut être secondaire à un changement du patrimoine génétique. Il est donc probable que la susceptibilité pour le diabète de type 2 est largement déterminée par des facteurs génétiques, alors que son expression phénotypique dépend avant tout de facteurs environnementaux [Rabsa-Lhoret et Laville, 2004].

5. 1.2. Facteurs environnementaux

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

- *L'obésité*

Le gain de poids et la localisation abdominale de la graisse sont des facteurs de risque majeur de diabète type2 [Fumeron, 2005].

De nombreuses études ont confirmé que l'obésité est le facteur de risque prépondérant de cette maladie dans les deux sexes, 80% des diabétiques de type 2 présentent une obésité dite androïde caractérisée par un excès de tissus adipeux intra-abdominal [Orchard et al., 1992].

Le risque pour qu'un sujet obèse développe un diabète dépend de sa prédisposition génétique, du degré et de l'ancienneté du surpoids estimé par l'indice de masse corporelle (ICM) ou BMI (Body Mass Index)], et surtout du type d'obésité [Tourniaire et al., 1994]. Les deux tiers des adultes diabétiques de type 2 ont un ICM au moins égal à 27kg/m². De plus le risque de diabète augmente de manière linéaire avec ICM [Fumeron, 2005]. En effet des études prospectives ont indiqué que l'obésité androïde ou centrale avec une répartition de la graisse à la partie supérieure du corps apprécié par la mesure du rapport taille/hanches, est plus diabéto-gène que l'obésité gynoïde [Tourniaire et al., 1994].

- *L'origine ethnique*

Il a été constaté des différences de susceptibilité vis à vis du diabète de type 2 selon les ethnies. Ainsi, chez les indiens Mapuche au Chili, le diabète de type 2 est presque inexistant dans la tranche d'âge 30-64 ans, alors que chez les indiens Pima, il a été observé une prévalence supérieure à 50 % pour la même tranche d'âge [King et Rewers, 1993].

Au Royaume Uni, la population d'âge mûr originaire d'Afrique noire ou des Caraïbes a une prévalence du diabète de type 2 trois fois plus élevée que la population générale et la population originaire d'Asie du sud a une prévalence quatre fois plus élevée [Mac Keigne et al., 1991].

- *L'alimentation*

Dans plusieurs études, les chercheurs ont signalé l'association entre certains éléments du régime alimentaire et un risque plus élevé de présenter un diabète de type 2. L'influence de l'alimentation sur le diabète peut être quantitative ou qualitative. Un apport calorique important peut causer l'obésité et mener à l'intolérance au glucose et au diabète [Nuttal et Gannom, 1981].

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

Un régime alimentaire pauvre en fibres et riche en acides gras saturés a été associé à une réduction de la sensibilité insulinaire et à la tolérance au glucose anormale [Zimmet, 1992]. Par contre, une consommation importante de fibres et une consommation régulière des légumes et des fruits, présentent un effet inverse avec le risque de souffrir du diabète [Feskens et al., 1991].

- *l'activité physique*

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'exercice physique joue un rôle protecteur contre le diabète car le manque d'activité physique fait diminuer la sensibilité insulinaire et la tolérance au glucose [OMS, 1985]. L'importance de l'exercice se confirme par l'incidence beaucoup plus faible du diabète dans les milieux ruraux où le travail physique est dur, en comparaison des populations urbaines [Golay, 1994].

L'étude de Helmrigh et al. met en évidence, pour chaque augmentation de 500 kcal de dépense énergétique par semaine, une diminution de 10% du risque de diabète de type 2 [Helmrigh et al., 1991].

- *le niveau socio-économique*

Il existe beaucoup d'information affirmant que le diabète est une maladie de riche [Golay, 1994]. West et Kalbfleisch ont constaté que la prévalence du diabète était plus élevée dans les classes supérieures que dans les classes pauvres en Amérique centrale [West et Kalbfleisch, 1970]. Des changements radicaux dans les habitudes de santé (surnutrition, manque d'activité physique) et l'obésité sont fréquents dans les populations migrantes et ces facteurs ont été associés à une fréquence élevée du diabète [Taylor et al., 1985]. Cependant, aux États-Unis, la fréquence du diabète sucré serait plus élevée chez les gens pauvres et moins scolarisés que chez les personnes riches et ayant un niveau d'instruction plus élevé [Harris, 1984].

- *les médicaments*

Il a été constaté que la prise de certains médicaments et l'utilisation de certains agents chimiques a un effet nocif sur le métabolisme du glucose (les corticoïdes, les diurétiques (furosémide, métalazone, thiazide), les contraceptifs oraux, les glucocorticoïdes, la prolactine, les inhibiteurs des récepteurs β -adrénergiques et la phénytoïne) [NDDG, 1979].

D'autres médicaments sont considérés comme toxiques pour les cellules β pancréatiques : (streptozotocine, l'alloxane, les quinoléines, la pentamidine et les produits N-nitrosés) [Golay, 1994].

- *l'âge*

Quel que soit la population étudiée, la prévalence du diabète de type 2 augmente avec l'âge [French et al., 1990 ; Gourdy et al., 2001], et diminue après l'âge de 85 ans [Dornan, 1994].

Généralement, Le diabète de type 2 se manifeste chez des sujets âgés de plus de 40 ans, mais des sujets plus jeunes en sont parfois atteints, surtout dans des groupes de population où la fréquence de la maladie est élevée [Barceló, 1996].

- *le sexe*

Il existe certaines différences entre les deux sexes pour ce qui est des taux de prévalence et d'incidence du diabète sucré, différences qui varient d'un groupe ethnique et d'une population à l'autre. Les diverses caractéristiques des facteurs de risque (l'obésité, l'inactivité physique), peuvent expliquer ces différences entre les deux sexes. Des études réalisées sur des cubains [Barceló et al.,

1993 ; Mateo-De-Acosta et al., 1973], des américains de race noire [Everhart, 1985] et des indiens Pima [Knowler et al., 1993] ont montré que le risque était plus élevé pour les femmes. Par contre, d'autres études ont révélé que les taux étaient plus élevés chez les hommes que chez les femmes [Barrett-Connor, 1980 ; Klein, 1984]. En France, le diabète de type 2 concerne plus fréquemment les hommes que les femmes (respectivement 55% et 45%) [Le Floch et al., 1998 ; Papoz et al., 1988 ; Simon et Eschwege, 2002].

Cette différence entre les taux de diabète sucré diagnostiqué chez les hommes et les femmes peut s'expliquer par la différence de fréquentation des établissements de soins de santé par les deux sexes. Toutefois, le sexe comme tel n'est pas considéré comme un facteur de risque pour le diabète de type 2 [Barceló, 1996].

- le stress

Le stress est défini comme un ensemble de perturbations organiques et psychiques provoquées par des agents agresseurs variés (froid, infections, choc chirurgical, etc.). Les expériences animales montrent que des conditions stressantes appliquées à des modèles de rats génétiquement prédisposés au diabète de type 2, précipitent l'apparition de l'intolérance au glucose, par rapport à des animaux non stressés [Surwit, 1992]. L'accumulation des stress peut favoriser l'apparition du diabète de différentes façons. La stimulation du système nerveux entraîne une augmentation de l'excrétion des catécholamines, donc de la glycogénolyse et la gluconéogenèse; ainsi l'activité de l'hypophyse augmente, ceci donne en conséquence un effet anti-insuline périphérique [Petrides, 1987].

5. 2. Physiopathologie du diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie caractérisée par deux types d'anomalies: des altérations de l'insulinosecrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles: insulinosensibilité (insulinorésistance) [Guillausseau et al., 1997].

5.2.1. L'insulinorésistance

La résistance à l'insuline se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'hormone en présence de la glycémie normale au prix d'insulinémie élevée. En effet, tant que la sécrétion β pancréatique est suffisante pour contrer la résistance à l'insuline, la glycémie reste normale ou modérément altérée. Ainsi, le syndrome métabolique se traduit biologiquement soit par une hyperinsulinémie et une altération de la tolérance au glucose, soit une évolution par un diabète de type 2 lorsque les capacités sécrétoires du pancréas sont dépassées. Il concerne en premier lieu le foie et les muscles ; plus récemment, les tissus adipeux. De même, la résistance de la cellule β pancréatique entraîne une altération de la sécrétion d'insuline qui précipite l'évolution vers l'hyperglycémie chronique [Bastard et al., 2001].

Elle se traduit au niveau hépatique par une augmentation de la production hépatique de glucose, directement corrélée au degré d'hyperglycémie observée à jeun, et au niveau des tissus insulinosensibles, tout particulièrement le muscle, par une diminution de l'utilisation périphérique du glucose en période postprandiale [Dinneen et al., 1992; Martin et al., 1992].

Sur le plan métabolique, l'insulinorésistance est secondaire à l'excès de graisses au niveau des muscles et du tissu adipeux viscéral. Le tissu adipeux viscéral libère une grande quantité d'acides gras libres. Le flux portal des acides gras libres favorise la synthèse hépatique des triglycérides et stimule la néoglucogénèse hépatique. Au niveau musculaire, il existe une véritable compétition entre les acides gras libres et le glucose pour être oxydé : les acides gras libres sont oxydés en priorité, entraînant une production accrue d'acetyl CoA qui inhibe en retour les enzymes

de la glycolyse. L'énergie musculaire est donc fournie en priorité par l'oxydation des acides gras libres et le stock de glycogène musculaire reste intact, ce qui réprime en retour la glycogène synthase [Grimaldi, 1999].

5.2.2. Anomalies de la sécrétion d'insuline (carence en insuline)

Des anomalies de la sécrétion d'insuline sont observées chez les patients atteints de diabète de type 2, avec une détérioration progressive de la sécrétion d'insuline avec la durée d'évolution de la maladie [UKPDS, 1995]. Ces anomalies ont été plus facilement mises en évidence avec la mise au point du dosage radio- immunologique de l'insuline et des peptides apparentés sécrétés -par la cellule β : pro-insuline et pro-insulines clivées [Sobey et al., 1989].

Les altérations de l'insulinosécrétion observées dans le diabète de type 2 sont multiples :

- Perte de la phase précoce de l'insulinosécrétion après administration par voie intraveineuse de glucose [Fujita et al., 1975 ; Cerasi et Luft, 1967] ;
- Disparition de l'effet potentialisateur de glucose sur l'insulinosécrétion induite par d'autres sécrétagogues [Ward et al., 1984 ; Metz et al., 1979] ;
- Diminution de l'insuline vraie et augmentation de la pro-insuline totale et des pro-insulines clivées [Temple et al., 1990] ;
- Une diminution quantitative, à la fois en termes relatifs et absolus de l'insuline, a également été mise en évidence dans le diabète de type 2 [Grimaldi, 1999].

5.3. Complications du diabète

Les complications du diabète sont importantes et sont de deux types : des complications aiguës qui sont très répandues chez le diabète de type 1 et d'autre chroniques qui se trouvent surtout chez les diabète de type 2 (tableau 04).

Tableau 04: Complications du diabète [Capet et al., 1999]

Complications aiguës	hypoglycémie (suite au traitement) hyperglycémie	acidocétose coma hyperosmolaire acidose lactique
Complications chroniques	microvasculaires (microangiopathie) macrovasculaires (macroangiopathie)	rétinopathie néphropathie neuropathie cardio vasculaire

5.3.2. Les complications aiguës

- *Acidocétose*

L'acidocétose est la résultante clinique et biologique d'un trouble métabolique, ionique et hydrique lié à la carence absolue ou relative en insuline. Elle se définit de façon arbitraire par un pH < 7.2 et une hyperglycémie > 3 g/L ; cette acidose étant en rapport avec une concentration excessive de corps cétonique. Cette complication métabolique touche le plus souvent des diabétiques de type 1 et exceptionnellement de type 2 [Tourniaire et al., 1994].

Elle est le plus souvent consécutive à un facteur précipitant : stress majeur, traumatisme, infarctus du myocarde, corticothérapie, infection grave. Elle relève d'une prise en charge similaire à celle d'un diabétique de type 1 et repose bien entendu sur l'insulinothérapie et l'hydratation [Halimi, 2003].

Cet accident métabolique provoque une hyperglycémie liée à la non utilisation du glucose dans les tissus périphériques et le muscle en particulier, à l'accélération de la glycogénolyse, à l'augmentation de la néoglucogenèse hépatiques à partir des acides aminés et du lactate, une stimulation de la lipolyse qui conduit à la production des corps cétonique, de plus un excès d'hormones antiinsuline (glucagon, cortisol, catécholamines, hormones de croissance). Il entraîne aussi une polyurie osmotique et une déshydratation [Rodier, 2001].

- *Acidose lactique*

L'acidose lactique est définie par un tableau clinique et métabolique d'acidose sévère consécutif à une hyperlactatémie. C'est une complication rare mais de pronostic sévère (mortalité de 50%) par collapsus, anurie et mort en quelques heures. Elle survient le plus souvent chez un diabétique âgé traité par biguanides sans respect des contre-indications [Halimi, 1994]. Ceci contre indique l'administration de cette famille d'anti-diabétiques oraux, en cas d'insuffisance cardiaque ou hépatique importante et d'insuffisance rénale [Halimi, 2003].

L'acidose métabolique est très intense (pH sanguin en moyenne à 6,9), l'hyperkaliémie est inconstante, le trou anionique calculé est considérable, la lactémie est le plus souvent supérieure à 7 mmol/l pouvant atteindre 30 mmol/l, les corps cétoniques sont modérément augmentés, la glycémie est variable (élevée, normale ou abaissée) [Halimi, 1994].

- *Coma hyperosmolaire*

Ce syndrome associe à une glycémie égale ou supérieure à 6 g/l (33 mmol/l), une osmolarité à plus de 320 à 350 mmol/kg, un pH supérieur ou égal à 7,20 ou 7,30, des bicarbonates plasmatiques égaux ou supérieure à 15 mmol/l, l'absence de cétonémie franche. Les patients sont comateux ou très somnolents [Perlemuter et Collin De L'Hortet, 2003 ; Halimi, 1994].

L'âge avancé, peut être le sexe féminin et le diabète de type 2 surtout méconnu représentent les circonstances favorisantes. D'autres facteurs déclenchants sont classiquement décrits : diurétiques, corticothérapie, hydantoïnes, et β bloquants, etc. Elle débute par une élévation brutale de la glycémie qui entraîne une déshydratation rapide, avec insuffisance rénale fonctionnelle par l'hypovolémie et l'élévation du seuil rénal du glucose. Ainsi s'installe un cercle vicieux : hyperglycémie déshydratation [Perlemuter et Collin De L'Hortet, 1996].

- *Coma hypoglycémique*

Ce coma est la conséquence d'une neuroglucopénie sévère, l'apport énergétique du cerveau étant essentiellement dépendant du glucose circulant. Le coma est en règle de survenue brutale, agité et se complique volontiers, en particulier chez l'enfant, d'une crise convulsive grand mal.

Le traitement préventif, essentiel, repose sur la prévention des hypoglycémies dont la répétition conduit à une véritable désensibilisation aux hypoglycémies par perte de la riposte adrénergique qui est à la base des signes d'alarme de l'hypoglycémie (pâleur, tremblements, tachycardie, sueurs, etc.) et sur l'éducation de l'entourage. Le traitement, véritable urgence, consiste à resucrer le malade par la bouche s'il est capable de déglutir ou bien par voie intraveineuse. Le Glucagon, injecté par voie sous cutané ou intra musculaire peut aussi être utilisé sous réserve que les réserves glycogénétiques ne soient pas épuisées [Rodier, 2001].

5.3.2. Les complications chroniques

Elles ne sont pas fatales mais secondaires à une hyperglycémie chronique durant des années (de 5 à 15 ans). On distingue les complications liées à la microangiopathie (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) et celles liées à la macroangiopathie (cardio-vasculaires) [Duron et Heurtier, 2006].

5.3.2.1. Les complications microangiopathique

- *La neuropathie diabétique*

La neuropathie diabétique représente actuellement la cause de neuropathie la plus fréquente dans le monde industrialisé, et une complication invalidante et potentiellement grave du diabète sucré [Saïd, 1999].

on estime sa prévalence à 50 % chez les diabétiques dont la maladie évolue depuis plus de 20 ans et également à 50 % chez les diabétiques âgés de plus de 65 ans.

Les neuropathies diabétiques peuvent être isolées ou associées à la rétinopathie et la glomérulopathie (triopathie « œil - pied - rein »).

L'hyperglycémie chronique est le facteur causal mais il existe des facteurs de susceptibilité aujourd'hui imparfaitement connus : la durée du diabète, l'âge, le sexe masculin, la grande taille, un alcoolisme associé, des facteurs nutritionnels (carences vitaminiques, dénutrition),... [Duron et Heurtier, 2006 ; Grimaldi, 1999].

- *La rétinopathie diabétique*

Le diabète est la principale cause de la cécité et de trouble visuels [OMS, 2002]. Il est responsable de 10% des nouveaux cas de cécité et environ 20% des cas de cécité entre 45 et 74 ans. L'incidence de la rétinopathie est plus élevée en cas de diabète type1 que de diabète type2 [Brechtner et al., 1993].

Sa prévalence augmente avec la durée du diabète et le niveau de l'hyperglycémie chronique [Massin et al., 1999].

la rétinopathie diabétique se développe à bas bruit sans que le malade ne perçoive pendant longtemps aucun symptôme. La baisse de l'acuité visuelle témoigne donc de lésions très avancées qu'il ne saurait être question d'attendre. Il est donc essentiel que tout patient diabétique ait un

examen systématique annuel du fond d'œil. Elle se développe sur deux modes évolutifs, fréquemment associés : d'une part, l'ischémie, d'autre part, l'œdème [Duron et Heurtier, 2006].

- La néphropathie diabétique

La prévalence de la néphropathie diabétique est de 30 % dans le diabète de type 1 après 35 ans d'évolution. Alors que sa prévalence est évaluée de 15 à 20% dans le cadre du diabète type 2 [Raccach, 2004].

Le facteur de risque principal de la glomérulopathie diabétique est le mauvais équilibre chronique de la glycémie. Mais il existe des facteurs génétiques prédisposant ou protecteurs qui font que tous les diabétiques mal équilibrés développeront la rétinopathie, mais pas systématiquement la glomérulopathie. L'hypertension artérielle est un facteur aggravant mais non causal [Duron et Heurtier, 2006].

La néphropathie incipient, premier stade de la néphropathie diabétique est définie par une microalbuminurie (albuminurie supérieure à 25 mg/24 h et inférieure à 250). Elle évolue progressivement vers la néphropathie lésionnelle avec une protéinurie, avant d'aboutir à l'insuffisance rénale [Busch-Brafin et Pinget, 2001].

5.3.2.2. Les complications macroangiopathies

Par opposition à la microangiopathie qui touche la micro-circulation, on désigne sous le terme de macroangiopathie diabétique, l'atteinte des artères musculaires allant de l'aorte jusqu'aux petites artères distales d'un diamètre supérieur à 200 μm [Grimaldi, 1999]. Les complications cardiovasculaires représentent la cause majeure de la mortalité chez les diabétiques type 1 ou type 2. le cœur peut être touché schématiquement par trois mécanismes différents au cours du diabète :

- L'athérosclérose des troncs coronaires ;
- L'atteinte du muscle cardiaque, réalisant une cardiomyopathie ;
- L'atteinte du système nerveux vaguesympathique ou neuropathie autonome cardiaque [Valensi et Sachs, 2004].

L'athérosclérose : devenue la principale cause de décès des diabétiques, bien avant les comas métaboliques et les complications infectieuses [Duron et Heurtier, 2006]. Il est classiquement considéré qu'il survient plus fréquemment, sévèrement et précocement chez les diabétiques.

Outre le rôle aggravant vraisemblable des désordres lipidique, de l'hypertension et du tabagisme sur la progression de l'athérosclérose, l'hyperinsulinisme associé à l'insulinorésistance pourrait jouer un rôle [Valensi et Sachs, 2004]. C'est ce que suggèrent certaines données expérimentales où l'insuline à dose pharmacologique *in vitro* favorise la prolifération des cellules musculaires lisses et l'incorporation de LDL cholestérol dans la paroi artérielle [Ross, 1986]. L'insuline à concentrations physiologiques pourrait aussi exercer un effet anti athérogène qui serait perdu dans les états d'insulinorésistance et le diabète [Feener et King, 1997].

L'atteinte coronaire: représente la principale cause de décès du diabète de type 2. L'infarctus du myocarde est plus fréquent, les lésions coronaires plus sévères et les complications (récidive, choc, trouble de la conduction et insuffisance cardiaque) plus nombreuses. Le pronostic est plus mauvais que chez les sujets non diabétiques [Jacoby et Nesto, 1992].

Les accidents vasculaires cérébraux : sont plus rarement hémorragiques chez le diabétique en dépit de l'augmentation de la fréquence de l'hypertension artérielle. Par contre, les micro-infarctus responsables de lacunes semblent plus fréquents chez le diabétique en particulier en cas d'association diabète et hypertension artérielle.

L'ischémie myocardique : est deux à trois fois plus souvent indolore chez le diabétique que chez le non diabétique. L'infarctus du myocarde est ainsi très souvent indolore, mais il faut y penser systématiquement devant la survenue soudaine de symptômes par ailleurs inexplicables : troubles digestifs et parfois douleurs épigastriques, dyspnée d'effort, asthénie anormale (en particulier à l'effort), troubles du rythme cardiaque et parfois simple déséquilibre inexplicable du diabète ou baisse brutale de la pression artérielle [Duron et Heurtier, 2006 ; Grimaldi, 1999].

Artérite des membres inférieurs : apparaît plus précoce, plus fréquente et plus sévère chez les diabétiques que chez les non diabétiques. Elles prédominent cependant sur les artères de moyen et de petit diamètre [Halimi, 1994].

Dyslipidémie ; c'est la plus grande fréquence et sévérité des accidents cardio-vasculaires, au cours du diabète. Elles présentent des anomalies quantitatives et qualitatives [Vergés, 1999].

Les anomalies quantitatives comportent principalement une hypertriglycéridémie, liée à une augmentation des VLDL, IDL, LDL et une baisse du HDL cholestérol [Laakso, 1997].

Parmi les anomalies qualitatives, on retient essentiellement une modification de taille des lipoprotéines VLDL de grande taille [Vergés, 1999].

5. 4. Traitement du diabète type 2

Le diabète de type 2 se caractérise par une insulino-résistance et une détérioration progressive de la fonction des cellules bêta. 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'antihyperglycémiants 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 antihyperglycémiants oraux. Chez certaines personnes atteintes de diabète de type 2, on a généralement recours à l'insulinothérapie (Fig. 1) [Hanna et al., 2003].

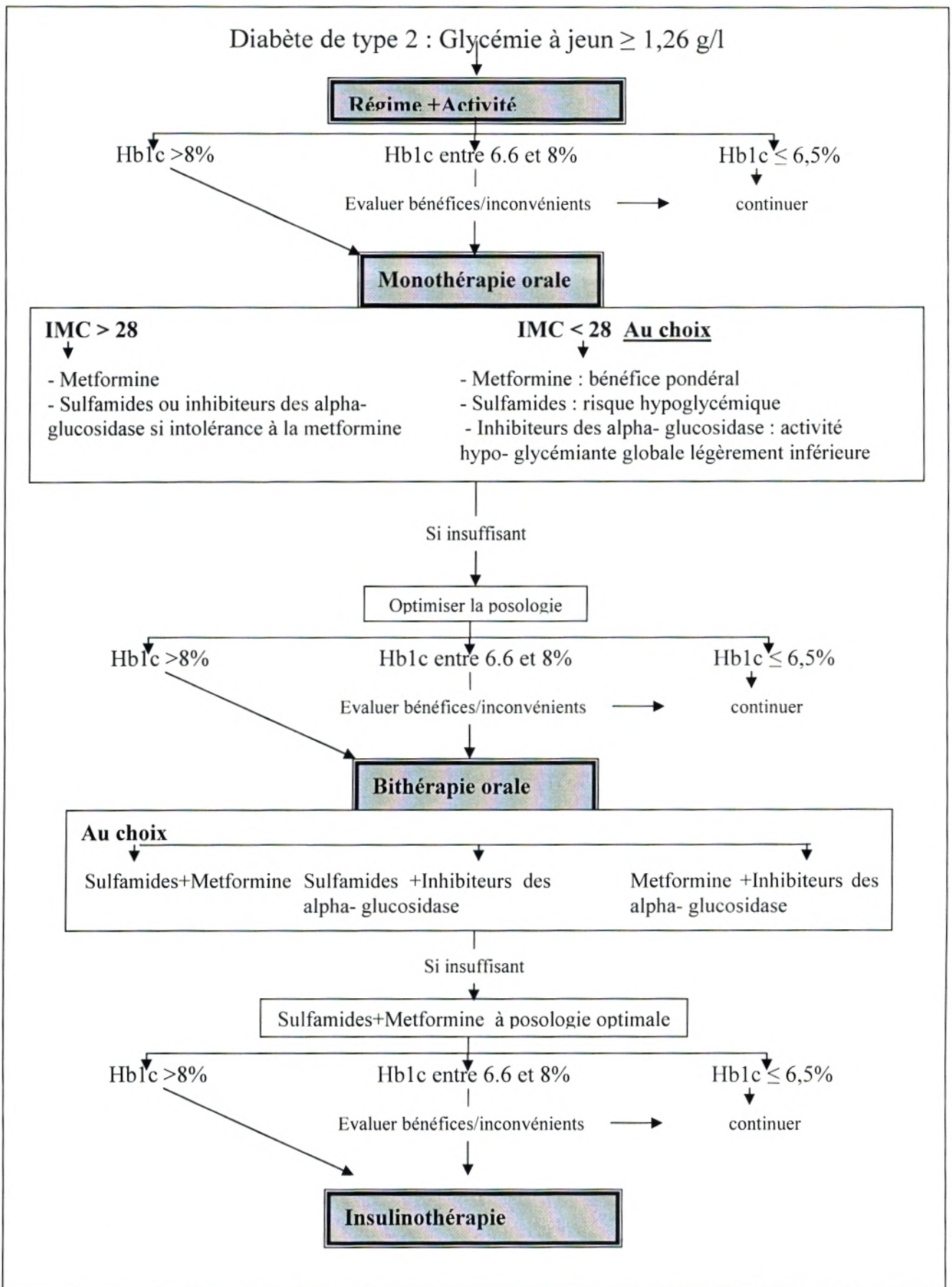


Figure 1 : Les différents traitements du diabète de type 2

5.4.1. La diététique

Il est indispensable de promouvoir la prise en charge non médicamenteuse du diabète. Les difficultés évidentes de cette prise en charge demandent des efforts constants de la part du patient comme de son médecin. L'activité physique et la planification alimentaire, le "régime", sont des mots que l'on devrait écrire en premier sur l'ordonnance à chaque fois que l'on en rédige une.

5.4.1.1 L'activité physique

Il faut considérer l'activité physique comme une thérapeutique supplémentaire capable de prévenir et de soigner les maladies cardio-vasculaires et métaboliques.

Une activité physique adaptée aux possibilités de chaque patient est recommandée chez le diabétique de type 2 car elle contribue à une amélioration de la situation métabolique (insulinosensibilité, niveau glycémique, pression artérielle, profil lipidique, etc.) et pourrait être utile pour le contrôle du poids [ANAES, 2000].

L'activité physique doit être adaptée dans son type, sa quantité et son intensité. Harmonieusement répartis, les efforts se transforment rapidement en plaisir et doivent s'inscrire dans la durée. Ces caractéristiques, malgré leurs difficultés pratiques d'application dans le monde moderne et les quelques dangers potentiels (hypoglycémies, soucis cardio-vasculaires en cas d'exercice violent chez l'adulte peu entraîné) ne peuvent en aucun cas contrebalancer l'absolue nécessité d'une telle stratégie [Monnier et Avignon, 1997].

Cette activité physique est justifiée par :

- Une augmentation de l'utilisation musculaire et de la sensibilité tissulaire à l'insuline [Tourniaire et al., 1994] ;
- Une perte de poids ou un maintien d'une masse maigre stable [Charbonnel et Cariou, 1997];
- Les activités d'endurance ont une action bénéfique sur l'ensemble des paramètres du syndrome d'insulino-résistance en particulier ses conséquences cardio-vasculaires (hypertension artérielle) et métaboliques (abaissement des taux des triglycérides et augmentation du HDL cholestérol) [Duron et Heurtier, 2006] ;
- De plus, cette activité contribue à la réinsertion sociale et psychologique de tous et augmente l'autonomie des personnes âgées [Monnier et Avignon, 1997].

En pratique, 5 à 10 minutes d'échauffement préalable et une phase de 5 à 10 minutes après l'effort physique modéré sont généralement conseillés [ADA, 1999 ; Gautier et al., 1998]. La durée de la séance d'activité physique proprement dite devrait osciller entre 30 et 45 minutes [ANAES, 2000].

5.4.1.2 Le régime alimentaire

Il est indispensable quelle que soit la variété du diabète. Le régime alimentaire doit obéir à plusieurs principes

- Apporter la ration calorique nécessaire ;
- Equilibrer les apports entre sucres, lipides et protéines ;

- Réduire dans la mesure le plus possible, l'hyperglycémie et la glycosurie [Domart et Bourneuf, 1986].

Les besoins énergétiques dépendent de la taille, du sexe, l'âge, du climat, la situation physiologique et surtout du niveau d'activité physique [Absolonne, 1994].

Contrairement à une idée très répandue, le diabétique ne doit pas supprimer les sucres dans son alimentation. Il est indispensable d'assurer un apport minimal en glucides capables de couvrir les besoins de l'organisme [Domart et Bourneuf, 1986]. Il est nécessaire de fournir un minimum de 140 g de glucides par jour pour un adulte [Monnier et al., 1995].

La ration glucidique peut être comprise entre 45 à 50% [Gin et Rigalleau, 1999], en favorisant les glucides complexes à digestion et absorption lentes et indice glycémique faibles (le pouvoir hyperglycémique), comme riz, pâtes, pain, légumes secs etc., en réduisant les glucides simples à absorption rapides et à indice glycémique élevé comme (sucre, fruit, confiture, miel, crème, etc.) [Tourniaire et al., 1994].

Les fruits et le lait (sucre à absorption rapides) ne peuvent pas être supprimés à cause de la présence (des vitamines et de calcium) ils doivent être pris en quantité limitée et contrôlée [Tourniaire et al., 1994].

La ration lipidique est constituée entre 30 à 35% [Gin et Rigalleau, 1999], dont il faut insister sur la réduction des acides gras saturés (les graisses animales) : viandes rouges, remplacer par des acides gras mono insaturés (les graisses végétales, huile d'olive) et des acides gras polyinsaturés (poisson) [Tourniaire et al., 1994].

Il n'existe pas d'argument pour modifier les apports protéiques chez le diabétique de type 2 non compliqué [ANAES, 2000]. La ration protéique est de l'ordre de 18% à 20% de l'apport énergétique total [Gin et Rigalleau, 1999]. Il faut prendre garde surtout du risque que possèdent certains apports de protéines animales riches en graisses (viande rouge) et en prévention de la néphropathie chez tout diabétique.

Une alimentation riche en fibres alimentaires, surtout de type soluble (pectines, guar, gomme), contenues dans les fruits, les légumes verts et les légumineuses, est souhaitable [ANAES, 2000]. De nombreux travaux ont démontré que l'addition de guar ou de pectine réduisait la glycémie postprandiale chez les diabétiques et les sujets normaux, avec parfois une baisse de l'insulinémie [Vinik et Jenkins, 1988 ; Riccardi et Rivellese, 1991].

Les édulcorants, de préférence acaloriques (aspartam, saccharine, acesulfame, sucralose), employés aux doses usuelles recommandées, sont autorisés chez le diabétique de type 2 [ANAES, 2000].

5.4.2. Les antidiabétiques oraux

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

- Une stimulation de l'insulino-sécrétion par les sulfamides hypoglycémisants ;
- Une diminution de l'insulino-résistance par les Biguanides et les Thiazolidinediones ;
- Un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose par les inhibiteurs des alpha Glucosidases [Charbonnel et Cariou, 1997].

5.4.2.1. Les sulfamides hypoglycémiants

Découverts par Jambon en 1942 à Montpellier on observant que des malades traités par des sulfamides anti-infection présentaient des accidents hypoglycémiants [Blicklé, 1999].

Les sulfamides ont été initialement étudiés par Loubatieres ; Qui a montré que ces médicaments avaient des propriétés hypoglycémiantes chez le chien normal ou après une pancréatectomie partielle, mais qu'ils étaient inefficaces chez l'animal ayant subi une pancréatectomie totale ; démontrant ainsi que le site d'action principal est la cellule β des îlots de Langerhans du pancréas.

Il a été ensuite montré que les sulfamides hypoglycémiants induisent une sécrétion d'insuline indépendamment de la glycémie ambiante, sans augmenter la synthèse de cette hormone [Larger, 1998].

- Structure générale des sulfamides hypoglycémiants

Les sulfamides hypoglycémiants possèdent tous une structure commune :

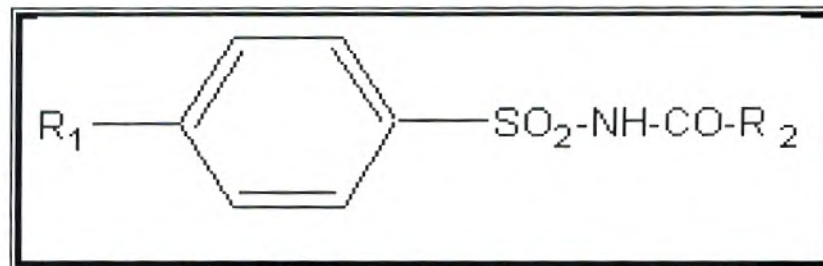


Figure 2 : Structure générale des sulfamides hypoglycémiants [Blicklé, 1999].

- Quelques sulfamides hypoglycémiants commercialisés

Gliclazide : Diamicon® 80 et Diamicon LP30® (retard) ;

Glimépiride : Amarel® 1 à 4 mg (monoprise) ;

Glipizide : Glibénèse® 5 mg ;

Glibenclamide : Daonil® 5 mg, Hemi-Daonil® 2.5 mg et Daonil® faible 1.25mg ;

Répaglinide : Novonorm® 1mg, 2 mg ou 4 mg [Halimi, 2003].

- Propriétés physico-chimiques et caractéristiques pharmacocinétiques générales

La plupart des sulfamides hypoglycémiants se représentent sous forme d'une poudre blanche ou très légèrement colorée, cristalline, inodore, peu ou pas soluble dans l'eau.

Les sulfamides hypoglycémiants sont des acides faibles, totalement ionisés au pH physiologique. Pour la majorité entre eux, l'absorption digestive est presque complète. Ils sont fortement liés aux protéines plasmatiques, surtout à l'albumine [Blicklé, 1999].

Selon leur polarité et leur liposolubilité, l'on distingue les sulfamides de première génération et ceux de seconde génération, doués de propriétés hypoglycémiantes plus puissantes. Les sulfamides hypoglycémiants sont métabolisés dans le foie et excrétés principalement dans les

urines. La demi-vie plasmatique ne reflète pas la durée de l'effet hypoglycémiant (demi-vie biologique ou durée d'action) [Melander, 1996].

- *Le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiantes*

Effets pancréatiques

Les sulfamides hypoglycémiantes stimulent la sécrétion d'insuline et potentialisent l'effet insulinosécréteur du glucose. Les différents sulfamides hypoglycémiantes se lient tous à un récepteur spécifique situé sur la membrane de la cellule. La liaison des sulfamides au récepteur entraîne la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants de la cellule bêta pancréatique. La membrane se dépolarise et les canaux calciques s'ouvrent secondairement. L'afflux de calcium dans le cytoplasme des cellules bêta induit l'exocytose des vésicules contenant l'insuline d'une façon similaire à celle observée après stimulation par le glucose [Larger, 1998].

Effets extra pancréatiques

De nombreux effets extra pancréatiques des sulfamides hypoglycémiantes ont été décrits in vitro mais en général à des doses très supérieures aux doses thérapeutiques. Ainsi les sulfamides hypoglycémiantes diminuaient la production hépatique du glucose principalement en freinant la néoglucogenèse. Un nombre croissant d'études rapportent une action bénéfique des sulfamides hypoglycémiantes sur les différentes étapes du métabolisme du glucose (transports, oxydation, stockage) [Tourniaire et al., 1994].

- *Effets secondaires néfastes*

- La prise de poids, secondaire à la stimulation de l'insulino-sécrétion. Elle est en général modeste, de 2 à 3 kg.
- Surtout le risque hypoglycémique. Il s'observe avec tous les sulfamides hypoglycémiantes sans exception.
- Les sulfamides hypoglycémiantes peuvent de façon exceptionnelle provoquer comme tout sulfamide : une allergie en particulier cutanée, une thrombopénie auto-immune ou une anémie hémolytique, une agranulocytose ou une hépatite cytolytique [Grimaldi, 1999 ; Duron et Heurtier, 2006].

- *Contre-indications*

- Insuffisance rénale ;
- Allergie aux autres sulfamides (Bactrim) ;
- Insuffisance hépato-cellulaire, personnes âgées, malades dénutris [Duron et Heurtier, 2006].

5.4.2.2. Les biguanides

Leur unique représentant est la metformine (la phenformine assez souvent responsable d'acidose lactique n'est plus commercialisée). La metformine est disponible depuis 1957 en Europe alors qu'elle n'a été introduite sur le marché américain qu'en 1995 [ANAES, 2000].

- *Effets secondaires*

- Risque principal : acidose lactique ;
- Mauvaise tolérance digestive (nausées, crampes épigastriques, inconfort abdominal, diarrhée motrice) [**Duron et Heurtier, 2006**].

- *Contre-indications*

- Insuffisance rénale (clairance < 50 ml/mn) ;
- Insuffisance cardiaque décompensée ;
- Ischémie coronarienne instable, et évolutive ;
- Insuffisance respiratoire sévère ;
- Infection aiguë (septicémie ou bactériémie, méningite...) ;
- Gangrène ou ischémie critique des membres [**Duron et Heurtier, 2006**].

5.4.2.3. Les inhibiteurs des alpha glucosidases

Il s'agit de pseudo-tétrasaccharides d'origine bactérienne. Ces analogues structuraux des oligo saccharides alimentaires inhibent de façon compétitive et réversible les alphaglycosidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle (glucoamylase, maltase, isomaltase et sucrase). Les inhibiteurs des alpha glucosidases intestinales ralentissent le clivage enzymatique des sucres alimentaires en mono et disaccharides qui sont alors absorbés dans l'iléon. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs des alphaglycosidases sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie post-prandiale [**Reuser et Wisselaar, 1994**].

Les inhibiteurs des α -glucosidases inhibent donc le dernier stade de la digestion des sucres. Ceux ci ne peuvent être absorbés ; continuent leur périple dans l'intestin et subissent la fermentation colique bactérienne en acides gras volatiles ou sont éliminés dans les selles [**Grimaldi, 1999 ; Duron et Heurtier, 2006**].

Ce type de médicament est représenté par : Acarbose : Glucor®, Miglitol : Diastabol®, Voglibose et Emiglitate [**Halimi, 2003**].

- *Acarbose*

C'est un pseudo-tétrasaccharide isolé en 1970 à partir d'une bactérie (*Actinoplanacea*) dont l'homologie structurale avec les tétrasaccharides de l'alimentation explique la liaison aux Alfa glucosidase des la bordure en brosse des entérocytes. Leur efficacité tient à la très forte affinité de cette liaison, il s'agit d'une liaison rapidement réversible et compétitive avec le site d'action de l'enzyme [**Larger, 1997**].

- *Miglitol*

Dérivé de la désoxynojirimicine, de taille plus petite que l'acarbose, et absorbé rapidement et quasi complètement aux faibles doses dans le tractus digestif supérieur, par un mécanisme saturable. Il n'est pas métabolisé. Il est rapidement éliminé, presque exclusivement par voie rénale [**Ahr et al., 1997**].

L'inhibition enzymatique, un peu plus puissante que celle de l'acarbose s'exerce principalement sur la saccharase et la glucoamylase, et à un degré moindre sur la maltase et l'isomaltase [Blicklé, 1999].

- *Effets indésirables*

Les principaux effets secondaires des inhibiteurs des alphaglucosidases intestinales sont digestifs (flatulences, douleurs digestives, diarrhée, gaz surtout en début de traitement), liés à l'arrivée d'oligosaccharides dans le colon, favorisant la croissance bactérienne et à la présence de substance osmotiquement actives dans la lumière intestinale [Halimi et coll., 1999].

5.4.2.4. Thiazolidine-diones (TDZ) (Glitazones)

Les glitazones ou thiazolidinediones sont des ligands pharmacologiques de récepteurs nucléaires PPAR γ (peroxysome proliferator activated receptor), sous-famille de la super-famille des récepteurs hormonaux nucléaires.

Les glitazones sont les agents pharmacologiques les plus puissants spécifiquement destinés à réduire la résistance à l'insuline. L'effet est tripolaire, d'abord adipocytaire (pro-adipogène et différenciation) et secondairement musculaire (amélioration de la captation de glucose par les myocytes) et hépatique (réduction de la production et amélioration de la captation du glucose). [Hermans, 2005].

- *Les principaux produits commercialisés*

La Troglitazone (REZULIN®)

Rosiglitazone : Avandia.®

Pioglitazone : Actos® [Halimi, 2003].

- *Effets secondaires*

- Prise de poids de 2 à 5 kg ;
- Rétention hydro-sodée avec anémie par dilution ;
- Risque d'hépatite [Duron et Heurtier, 2006].

- *Contre-indications*

- Pathologie hépatique ;
- Anémie ;
- Insuffisance cardiaque [Duron et Heurtier, 2006].

5.4.3 L'insulinothérapie dans le diabète type 2

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

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

- Les indications indiscutables

- La survenue d'une cétose ;
- La survenue d'un coma hyperosmolaire ;
- La grossesse, si le bon contrôle glycémique n'est pas obtenu par la diététique seule.
- Les autres situations nécessitant l'insulinothérapie à court terme, souvent transitoire, sont les suivantes
- Les infections sévères,
- L'existence d'une neuropathie et/ou d'une artériopathie compliquée avec déséquilibre glycémique,
- Les interventions chirurgicales,
- Les contre-indications transitoires à un traitement oral (certaines explorations radiologiques)
- La mise en route d'un traitement hyperglycémiant (corticothérapie),
- Les complications aiguës vasculaires qui nécessitent un bon contrôle du diabète et qui contre-indiquent les traitements oraux (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, artérite sévère en poussée) [Halimi, 1999].

La mise en route d'une insulinothérapie ne transforme pas un diabétique de type 1 en diabétique de type 2. Il est proposé comme un traitement transitoire qui permet pendant quelques semaines (15 à 30 jours) d'obtenir un bon profil glycémique et de supprimer la glucotoxicité [De-Broucker, 1986].

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

5.4.4 Nouveaux traitements

- Répaglinide (NOVONORN®)

Nouvelle classe d'insulino-sécrétagogue. Dérivé de l'acide carbamoyl-benzoïque [Guay, 1998]. Il se différencie des sulfamides hypoglycémiantes par leur structure chimique, efficacité et surtout par leur propriété pharmacocinétique et pharmacodynamique qui le classe dans la catégorie des régulateurs de la glycémie postprandiale [Blicklé, 2004].

Chapitre II:

Insuline et transport du glucose

- Natéglinide

Ce dérivé de la phénylalanine est rapidement et totalement absorbé après administration orale, donnant un pic de concentration en moins de 1 heure [Dunn et Faulds, 2000]. L'absorption est peu influencée par l'alimentation. La natéglinide es lié à 97% aux protéines, fortement métabolisées au niveau hépatique et l'élimination est son essentiellement rénale. L'effet insulinosécréteur est plus rapide et plus bref qu'avec le répaglinide [Blicklé, 2004].

1. Insuline

3.1. Pancréas

Organe situé dans l'abdomen, entre l'estomac et l'intestin. Le pancréas est un organe essentiel à la digestion et à l'homéostasie du glucose [Laurent, 1992].

Il possède une fonction exocrine, impliquée dans la libération d'enzymes au niveau du tube digestif, et une fonction endocrine, permettant la synthèse d'hormones libérées dans le sang et régulant l'utilisation du glucose par les tissus.

Le pancréas exocrine est constitué par les cellules acineuses qui produisent des enzymes de digestion (amylase, elastase, protease, nuclease, etc...) et les cellules ductales qui transportent ces enzymes vers l'intestin.

L'unité fonctionnelle du pancréas endocrine est représentée par les îlots de Langerhans, disséminés dans le pancréas exocrine, et constituée de 4 types cellulaires, les cellules α , β , δ et PP. Les cellules β productrices d'insuline représentent la majorité de la population des cellules endocrines, et constituent le noyau de l'îlot, alors que les cellules α , δ et PP, localisées à la périphérie de l'îlot, sécrètent le glucagon, la somatostatine et le polypeptide pancréatique, respectivement [Annicotte, 2004].

3.2. Structure d'insuline

L'insuline, un petit polypeptide de 51 acides aminés d'environ 6 kDa, est sécrété par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas suite, notamment, à une augmentation de la concentration sanguine en glucose (Dépassant 6mmol/l). Cette hormone peptidique à deux chaînes d'acides aminés : une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés. Ces deux chaînes sont reliées par deux ponts disulfures : A7- B7 et A20 –B19 (Fig.4) [Raisonnier et coll., 2004 ; De Meyts, 2004].

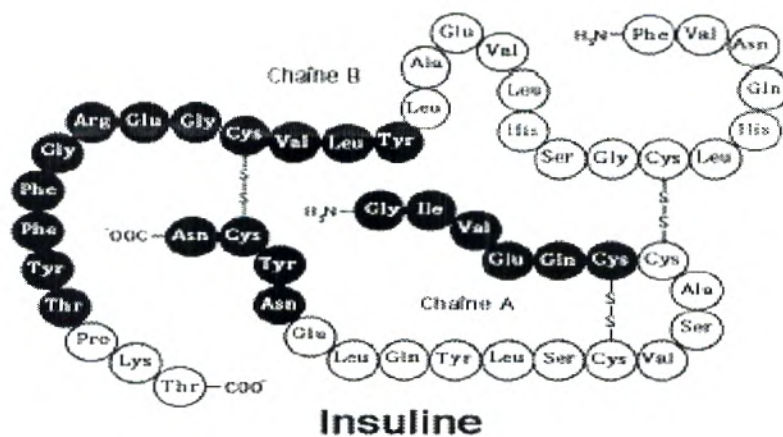


Figure 4 : Schéma structurelle d'insuline [Raisonnier et coll., 2004].

3.3. Biosynthèse d'insuline

Le gène de l'insuline est situé sur le bras court du chromosome 11. La pré-proinsuline, une molécule précurseur, est produite par le réticulum endoplasmique granuleux des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Cette molécule est ensuite clivée en pro-insuline, et transportée dans l'appareil de Golgi, où elle est stockée dans des granules sécrétoires. La maturation de ces granules aboutit à l'insuline et à un petit peptide, le C-peptide. Les granules sont excrétées par exocytose. L'insuline circule sous forme libre dans le plasma, et possède une courte demi-vie de l'ordre de quelques minutes [Marie-Luce Guillermin Spahr, 2004].

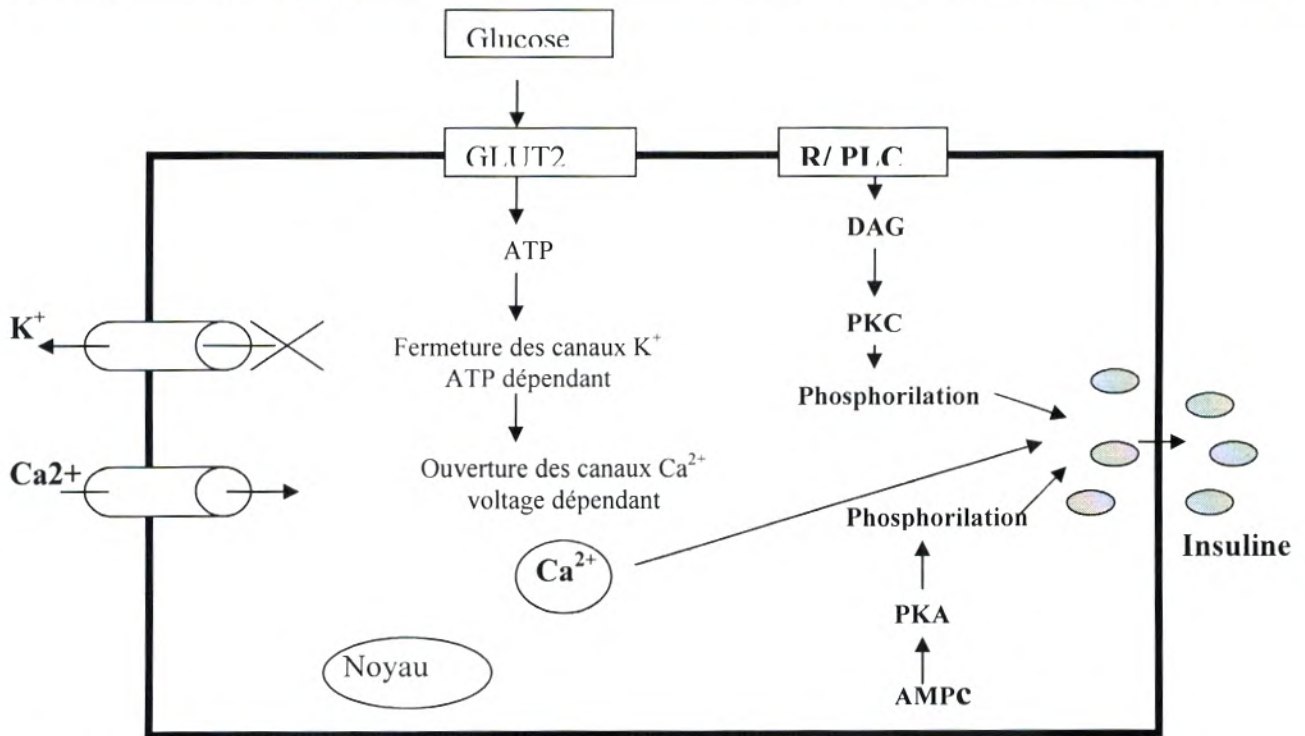
3.4. Régulation de l'insulinosécrétion

Un pancréas humain normal sécrète 40 à 50 unités d'insuline par jour (1UI= 6nM= 35 ng/ml). La concentration basale d'insuline dans le sang lors de période de jeûne est d'environ 0.4 ng/ml (ou 69 pmol/l). Une dizaine de minutes après l'ingestion d'un repas, on observe une augmentation de la concentration sanguine périphérique d'insuline, qui atteint son pic après environ 30 à 45 minutes. Par la suite, il y a une diminution assez rapide de la glycémie qui revient aux valeurs basales après 90 à 120 minutes environ [Marie-Luce Guillermin Spahr, 2004].

La sécrétion d'insuline est contrôlée par différents substrats comme le glucose, les acides aminés (arginine, leucine, lysine), les acides gras et les corps cétoniques. C'est l'augmentation des niveaux plasmatiques de ces substrats qui stimule la libération d'insuline. Certaines hormones peuvent aussi agir sur la libération d'insuline. Ainsi, le glucagon, l'adrénaline, l'hormone de croissance et les glucocorticoïdes, lesquels à l'opposé de l'insuline ont des actions hyperglycémiantes, réduisent la libération d'insuline [Capeau, 2003; Baudin, 2001].

Les molécules de glucose pénètrent dans les cellules β par diffusion passive, mais facilitée par l'existence d'un transporteur membranaire spécifique appelé GLUT2 [Marie-Luce Guillermin Spahr, 2004]. La première étape du catabolisme implique l'enzyme glucokinase, entraînant la glycolyse et la production d'ATP. La glucokinase est une enzyme clé car elle constitue l'étape limitante de la glycolyse dans les cellules β . L'augmentation du rapport ATP/ADP provoque la fermeture des canaux potassiques sensibles à l'ATP (K^+ ATP). La fermeture de ces canaux entraîne une accumulation intracellulaire de K^+ , entraînant une dépolarisation membranaire, ouvrant les canaux calciques voltage-dépendants. Le Ca^{2+} entre alors massivement dans la cellule. L'augmentation de Ca^{2+} dans la mitochondrie induit la sécrétion de l'insuline [Annicotte, 2004].

D'autres voies intracellulaires, activatrices ou modulatrices (inositol phosphates, diacylglycerol, AMP cyclique), régulent également de manière plus ou moins importantes, l'insulinosécrétion.



AMPC : AMP cyclique ; DAG : diacylglycerol ; Glut-2 : glucose transporter 2 ; PKA : protéine kinase A ; PKC : protéine kinase C ; PLC : phospholipase C ; R : récepteur.

Figure 5 : Sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques [Annicotte, 2004].

3.5. Mécanisme d'action de l'insuline

La première étape cellulaire de l'insuline est sa liaison à un récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique des cellules cibles. Le récepteur de l'insuline, codé par le gène situé sur le bras court du chromosome 19, est un hétérotétramère composé de deux sous-unités α (~135 kDa) extracellulaires et deux sous-unités β (~95 kDa) transmembranaires liées entre elles par des ponts disulfures [White, 1997].

Le récepteur à l'insuline est principalement exprimé dans les cellules du tissu adipeux, du muscle squelettique et dans le foie. Il est aussi largement exprimé dans d'autres tissus du corps dont le pancréas, le système nerveux central, le rein et les cellules lymphatiques [Capeau, 2003].

L'action de l'insuline est initiée par sa liaison avec la sous-unité α extracellulaire de son récepteur. Cette liaison permet un rapprochement des deux sous-unités β transmembranaires permettant l'activation du récepteur par son autophosphorylation sur les résidus tyrosines par l'ATP, qui à son tour déclenche une suite des phosphorylations de plusieurs substrats intracellulaires et enzymes cytosoliques, parmi eux, les substrats du récepteur de l'insuline : IRS1 (insulin receptor substrate-1) qui fut d'ailleurs le premier substrat du récepteur de l'insuline à être identifié [Sun et al., 1991], phosphatidylinositol-3 kinase (PI 3-K), protéine G, La phosphoinositide-dependent-kinase-1 (PDK-1) et GRB-2 (growth factor receptor-bound protein2) [Tremblay, 2004 ; Capeau, 2003 ; Baudler et al., 2003].

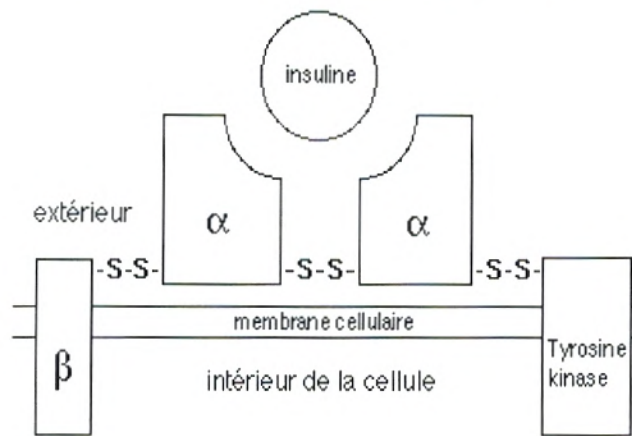


Figure 6 : Schéma de la structure moléculaire du récepteur de l'insuline [Gerald, 1996]

3.6. Actions physiologiques

A l'origine on croyait que le rôle de l'insuline se limitait à celui de contrôler le métabolisme du glucose en contrôlant son entrée dans la cellule, mais il est vite apparu que l'insuline possédait un spectre d'action beaucoup plus vaste [Capeau, 2003].

En effet, l'insuline constitue à la fois une hormone anabolique, qui stimule les systèmes de transport et les enzymes impliquées dans l'utilisation et l'entreposage du glucose, des acides aminés et des acides gras, et une hormone anti-catabolique via les actions inhibitrices qu'elle exerce sur la gluconéogénèse, la glycogénolyse, la lipolyse et le catabolisme des protéines. Ses actions sont principalement exercées au niveau du muscle squelettique, tissu adipeux et le foie [Capeau, 2003].

L'insuline exerce des fonctions pléiotropes (**fig.7**) (pouvant agir sur plusieurs cibles et produisant des effets indépendants les uns des autres) sur la croissance cellulaire, le développement et le contrôle de l'apoptose et sur le métabolisme des protéines en augmentant leur synthèse et en inhibant la protéolyse. De plus, chez l'humain, l'insuline exerce une augmentation de l'activité du système nerveux sympathique causant une augmentation de la relâche de catécholamine et de norépinéphrine [Capeau, 2003].

مكتبة كلية العلوم
ملحقة البيولوجيا

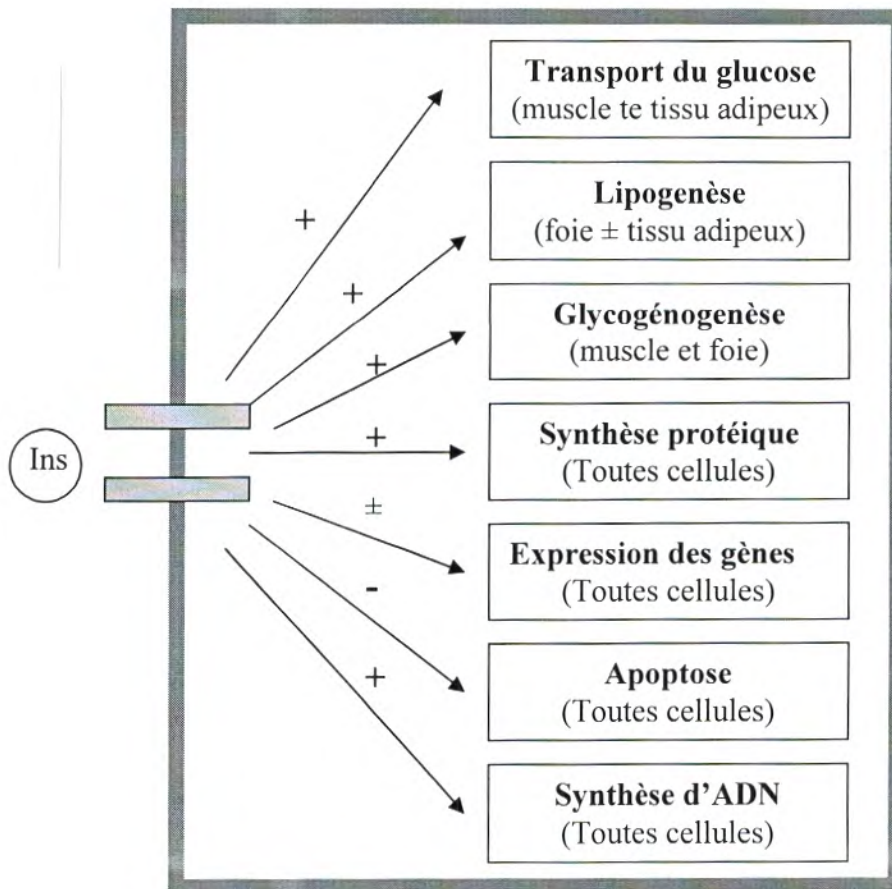


Figure 7 : Effets pléiotropes de l'insuline [Capeau, 2003].

2. Les transporteurs de glucose

Le glucose est une molécule polaire hydrophile qui ne peut pénétrer librement à travers la double couche lipidique de la membrane cellulaire. Par conséquent, l'organisme s'est doté d'un système de transport membranaire, lequel assure l'entrée du glucose à l'intérieur des cellules. Il existe deux grandes familles de transporteurs de glucose [Zierler, 1999] :

❖ **Les transporteurs de glucose sodium dépendants (ou cotransporteur Na⁺/Glucose) :** Ces transporteurs sont couplés à la pompe Na⁺/K⁺-ATPase et assurent le transport actif du glucose contre son gradient de concentration. On retrouve ce type de transporteur uniquement au niveau de certaines cellules épithéliales, dont celles de la bordure en brosse de intestin grêle , où il joue un rôle important dans l'absorption du glucose du lumen intestinal vers la circulation sanguine, et au niveau des cellules épithéliales des reins, où il assure la réabsorption tubulo-proximale du glucose [Zierler, 1999 ; Bastard et al., 1998].

❖ **Les transporteurs de glucose indépendants du sodium (ou GLUT «GLUCose Transporter») :** contrairement au système précédent, ce type de transporteurs est largement exprimé dans presque toutes les cellules, où le transport du glucose à travers la membrane cellulaire s'effectue dans la direction de son gradient de concentration et n'utilise donc pas d'énergie pour ce faire, ce processus est appelé diffusion facilitée [Zierler, 1999 ; Bastard et al., 1998].

Biochimiquement, les GLUTs sont de nature protéique et contiennent 492 à 524 acides aminés. Ces protéines se composent de 13 segments hydrophiles situés de part et d'autre de la membrane et de 12 segments hydrophobes transmembranaires. Ces derniers forment un pore à

travers la membrane cellulaire, permettant le transport du glucose dans le sens de son gradient de concentration [Zierath et Kawano,2003 ; Mueckler , 1994 ; Bell et al., 1993].

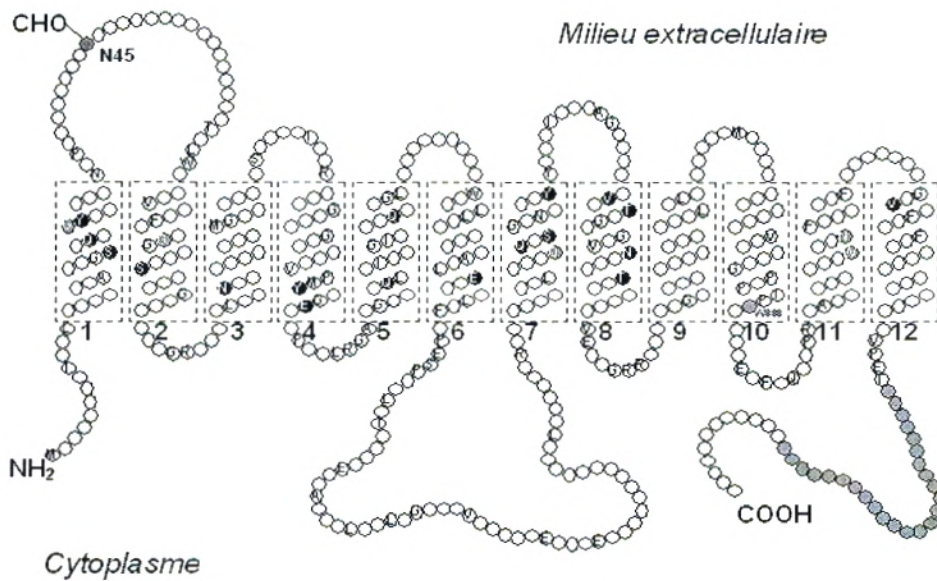


Figure 8 : Schéma de la structure moléculaire d'un transporteur de glucose [Bell et al., 1993].

Il existe 11 isoformes de GLUTs (GLUT1 à GLUT12) et un pseudo-gène (GLUT6) qui ne code pas pour un transporteur de glucose fonctionnel (**tableau 05**). L'existence de l'isoforme GLUT7 est remise en question puisqu'une étude a révélé qu'il serait associé à une erreur de clonage [Burchell, 1998].

Ces transporteurs diffèrent en termes de distribution tissulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative au type d'hexoses transportés .

Tableau 05 : Les transporteurs de glucose à système de transport facilité chez les mammifères : distribution tissulaire et fonctions physiologiques [Naira et al., 2003].

Nom	Distribution tissulaire	Affinité (mM)	Fonctions
GLUT1	Érythrocytes, cellules endothéliales, cerveau, placenta, muscle et tissu adipeux	1-2 mM	Transport du glucose basal et à travers la barrière hémato-encéphalique
GLUT2	Foie, cellules bêta du pancréas, intestin, rein.	15-20 mM	Transport bidirectionnel du glucose dans les hépatocytes
GLUT3	Humain : cerveau, tissu adipeux, rein, foie, muscle. Autres espèces : limitée au cerveau	1-2 mM	Transporteur principal du glucose au niveau des neurones
GLUT4	Muscle squelettique et cardiaque, tissu adipeux blanc et brun	5 mM	Transport du glucose régulé par l'insuline et la contraction
GLUT5	Intestin, tissu adipeux, muscle, cerveau, rein	10-13 mM	Transport du fructose
GLUT6	Pseudo gène	5 mM	
GLUT8/ GLUTX1	Blastocytes, testicules, muscle squelettique	2 mM	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus
GLUT9	Leucocytes, cerveau, foie, rein	/	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus
GLUT10	Foie, pancréas	0.3 mM	Proposé comme gène de susceptibilité au diabète
GLUT11	Muscle squelettique et cardiaque	/	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus
GLUT12	Muscle squelettique, tissu adipeux et petit intestin	/	Transport du glucose, mécanismes de régulation inconnus

3. Transporteurs du glucose au niveau de tissu adipeux

3.1. Tissus adipeux

Le tissu adipeux est un tissu conjonctif aréolaire (arrangement lâche de ses fibres) modifié en vue du stockage de nutriments. Il est surtout constitué de fibroblastes, de macrophages, de cellules adipeuses et de mastocytes. La majeure partie du volume cellulaire des adipocytes est occupée par une gouttelette lipidique composée presque entièrement de triglycérides [Marieb, 1999].

Ce tissu est largement distribué dans les territoires sous cutanés et la région intra abdominale. Il représente de 15 à 20% du poids du corps chez l'homme de poids normal et 20 à 25% chez la femme [Himms-Hagen et Riquier, 1997].

Il existe deux types de cellules adipeuses :

- *Les adipocytes blancs ou graisse blanche*

Sont des cellules sphériques, d'un diamètre entre 150 à 200µm. Le cytoplasme est réduit à une mince couronne entourant une volumineuse vacuole lipidique unique, mais il contient les organites cellulaires habituels et en particulier un appareil de Golgi et des mitochondries [Poirier et Dumas,1988]. Ces cellules sont largement majoritaires chez l'adulte [Himms-Hagen et Riquier, 1997].

- *Les adipocytes bruns ou graisse brune*

ont un noyau central et un cytoplasme rempli de nombreuses petites vacuoles lipidiques [Poirier et al., 2005], ils sont principalement caractérisés par la présence d'un très grand nombre de mitochondries [Nicholls et Locke, 1984]. Ce tissu est bien connu, anatomiquement et fonctionnellement, chez les rongeurs et les animaux hibernants. Il est néanmoins présent dans l'espèce humaine, principalement au début de vie [Poirier et al., 2005 ; Himms-Hagen et Riquier, 1997].

3.2. Rôle physiologique de tissu adipeux

Le tissu adipeux joue un rôle central dans le contrôle de l'équilibre énergétique de l'organisme. Ses fonctions ne sont cependant pas limitées au stockage des réserves énergétiques sous forme de triglycérides et à leurs mobilisations sous forme d'acides gras libres. Il apparaît maintenant clairement que les adipocytes exercent des actions pléiotropes par l'intermédiaire de la production de nombreux facteurs agissant de façon autocrine, paracrine ou endocrine [Fève et al., 1998]. Les hormones sécrétées ont des rôles métaboliques importants au niveau de la reproduction, de la fonction cardiovasculaire et de l'immunité. Cette fonction endocrine du tissu adipeux est influencée par la masse grasse totale et sa distribution [Prins , 2002]. Les principales hormones sécrétées par les cellules adipeuses sont la leptine, l'adiponectine (protéine la plus produite), l'angiotensinogène, l'interleukine-6 (IL-6) et l'inhibiteur de l'activation du plasminogène (PAI-1). Les adipokines qui sont des protéines bioactives sécrétées par le tissu adipeux, régulent la sensibilité à l'insuline [Ritchie et al., 2004].

L'activité métabolique de l'adipocytes comporte schématiquement trois étapes :

- la synthèse des lipides (lipogénèse) , à partir des différents substrats (triglycérides d'origine alimentaire et glucose);
- le stockage des lipides sous forme de triglycérides ;
- libération des lipides, principalement sous forme d'acides gras non estérifiés ou lipolyse [Poirier et Dumas,1988].

3.3. Transporteurs de glucose au niveau des adipocytes

Les GLUT1 et GLUT4 sont les principaux transporteurs retrouvés dans le tissu adipeux.

- GLUT1

Assure principalement le transport basal du glucose [Tremblay, 2004]. Le transporteur de glucose GLUT1 fut le premier isoforme à être caractérisé dans les cellules de mammifères. Son expression a été observée dans plusieurs tissus, principalement au niveau du placenta, du cerveau, des érythrocytes, des yeux, des reins et à un moindre niveau dans les tissus insulino-sensibles (les muscles squelettiques et cardiaques ainsi que les tissus adipeux blanc et brun). De façon générale, l'expression de GLUT1 est augmentée par une variété de stimuli qui favorisent la croissance ou la division cellulaire requérant davantage d'énergie. [Birnbbaum et al., 1987; Tordjman et al., 1989].

Ce transporteur est également retrouvé dans les membranes internes du tissu adipeux. Dans ce dernier cas, il a été démontré que l'insuline induisait une augmentation de la translocation de GLUT1 à la membrane plasmique, avec une diminution concomitante de ce transporteur à partir d'un réservoir interne contenant environ 50 % de la totalité des GLUT1 [Czech et Buxton , 1993; James et al., 1988; Kahn et al., 1987].

- GLUT 4

C'est en 1980 que deux groupes décrivent pour la première fois le phénomène de translocation du «système» de transport du glucose d'un compartiment intracellulaire vers la membrane plasmique en réponse à une stimulation insulinique [Cushman et Wardzala, 1980 ; Suzuki et Kono,1980]. On sait maintenant que GLUT4 représente le principal «système» de transport du glucose recruté à la surface des cellules musculaires et adipeuses en réponse à l'insuline, permettant ainsi une augmentation du taux de transport du glucose à l'intérieur de ces cellules [Bryant et al., 2002]. En effet, l'importance de cette contribution est supportée par le fait que la translocation de GLUT4 est cinq fois supérieure à celle de GLUT1 dans les cellules adipeuses [Calderhead D M et al., 1990; Holman et al., 1990].

3.4. GLUT 4 et diabète de type 2

Malgré l'importance de l'insulino-résistance dans la pathogénie du diabète de type 2, les anomalies cellulaires à l'origine de son développement ne sont pas encore parfaitement élucidées. Celles-ci pourraient faire intervenir une dysrégulation d'une ou plusieurs protéines impliquées dans les voies de signalisation de l'insuline ou bien dans les voies métaboliques activées par l'hormone. Parmi celles-ci, de nombreux arguments sont en faveur de défauts siégeant au niveau du transport du glucose. Par conséquent, une diminution d'expression ou d'activité de GLUT 4 dans les tissus musculaires et adipeux pourrait être envisagée pour expliquer, au moins en partie, la résistance à l'insuline au cours du diabète de type 2 [Bastard, 2004].

En effet, en ce qui concerne le tissu adipeux, il existe une diminution de sa sensibilité à l'insuline chez le patient diabétique de type 2 [Bastard et al., 1994] qui peut s'expliquer en partie par une diminution d'expression de la protéine GLUT4 [Bastard et al., 1995]. Cependant, lorsqu'on compare les sujets obèses aux patients obèses diabétiques, la clairance maximale adipocytaire du glucose baisse d'environ 70% tandis que la quantité de GLUT4 dans le tissu adipeux est réduite approximativement de 35 %. Ces données suggèrent qu'en plus d'une altération au niveau de l'expression de GLUT4, d'autres défauts doivent être responsables de la profonde résistance à l'insuline du système de transport du glucose chez les patients obèses atteints de diabète de type 2 [Bastard, 2004].

Chapitre III:

Phytothérapie

1. Introduction

Très tôt au cours de l'évolution, les hommes, pour se soigner, utilisèrent les ressources présentes dans leur environnement naturel. Les Plantes tinrent une place importante qui ne s'est jamais démentie, et il est tout à fait remarquable de constater que la plupart des plantes utilisées en thérapeutique de nos jours, ont été découvertes avant l'apparition des méthodes scientifiques d'exploration [Kassel,1996].

Il a fallu des siècles pour que les pays du sud conçoivent leurs propres techniques pour se soigner. Les instituts de la recherche internationaux parlent d'une médecine traditionnelle dont les méthodes ont souvent, par le passé, été dénigrées ou même ignorées par les professionnels du Nord.

C'est vers les années 1970, que l'attitude des pays développés commença à changer. L'OMS créa un groupe de travail sur la médecine traditionnelle. Le directeur de l'organisation, Halfdan Mahler, écrivait ces lignes dans un numéro spécial de la revue de l'OMS en 1977 "World Health" : *"Cela fait trop longtemps que le système traditionnel de médecine et la médecine moderne cheminent séparément, dans la plus grande antipathie mutuelle. Mais leurs objectifs ne sont-ils pas les mêmes : améliorer la santé de l'humanité et donc la qualité de la vie ? Seuls les esprits bornés oseraient soutenir que chacune de ses deux écoles n'a rien à apprendre de l'autre"* [Spurgeon, 1995].

Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre, et sont influencées par des facteurs comme la culture, l'histoire, les attitudes et la philosophie personnelles. Dans bien des cas, leur théorie et application sont très différentes de celles de la médecine conventionnelle. Le recours au long des siècles à grand nombre de pratiques préconisées par la médecine traditionnelle et l'expérience transmise de génération en génération sont preuve de l'innocuité et de l'efficacité de cette médecine. Cependant, il est nécessaire de procéder à des recherches scientifiques pour étayer ces constatations. La recherche et l'évaluation à ces fins doivent se faire dans le respect des connaissances et de l'expérience acquises au travers de pratiques établies de longue date [OMS, 2000].

Pendant ces dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité. Non seulement continue-t-on à l'utiliser pour les soins de santé primaires des pauvres des pays en développement, mais on y a aussi recours dans les pays où la médecine conventionnelle ou bio médecine occupe une place prépondérante dans le système de soins de santé nationale [OMS, 2000].

L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante. En Afrique, jusqu'à 80 % de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé. En Asie et en Amérique latine, les populations continuent d'utiliser la médecine traditionnelle en raison de circonstances historiques et convictions culturelles. En Chine, la médecine traditionnelle représente 40 % des soins de santé administrés [OMS, 2000].

2. Plantes antidiabétiques

Plus 1123 espèces de plantes recensées par les ethnopharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2. Ces plantes représentent 725 genres et 183 familles. 81% de ces plantes testées sur les animaux de laboratoire montrent une réduction de l'hyperglycémie [Marles et Farnsworth, 1996].

Ces plantes, recensées, sont généralement présentées dans des tableaux qui résume le nom scientifique de la plante, la famille, les noms vernaculaires courants utilisés dans la région étudiée, la partie utilisée (plante entière, partie aérienne, tige, racines feuilles, fruits,...) , parfois le principe actif (alcaloïdes, glycosides, saponosides, flavonoïdes,..) , les méthodes de préparation traditionnelle (infusion, décoction, macération,...), les animaux utilisés pour les tests (rats, souris, lapin, chien, chat,...), voie d'administration (orale, intra-péritonéale i.p, intra-vineuse i.v, sous cutanée S.c, ...) type de diabète et agent diabétogène (alloxane, Streptozotocine,...), nombre de citation et référence bibliographiques, ...

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

Tableau 06 : Résultats de quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différents régions du monde

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

Tableau 07 : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la régions de Tlemcen [Benmehdi,2000], parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles [Bnouham et al.,2002].

Familles Botanique	Nom scientifique	Nom vernaculaire	Méthode de préparation	Parties utilisés
Apiaceae	<i>Ammi visnaga</i> Lam.	Bachnikha	Décoction	Fruits
	<i>Daucus carota</i> L.	Zroudia	Jus, purée	Racines
	<i>Ferula asafoetida</i>	Hantit	Décoction	Résine
	<i>Foeniculum dulce</i> DC.	Besbas,	Décoction, inhalation	Résine, graines, feuilles, racine
Apocinaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Defla	Décoction, infusion, macération, fumiger	Feuilles
	<i>Ptychotis verticillata</i> L.	Nûnkha	Infusion	Partie aérienne
Apparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L.	Kebbar	Décoction, poudre	Fruits, graines
Brassicaceae	<i>Lepidium sativum</i> L.	Habb er sad, rchad,	Décoction, poudre	Graines
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mkhinza	Infusion , Jus frais	Feuilles, fleurs
Cistaceae	<i>Cistus ladaniferus</i> L.	Taouzla	Décoction, infusion	Feuilles
	<i>Cistus libanotis</i> L.	Yazir lahmir	Décoction	Feuilles
Compositae	<i>Artemisia arborescens</i> L.	Chhiba	Infusion	Partie aérienne
	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	Shih,	Poudre	Racine, feuilles
	<i>Artemisia campestris</i> L.	Allal	Décoction	Feuilles, fleurs
	<i>Cynara scolymus</i> L.	Kharchouf,	Décoction	Racines, feuilles
	<i>Taraxacum officinale</i>	Garnina	Décoction	Feuilles
Cucurbitaceae	<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Handal	Maceration, utilisation externe	Fruits, pulpe
Cupressaceae	<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Arâar	Décoction, poudre	
Fabaceae	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Arqsouss	Décoction	Fruits, racines
Gentianaceae	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn.	Merrâret, lehnech	Infusion	Partie aérienne
Geraniaceae	<i>Geranium robertianum</i> L.	laatarcha	Infusion	Feuilles, fleurs, tige
Globulariaceae	<i>Globularia alypum</i> L.	Ain larnab	Décoction, infusion	Feuilles
Gramineae	<i>Cynodon dactylon</i> L.	Til, njem, affie, tagamait	Décoction	Rhizomes
	<i>Sorghum vulgare</i> L.	Bachna, tafsût	Bouillant	Graines
	<i>Stipa tenacissima</i> L.	EL Halfa		
	<i>Zea mays</i>	Châr eddora		

Lamiaceae	<i>Ajuga iva</i> L.	Chendgora	Décoction, poudre	Partie aérienne
	<i>Lavandula dentata</i> L.	Khzama, taymerza	Décoction, infusion poudre	Plante entier, fleurs
	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Marrîwa	Décoction	Partie aérienne
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Fliou	Infusion	Partie aérienne
	<i>Origanum compactum</i> Benth.	Zâtar	Infusion	Feuilles
	<i>Thymus ciliatus</i> (Desf.) Benth.	Z'atar, z'îtra	Décoction, poudre	Feuilles
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Yazir, barkella	Décoction, infusion	Partie aérienne
Leguminosae	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Halba	Décoction, poudre macération,	Graines
Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L.	Toum,	Cru	bulbe
	<i>Allium cepa</i> L.	Elbesla	Cru	bulbe
	<i>Aloe socotrina</i> Lamk.r	Sibr, sabr	Poudre, jus, sec	Feuilles
Lythraceae	<i>Lapa communis</i> B.	Bardane, arkitoun	Feuilles fraîche, Décoction, infusion	Racines, feuilles, fleurs
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Karma, kermôs	Extrait, poudre	Fruits, feuilles
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Kalitûs	Décoction, infusion poudre	Feuilles, fleurs
	<i>Myrtus communis</i> L.	Raihane	Décoction, infusion	Fruits, feuilles
	<i>Syzigium aromaticum</i>	Qrûnfûl	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
Oleaceae	<i>Olea europea</i> L. Var. oleaster	Zitoun, zebbouj	Décoction	Feuilles
Palmae	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Nakhla, ttmer	Infusion , poudre	Fruits, graines
	<i>Chamaerops humilis</i> L.	Doum		Résine
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Qchour romman	Décoction, poudre	Péricarpe
Ranunculaceae	<i>Nigella sativa</i> L.	Sanouj	Poudre	Graines
Rhamnaceae	<i>Zizyphus lotus</i> L.	Sadra, nnbeg	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
	<i>Zizyphus spina-christi</i>	Aroug essfizef	Décoction, poudre	Raciness
	<i>Rhamnus alaternus</i>	Meliles		
Rosaceae	<i>Prunus amygdalus</i> Stokes var. <i>Amara</i> D.C.	Louz mar, louz harr	Extraits	Graines
	<i>Rubus fruticosus</i>	Ouraq el âligue, Tût lakhla	Infusion	Fruits, feuilles, fleurs
	<i>Cudonya oblonga</i>	Sferjel		
Rutaceae	<i>Ruta montana</i> L.	Fidjel	Décoction, infusion poudre	Partie aérienne
Urticaceae	<i>Urtica urens</i> L.	Harrigua	Infusion	Partie aérienne
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinae</i> Roscoe.	Zanjabil, skinjbir	Macération	Rhizomes
Zygophyllaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	Harmal	Poudre, infusion	Graines
	<i>Zygophyllum album</i> L. ssp.	Aggaya	Décoction, infusion poudre	Feuilles, tiges

Bnouham et al., en 2006, ont regroupé dans leur synthèse bibliographique l'ensemble des plantes antidiabétiques étudiées et reportées dans la littérature entre 1990 et 2000. ils ont recensé 176 espèces plantes intégrées dans 84 familles à pouvoir antidiabétique clair. Ils ont constaté que les familles des plantes les plus étudiées et qui ont confirmé leur pouvoir hypoglycémiant, soit en corrigeant les anomalies métaboliques ou en retardant les complications du diabète sont : la familles de Leguminoseae (1 espèce : sp), Lamiaceae (7 sp), Liliaceae (8 sp), Cucurbitaceae (7 sp), Asteraceae (6 sp), Moraceae (6 sp), Rosaceae (6 sp), Euphorbiaceae (5 sp) et Araliaceae (5 sp). Les espèces les plus étudiées sont : *Citrullus colocynthis* L. (Cucurbitaceae), *Opuntia streptacantha* Lem. (Cactaceae), *Trigonella foenum greacum* L. (Leguminoseae), *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), *Ficus bengalensis* L. (Moraceae), *Polygala senega* L. (Polygalaceae) et *Gymnema sylvestre* R. (Asclepiadaceae) [Bnouham et al., en 2006].

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

Familles	Espèces	Partie utilisée Principe actif	Effets antidiabétiques sur	Référence
Araliaceae	<i>Panax ginseng</i>	Racine (ginseng polypeptides)	Rats (50-200mg/kg i.v) et souris (50-100 mg/Kg S.c) normaux et hyperglycémie induit par adrénaline, glucose et alloxane)	Yang et al. 1990; Wang et al., 1990
	<i>Ginseng Radix</i>	Extrait aqueux	Souris (normaux et hyperglycémie induit par adrénaline)	Ohnishi et al., 1996.
	<i>Acanthopanax senticosus</i>	Feuilles (saponins)	100, 200 mg/kg i.p. pour souris avec hyper-glycémie induite par adrénaline, glucose et alloxane)	Sui et al., 1994
	<i>Aralia elata</i>	Ecorce des racines (elatosides saponins; acides oleanoliques glycosides)	Tolérance au glucose chez les rats	Yoshikawa et al., 1994b
Asteraceae	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrait d'hexane	300 mg/Kg i.p pour des souris normaux et diab.	Perez-Gutierrez et al., 1998
	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extraits chloroformique des feuilles (Flavone)	10-50 mg/Kg .Souris normaux et diab.(alloxane)	Perez et al., 2000
	<i>Gynura procumbens</i>	Extraits éthanoliques des feuilles	50,150 et 300 mg/Kg par voie orale chez les rats diabétiques par STZ	Zhang et Tan, 2000
	<i>Psacalium decompositum</i>	Extrait par décoction des racines	Souris normaux voie i.p et lapin à hyperglycémie temporaire	Roman-Ramos et al., 1992b
Cucurbitaceae	<i>Citrullus colocynthis</i>	Alcaloïde, saponoside et glycoside de l'épicarpe des fruits	Administration orle d'extraits chez les lapin diab. (Alloxane)	Abdel-Hassan et al., 2000
	<i>Momordica charantia L.</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	30 mg /Kg adiministré par vois orale chez des rats diabétiques STZ	Higashino et al., 1992
	<i>Momordica cymbalaria</i>	Poudre de fruits	Traitement de 15 jours pour des rat diab. Alloxane	Rao et al., 1999

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

3. Coloquinte *Citrullus colocynthis* L. Schard, *Linnæa* 12 : 414 (1838) Cucurbitacées

3.1. 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 coll., 1999 ; John et Cincinnati, 1898 ; Merad Chiali, 1973 ; Bedevian, 1936 ; Carter, 1997].

3.2. Taxonomie

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

3.3. Description morphologique

C'est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace :

- Les tiges angulaires, rugueuses, rampantes ou migrantes et rudes ;
- Les feuilles de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes ;
- Les fleurs jaune verdâtre, monoïques à sexes séparés, solitaires, apparaissent l'été entre Mai et août à l'aisselle des feuilles. La corolle de couleur jaune comporte cinq lobes ;
- Les fruits sphériques de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblant à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité. La chair légère, spongieuse, de couleur jaune orangé. Une plante produit 15 à 30 fruits ;
- Les graines de petite taille (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisse, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère [[Feinbrun–Dothan, 1978 ; John et Cincinnati, 1898 ; Duke, 1983].



Figure 9 : *Citrullus Colocynthis* .

a = rameau ; b = fruit ; c = fleur mâle; d = vrille; e = feuille.[Zoro et al., 2003].

3.4. Répartition géographique

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

4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité.

Le terme d'alcaloïdes a été introduit en 1818 par Meissner W. ; il rappelle le caractère alcalin de ses substances, caractère mis à profit pour leur extraction et leur dosage [Paris et Hurabielle, 1981].

4.1. Définition

Alcalis : soude eidos : aspect [Bruneton, 1999].

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle, le plus souvent végétale, azotés, basiques, doués, à faible dose, de propriété pharmacologique marquées [Paris et Hurabielle, 1981]. A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates, ...) ou combinés à des tanins. [Guignard et al., 1985].

4.2. Distribution

Les alcaloïdes sont des composés essentiellement présents chez les Angiospermes (peu nombreux chez les Monocotylédones et très répandus chez les Dicotylédones).

Ils sont exceptionnels chez les bactéries (Pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*) et assez rares chez les champignons (psilocine des champignons hallucinogènes de l'Amérique centrale, ergolines des *Claviceps* et autres Actinomycètes, sporidesmines, roquefortine, ...).

Les structures alcaloïdiques existent également chez les animaux. Dans certains cas ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal (castoramine issue de la métabolisation des alcaloïdes des néphuras que consomme le castor, alcaloïdes pyrrolizidiniques présents chez certains papillons). Dans d'autre cas, les alcaloïdes isolés semblent être des produits du métabolisme animal (solenopsine chez les fourmis, samaderine chez les salamandres). Ils sont très volatils pour constituer des signaux chimiques, éléments de défense et de communication (phéromones).

Depuis quelques années, le développement des connaissances sur les organismes marins a conduit à l'isolement de nombreuses structures hétérocycliques azotées, en particulier chez les éponges [Bruneton, 1999].

4.3. Propriétés physico-chimiques

- Les alcaloïdes ont des masses molaires variant de 100 à 900 ;
- Les alcaloïdes sont le plus souvent des solides cristallisables ;
- Quelques uns sont liquides à la température ordinaire (alcaloïdes généralement non oxygénés) ;
- Rarement colorés ;
- Presque toujours capables de dévier la lumière polarisée ;

- Les alcaloïdes sont des composés à caractère basique; ils donnent des sels avec les acides minéraux (Chlorhydrates, sulfates, nitrates, ...) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates,...) ;

- La solubilité des alcaloïdes dans les différents solvants varie en fonction du pH. Sous forme de bases : ils sont solubles dans les solvants organiques non polaires (benzène, éther éthylique, chloroforme, chlorure de méthylène,...), soluble dans les alcools de titre élevé et insoluble ou très peu soluble dans l'eau. Au contraire, les sels d'alcaloïdes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau.

- La basicité des alcaloïdes est très variable, elle est en fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote.

- La basicité est un facteur d'instabilité pour ses molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.

- Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques (réactifs des alcaloïdes). Ces réactions de précipitation en lieu en milieu aqueux légèrement acide [**Bruneton,1999 ; Paris et Hurabielle,1981**].

4.4 Détection, caractérisation

Les méthodes de détection des alcaloïdes actuellement employées consistent, dans le cas le plus général, en une précipitation des alcaloïdes par des réactifs plus ou moins spécifiques :

Les réactions générales de précipitation sont fondées sur la capacité des alcaloïdes à se combiner avec des métaux et des métalloïde : Bismuth, mercure, tungstène, iode,... [**Bruneton,1999**].

Il existe plusieurs types de réactifs; les plus importants sont :

- Réactif de Mayer : solution neutre de tétraiodomercurate de potassium (donne avec les alcaloïdes un trouble plus un précipité blanc);

- Réactif de Wagner (réactif de Bouchardat) : solution d'iodure de potassium iodé (précipité brum);

- Réactif de Dragendorff : solution de tétraiodobismuthate de potassium (précipité rouge orangé) [**Bruneton,1999 ; Paris et Hurabielle,1981**].

Les alcaloïdes précipitent également :

- Avec les sels des métaux lourds : sels de platine, de tungstate, de molybdène,...;

- Avec certains acides : acide picrique;

- Avec les tanins [**Paris et Hurabielle, 1981**].

D'autres réactifs peuvent être utilisés pour mettre en évidence les alcaloïdes, notamment ceux qui donnent des réactions colorées caractéristiques de groupe d'alcaloïdes :

- *p*-diméthylaminobenzaldéhyde pour les alcaloïdes de l'ergot de seigle ;

- Le sulfate de cérium et d'ammonium qui différencie les indole (jaunes), les dihydroindoles (rouge), les β -anilinoacrylates (bleu), ... ;
- La ninhydrine pour les arylalkylamines ;
- La réaction de Vitali-Morin pour les esters du tropanol [**Bruneton,1999**].

Les réactions citées ci-dessus permettent de caractériser la présence des alcaloïdes mais sont insuffisantes pour vérifier l'identité d'une drogue. Dans ce cas autres méthodes chromatographiques sont couramment mises en œuvre : la CCM et La HPLC (avec des solvants de type eau-méthanol ou eau- acétonitrile).

Le réactif de dagendorff, la solution iodé iodurée (ou les vapeur d'iode), l'iodoplatinate de potassium ou le sulfate de cérium et d'ammonium sont couramment utilisés pour la révélation des plaques CCM.

La non validité de la quasi totalité des alcaloïdes limite l'utilisation de la CPG à quelques cas particuliers [**Bruneton, 1999**].

4.5 Classification des alcaloïdes

- *Alcaloïdes dérivés des amino acides*

- **Ornithine** : Pyrrolidine, Tropane , Pyrrolizidine ;
- **Lysine** : Piperidine, Quinolizidine ;
- **Acide nicotinique** : Pyridine ;
- **Tyrosine** : Tetrahydroisoquinoline, Benzyltetrahydroisoquinoline, Phenethyl-isoquinoline, Terpenoid Tetrahydroisoquinoline,
- **Tryptophane** : Indole, β -Carboline, Terpenoid Indole, Quinoline (quinine, quinidine, cinchonidine), Pyrroloindole, Ergot (ergoline, ergometrine, ergotamine).
- **Acide anthranilique** : Quinazoline, Quinoline, Acridine
- **Histidine** : Imidazole

- *Alcaloïdes dérivés par réaction d'amination*

- **Alcaloïdes dérivés (d'acétate, de phenylalanine),**
- **Alcaloïdes terpénique (mono, sesqui, di et tri terpène),**
- **Alcaloïdes stéroïdique,**

- *Alcaloïdes purine*

- (caféine, theophylline, theobromine) [**Dewick, 2002 ; Wangchuk, 2004**].

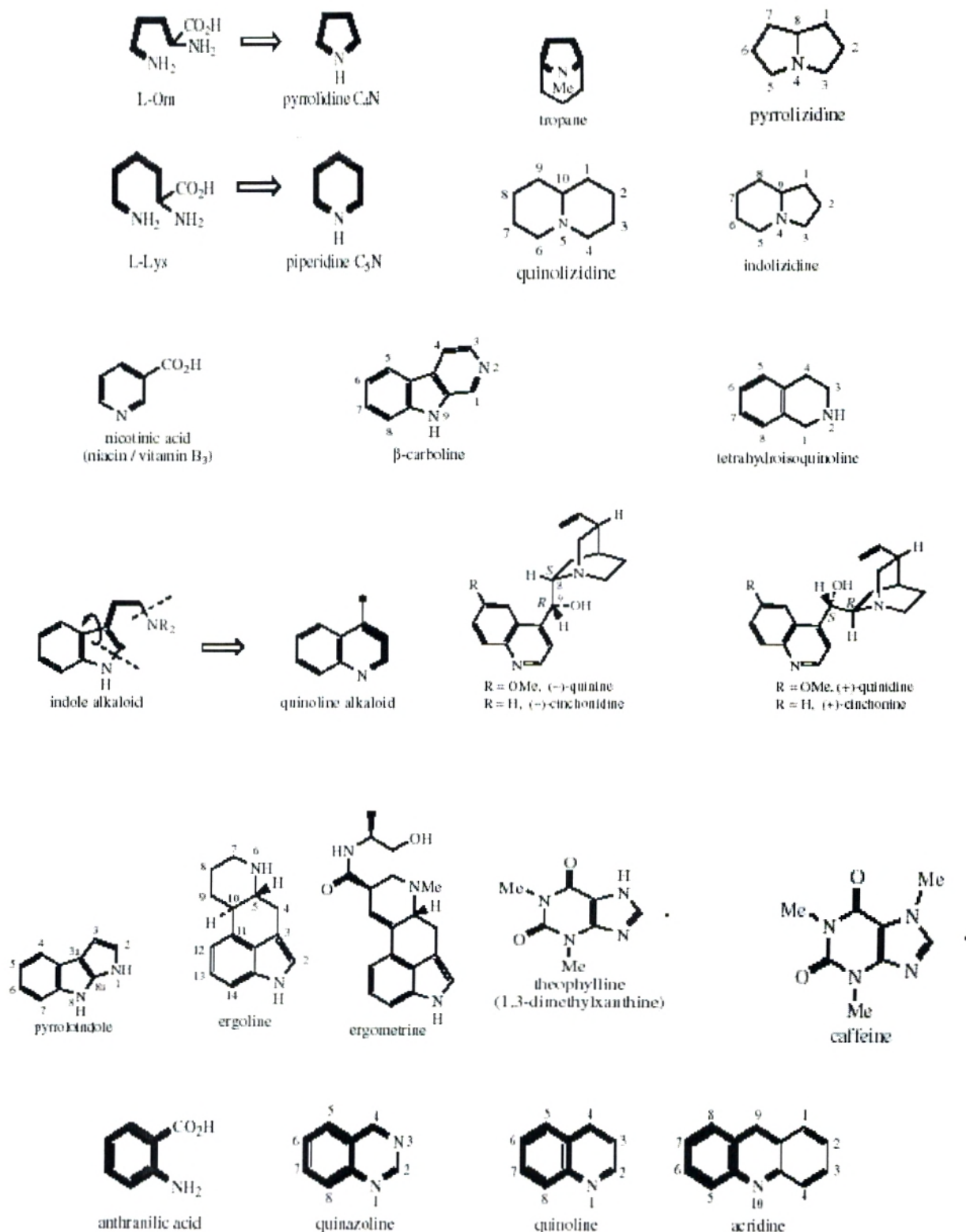


Figure 11 : Structure de quelques classes des alcaloïdes [Dewick, 2002].

4.6 Extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes existent habituellement dans la plante soit sous forme sels d'alcaloïdes soit sous forme d'alcaloïdes bases. L'extraction est basée sur la différence de leurs solubilités en milieu acide et en milieu alcalin d'une part et dans les solvants organiques polaires et non polaires d'autre part.

- En milieu alcalin : on obtient des alcaloïdes bases non ionisés [Bruneton, 1999];
- En milieu acide : on obtient des sels d'alcaloïdes ionisés [Harborne, 1998].

L'épuisement de la plante, séchée et pulvérisée, se fait à froid par macération, percolation ou, le plus souvent, à l'aide d'un appareil à épuisement continu (Soxhlet) [Paris et Hurabielle, 1981].

4.7 Action thérapeutique

Plus de 600 alcaloïdes ont été analysés pour leurs propriétés biologiques. Beaucoup parmi eux, sont aujourd'hui utilisés comme médicaments ou substances d'un grand intérêt pour leurs activités pharmacologiques variés et diversifiés, tels que la morphine ou la scopolamine agissant comme dépresseurs au niveau du système nerveux central ou bien la strychnine ou la caféine agissant comme stimulant [Roberts et Wink, 1998].

Certains sont des sympathomimétiques (éphédrine), sympatholytiques (yohimbine, certains alcaloïdes de l'ergot de seigle,...), parasymphatomimétique (ésérine, pilocarpine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine,...) ou ganglioplégiques (spartéine, nicotine,...) [Bruneton,1999].

D'autres ont des propriétés d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine), d'antitumoraux (vinblastine, ellipticine, taxol isolé de *Taxus brevifolia*, vincristine isolé de *Catharanthus roseus*,...), d'antipaludiques (quinine) d'antimicrobien (lombine, cononaridine, mataranine A et B isolés à partir de *Vocanga foetida* contre *Staphylococcus aureus*), antihypertensives (teprotide),... [Wangchuk, 2004 ; Bruneton,1999]

4.8 Les alcaloïdes à activité hypoglycémiante

Tableau 10 : Les alcaloïdes à activité hypoglycémiante [Bailey et Day, 1989]

Plante	Familles	Partie et principe active	Activité sur	Auteurs
<i>Catharanthus roseus</i> (Pervenche de Madagascar)	Apocynacées	Feuilles (leurosine, vindoline, vindolinine)	Rats sains	[Peters, 1957; Farnsworth et Segeman; 1971]
<i>Lupinus termis</i> (Lupin)	Papilionacées	Graines (Qinolizidine)	rats diabétiques	[Shani et al., 1974]
<i>Momordica charantia</i> (Margose, momordique)	Cucurbitacées	Partie aérienne	Patients avec DNID	[Leatherdale et al., 1981]
		Graines (vicine)	Rats normaux	[Raman et lau, 1996]
<i>Tecoma stans</i> (Chevalier)	Bignoniacées	Feuille (tecomine, tecostanine)	Lapin diabétique	[Hammouda et Amer, 1966]
<i>Trigonella foenumgraecum</i> (Fenugrec)	Papilionacées,	Graine (Trigonelline)	Animaux diabétiques	[Shani et al., 1974 ; Jain et al., 1987]
<i>Allium cepa</i> L. (Anion)	Liliacées	Diphenylamine	Lapin	[Krawya et al., 1984]
<i>Papaver somniferum</i>	Papaveracées	Fruit (Morfine, papaverine)		White et al., 1993; Hill et al, 1987]
<i>Coccinia india</i>	Cucurbitacées	feuilles	Patients avec DNID	[Azad Khan et al., 1980]

5. Les glycosides (Hétérosides)

5.1. Définition

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine) [Bruneton, 1993].

Il existe un très grand nombre d'hétérosides végétaux. Certains sont très répandus tandis que l'existence d'autres est limitée à quelques centaines d'espèces ou même à un seul genre ou à une seule espèce [Guignard et al., 1985].

Remarque : les anglo-saxons utilisent généralement le termes de glycosides, réservant celui de glucosides pour désigner les hétérosides formés avec du glucose [Guignard et al., 1985].

5.2. Types et classification des glycosides

La nature des glycosides est très diverse, tant en raison du mode de liaison entre la génine et le (ou les) ose(s) :

- ❖ **O-hétérosides** : liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement hydroxyle (alcoolique ou phénolique) de l'aglycone.
- ❖ **S- hétérosides** : liaison entre fonction réductrice de l'ose et un thiol.
- ❖ **N-hétérosides**: liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement aminé.

❖ **C-hétérosides**: chez quelques oses, la liaison entre la génine et l'ose se fait de carbone à carbone [Guignard et al., 1985].

Tableau 11: Classification des hétérosides végétaux (selon le mode de liaison de la génine et la structure de celui-ci [Paris et Hurabielle, 1981] :

Liaison	Structure de la génine	Types	Exemples	
O-hétérosides	H. d'alcools simples		fluridoside des algues	
	H. de phénols simples ou de leurs dérivés		arbustoside (Arbousier) salicoside (Saule) monotropitoside tannosides	
	H. stéroïdiques	H. cardiotoniques		digitoxine (Digitale) ouabaïoside et strphanthotrioside (Strophanthus) convallotoxoside (Muguet)
		Saponosides		digitonoside (Digitale) sarsasaponoside (salsepareille)
		Gluco-alcaloïdes		solanine (solanacées)
	Anthracénosides		sennosides (Sénés)	
	H. à génines à noyau hétérocyclique	H. coumariniques		mélitoside (Mélilot)
		H. flavoniques (très réponsus)		rutine (Rue, Sarrazin) hespéroside (Rue, Citrus) apioside (Persil)
		H. anthocyaniques (très réponsus)		cyanidine (Bleuet) malvidine (Mauve)
	H. divers	H. chromogéniques		aucuboside (Acuba)
		Principe amers		gentiopicine (Gentaine)
		Résine purgative des convolvulacées		jalapine (Jalap)
	S-hétérosides			Chez les Crucifères et famille affines : sinigrine (Moutarde)
C-hétérosides	Certains H. anthracénique		aloïne (aloès)	
	Certains flavonoside		scoparoside (Genêt à balais)	

➤ Les oses des hétérosides

Les oses qui entrent dans la constitution des glycosides sont divers : fréquemment c'est le D-glucose (d'où le nom de glucosides), mais ce peut être un autre hexose (fructose, galactose, mannose), un pentose (arabinose, xylose, ribose) très souvent un méthylpentose (rhamnose) et, chez les hétérosides cardiotoniques, un désoxyose (digitoxine, cymarose, digitalose).

L'implantation et la disposition des sucres peuvent se faire différemment : les oses sont rattachés isolément à la génine en plusieurs points, ou, le plus souvent en un seul point (dans ce cas, ils forment une chaîne polyosidique langue de 2 oses (primevérose, rutinose, gentiobiose), 3 oses (strophanthotriose, scillatriose), de 4 oses, parfois même jusqu'à 5-7 oses disposés les uns des autres [Guignard et al., 1985].

5.3. Action thérapeutique

Les glycosides sont utilisés pour leur effet laxatif (Bourdaine, Rhubarbe médicinale), anti-inflammatoire (aigremoine, Souci, petite camomille) et aux propriétés diurétiques et antiseptiques.

Certains glucosides ont une action physiologique prononcée sur les tissus animaux et sont toxiques pour l'homme. Ceux-ci comprennent par exemple les glucosides cardiaques affectant les tissus musculaires du cœur, que l'on trouve dans la Digitale [Stary, 1992].

5.4. Glycosides à activité hypoglycémiante

Tableau 12 : Les glycosides à activité hypoglycémiante [Bailey et Day, 1989]

Plante	Nom latin	Familles	Partie et principe active	Activité sur	Auteurs
Baniane (figuier d'Inde)	<i>Ficus bengalensis</i>	Moracées	Écorce de tige	Rongeurs sains	[Brahmachari et Augusti, 1964]
	<i>Gymnema sylvestere</i>		Feuilles	Lapin diabétique	[Shanmugasundaram et al., 1983]
Margose, momordique	<i>Momordica charantia</i>	Cucurbitacées	Partie aérienne B-sisterol-D-glycosides, stigomdine glucose	Patients DNID	[Leatherdale et al., 1981]
	<i>Momordica foetida</i>	Cucurbitacées	Partie aérienne	Patients DNID	[Olaniyi, 1975]
Myrtille	<i>Vaccinum myrtillus</i>	Ericacées	Feuille Neomyrtillin	Patients DNID	[Allen, 1927]
Martimalge	<i>Centaura seridis</i> <i>L. var.</i>	composées	Partie aérienne	Rat diabétique	[Villar et Paya, 1985, Ivorra et al., 1988]
Japanese Angelica	<i>Aralia elata</i> Seem.	Araliaceae	Écorce des racines Elatoside G, H, I	Rat HGPO	[Yoshikawa et al., 1995]
coloquinte	<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitacées	Epicarpe	Lapins normaux	[Abdel-Hassan et al., 2000].

2ème partie:

Partie expérimentale

Chapitre I:

Matériels et Méthodes

I. Analyses phytochimiques

1. Matériel végétal

Les fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schard); famille des ucrubitacée ; sont récoltés à maturité durant le mois de Septembre dans la région de Ain Safra, Wilaya de Naama, Sud Ouest algérien.

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

2. Dégraissage du matériel végétal

A fin d'éliminer les graisses et autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif ultérieur, notamment en induisant la formation d'émulsions. Il a été procédé à 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 250ml d'éther de pétrole (40-60°C) et est surmonté d'un réfrigérant.

En chauffant pendant 4 heures à l'aide d'un chauffe ballon avec une température d'ébullition stable, le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal.

3. Extraction des alcaloïdes totaux

3.1. Extraction en milieu acide

Cette extraction est faite selon la méthode de **Harborne, 1998** :

- ❖ Macération sous reflux avec agitation, pendant 16 heures, de 90g de graines de coloquinte broyées et dégraissées en présence de 250ml de HCl 2% et 110ml d'acétate d'éthyle ;
- ❖ Filtration du mélange et récupération du filtrat;
- ❖ Adition du NH_4OH à la phase acide jusqu'à ce que pH soit ajusté à entre 9,5 – 10 ;
- ❖ 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 jusqu'à épuisement total des alcaloïdes de la phase aqueuse ;
- ❖ Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer 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 à une température inférieure à 40°C afin d'éviter la dénaturation des alcaloïdes.

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

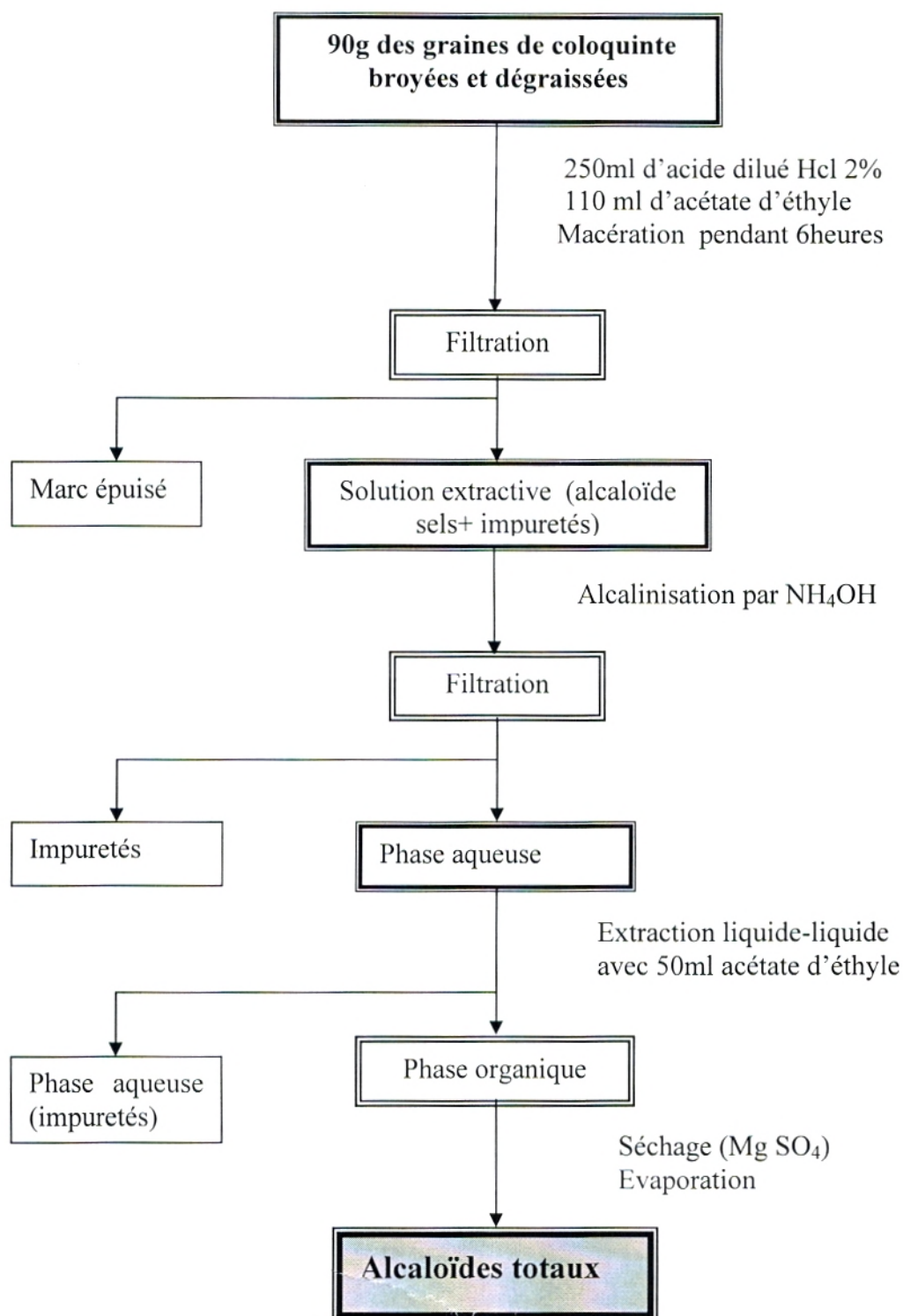


Figure 12 : Diagramme montrant l'extraction d'alcaloïdes totaux en milieu acide selon la méthode de Harborne, 1998.

3.8.2. Les saponosides

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

Les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine: Saponosides à génine stéroïdiques et Saponosides à génine triterpéniques [Bruneton, 1999].

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

3.8.3. Les alcaloïdes

En plus de la choline qui est connue comme constituant des cucurbitacées. **Darwish-Sayed et al. en 1973**, ont révélé la présence de trois autres alcaloïdes : ($C_{10}H_{15}NO_3$ et $C_{20}H_{32}NO$) considérés comme des dérivés de la pyridine, tandis que le troisième ($C_{16}H_{24}NO_7$) a été suggéré être le dérivé de la péricidine ou de la quinoline [Darwish-Sayed et al., 1973].

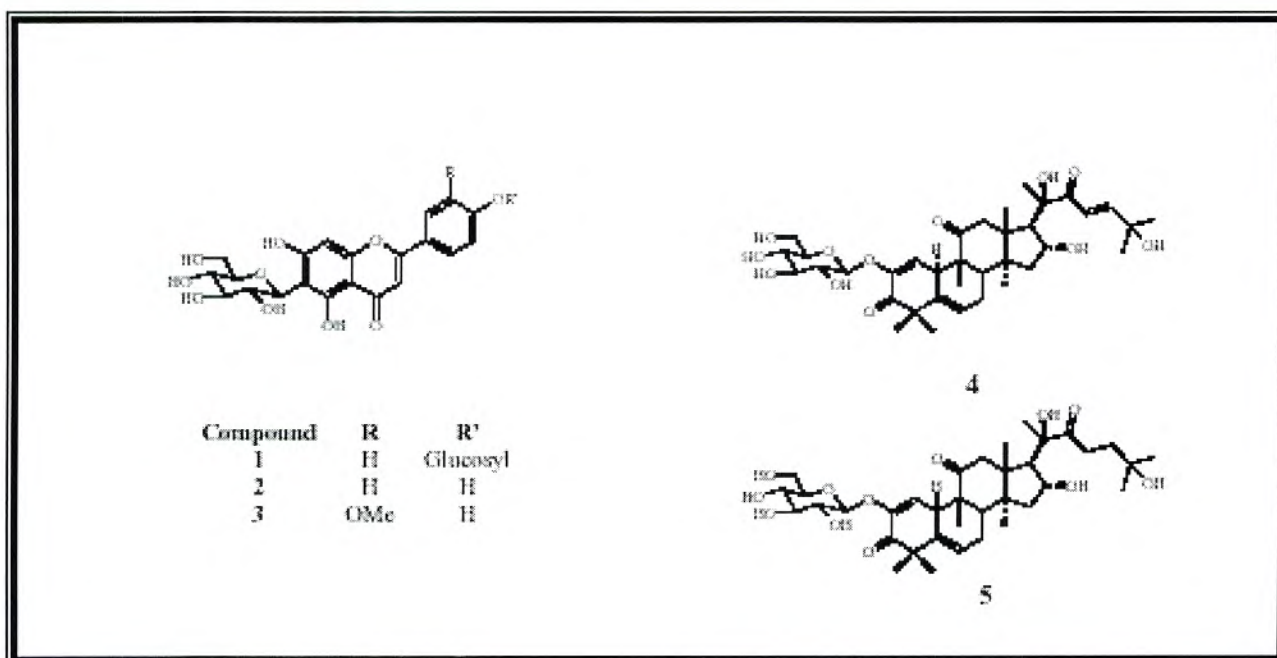
3.8.4. Les glycosides

Les glycosides de la coloquinte ont été le sujet de plusieurs études. Le tableau suivant résume quelques unes :

Tableau 09 : Etude bibliographique sur les glycosides de la coloquinte.

Auteurs	Années	Les glycosides recherchés	référence
Walz	1858	Il a isolé la colocynthine qui sous hydrolyse acide, donne une substance amorphe (colocynthéine)	[Walz, 1858]
Johenson	1885	sous une hydrolyse acide de la colocynthine; il a isolé la colocynthéine et l' α -élaterine avec d'autre substance	[Johenson, 1885]
Naylor et Chappel	1907	Ils obtiennent la colocynthine sous forme de cristaux	[Naylor et Chappel, 1907]
Power et Moore	1910	ils sont arrivés à isoler le citunollol, l' α -élaterine et autres substances	[Power et Moore, 1910]
Agarwal et Dutt	1934	La cucurbitacine E a été identifiée dans les racines	[Agarwal et Dutt, 1934]
Siddiqui et al.	1955	ont obtenu une série de composés cristallins, en particulier, l' α -élaterine	[Siddiqui et al., 1955]
Lavie et al.	1959	Ils ont isolé à partir de l'extrait chloroformique de pulpe dégraissée un glycoside cristallin de couleur jaunâtre	[Lavie et al., 1959]
Rehm et al. et	1957	Ils ont identifié dans les fruits et les feuilles les cucurbitacines B et E (l' α -élaterine).	[Rehm et al., 1957]
El Khadem et Abdel-Rahman	1963	Ils ont indiqué la forte proportion de l' α -élaterine-2-D-glycopyranoside dans la pulpe	[El Khadem et Abdel-Rahman, 1963]
Lavie et al.	1964	Ils ont identifié dans les fruits, par hydrolyse enzymatique, l' élaterine (cucurbitacine E), l' élatericine B(cucurbitacine I) et dihydroelatericine B (cucurbitacine L)	[Lavie et al., 1964]

Kloss et Schindler	1966	Ils ont démontré la présence de cucurbitacine D et L dans les fruits de la coloquinte	[Kloss et Schindler, 1966]
Auterhoff et Müller	1967	Ils ont prouvé que la colocynthine glycoside se compose en cucurbitacine E et I	[Auterhoff et Müller, 1967]
Murty et al.	1970	Ils ont trouvé que les fruits de la coloquinte contient que la cucurbitacine B et E	[Murty et al., 1970]
Darwish-Sayed et al.	1974	Qualitative : ils ont montré la présence de l' α -élaterine , les cucurbitacine B, I et L dans les tige, feuilles et les fruits de la coloquinte. Quantitative : 0.22% des glycosides dans la pulpe, 0.18% dans les graines, 0.17% dans les tiges, 0.15% dans les feuilles et 0.049% dans les racines.	[Darwish- Sayed et al., 1974]
Natiq et al.	1989	Ils ont identifié à partir de l'extrait chloroformique des fruits de la coloquinte : 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine E, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L et 2-O- β -D-glucopyranosyl-(22-27) hexanorcucurbitacine I	[Natiq et al., 1989]
Delazar et al.	2006	Ils ont isolé et identifié à partir des fruits trois flavone glycosides : isosaponarine, isovitexin et isoorientin 3'- O- methyl ether; et deux glycosides cucurbitacine : 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I et 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L	[Delazar et al, 2006]
Yoshikawa et al.	2007	Ils ont isolé 2 nouveaux glycosides triptépénique à partir d'extrait méthanolique des fruits : colocynthosides A et B	[Yoshikawa et al., 2007]



1 : isosaponarine, 2 : isovitexin 3 : isoorientin 3'- O- methyl ether; 4 : 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 5 : 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L

Figure 10 : Structure de quelques glycosides isolés des fruits de *Citrullus colocynthis*

3.2. Caractérisation des alcaloïdes

La caractérisation des alcaloïdes totaux se fait à l'aide des réactifs spécifiques suivants :

➤ *Réactif de Mayer*

Il est préparé à partir de deux solutions :

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

➤ *Réactif de Wagner*

- ❖ 2g de KI et 1,27g de I sont dissous dans 75ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec d'eau distillée.
- ❖ Le test de 0.5ml d'extrait avec 2 à 3 gouttes de ce réactif, entraîne la formation d'un précipité brun, qui indique la présence des alcaloïdes.

3.3. Identification des alcaloïdes

➤ *Chromatographie sur couche mince*

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

- ❖ Choix de la phase stationnaire : gel de silice fluorescent (Merck) 5 x 10cm ;
- ❖ Activation de la plaque dans l'étuve à 100°C pendant 30min;
- ❖ Choix de la phase mobile :
 - Système 1 : $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}/\text{CH}_3\text{OH}$ (49/49/2)
 - Système 2 : : Chloroforme /Méthanol (9/1)
- ❖ Saturation de la cuve par les solvants d'élution ;
- ❖ Préparation de 10mg de l'échantillon d'alcaloïdes dans 0.5ml de chloroforme ;
- ❖ 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 365 nm) et vapeur d'iode ;
- ❖ Délimitation des taches colorées à l'aide d'un crayon ;
- ❖ Calcul pour chaque constituant le rapport frontal **Rf** :

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

➤ *Spectre d'absorption UV*

Le spectre UV des alcaloïdes isolés a été mesuré en solution méthanolique à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible, piloté par un ordinateur et géré par un logiciel d'application. λ **max (nm)** représente la longueur d'onde de maximum d'absorption.

4. Extraction des glycosides cucurbitacines

4.1. Extraction des glycosides

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

- ❖ Extraction sous reflux, pendant 6 heures, 50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées en présence de 150ml de chloroforme ;
- ❖ Filtration du mélange et récupération du filtrat;
- ❖ Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer le solvant organique par l'addition de Na_2SO_4 ;
- ❖ Filtration ;
- ❖ Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor ;

Les glycosides cucurbitacines (extrait chloroformique) sont obtenus sous forme un liquide visqueux de couleur marron.

- ❖ Extraction du même marc avec 200ml d'éthanol 80%, pendant 6 heures ;
- ❖ 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 refermer le solvant organique décanté par l'addition de Mg SO_4 ;
- ❖ Filtration ;
- ❖ Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor ;

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

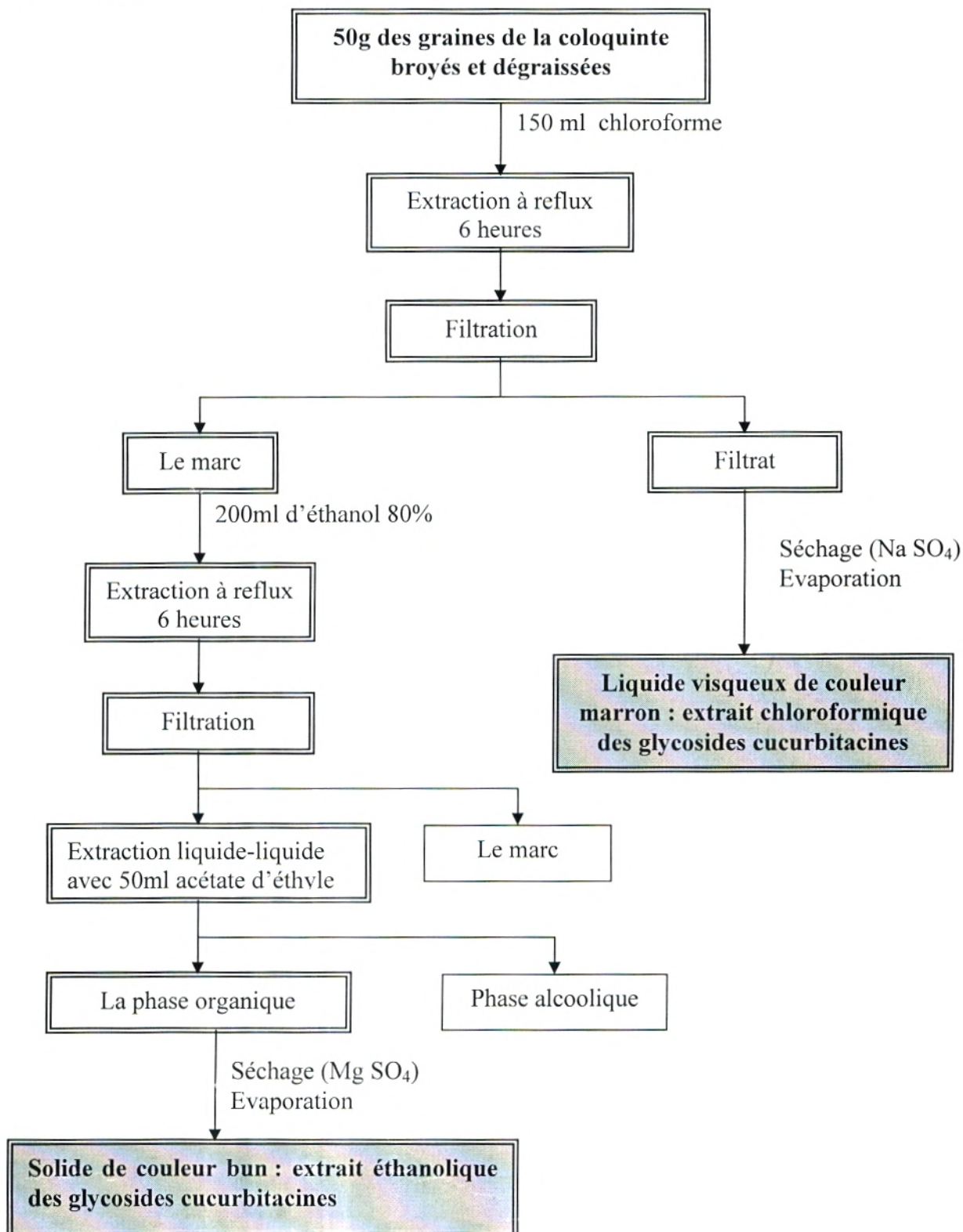


Figure 13 : Diagramme montrant l'extraction des glycosides cucurbitacines selon la méthode de Natiq et al., 1989 .

4.2. Caractérisation des glycosides

➤ Réaction de Liebermann Burchardt

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

4.3. Identification des glycosides

➤ Chromatographie sur couche mince

Les mêmes démarches expérimentales sont respectées pour la CCM des glycosides et celles des alcaloïdes. Avec l'utilisation d'une phase mobile contenant : Chloroforme/ méthanol (17/3) et Butanol/ acide acétique/ eau (40/10/30).

➤ Spectre d'absorption UV

Le spectre UV des glycosides isolés a été mesuré en solution méthanolique à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible, piloté par un ordinateur et géré par un logiciel d'application. λ_{max} (nm) représente la longueur d'onde de maximum d'absorption.

II. Analyses biologiques

Les extraits d'alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis* sont analysés pour leurs effets antidiabétiques sur des rats de laboratoire (*in vivo*). Et leurs effets sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolés à partir de la graisse epididymale de rat mâle de laboratoire (*in vitro*).

1. Les animaux

Dans ce travail, nous avons utilisé des rats blancs (*Rattus norvegicus*) variété *Wistar* de sexe mâle et femelle âgés de 3 à 6 mois ayant un poids de 200 à 300g.

Les rats sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage (au niveau de l'animalerie du département de biologie, faculté des sciences, université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen) ; température (25 à 30°C), taux d'humidité entre 60 et 70% et une photopériode de 12 heures le jour et 12 heures la nuit.

Ces animaux sont nourris avec un aliment complet sous forme de granulés fabriqués par l'O.N.A.B. Remchi Wilaya Tlemcen. Il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo- vitaminiques.

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

2. Détermination de la dose létale

Cette expérimentation a été faite sur 96 rats femelles réparties en 16 lots de 6 rats. Les 16 lots sont répartis en 4 groupes (**tableau 13**).

1^{er} Groupe : 1 lot témoin, soumis à des injections intra-péritonéales (IP) d'1 ml de sérum physiologique de 0,9% de NaCl.

2^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml de l'extrait des alcaloïdes totaux à des doses croissantes de 100 à 800 mg/kg du poids corporel (p.c)

3^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines à des doses croissantes de 50 à 300 mg/kg (p.c).

4^{ème} Groupe : 5 lots soumis à des injections intra-péritonéales d'1 ml d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacine à des doses croissantes de 50 à 200 mg/kg (p.c).

➤ *Préparation des solutions mères des alcaloïdes et des glycosides cucurbitacines*

Les alcaloïdes totaux étant solubles dans l'eau distillée, les solutions sont préparées dans l'eau distillée. Les glycosides sont insolubles dans l'eau, les glycosides cucurbitacines chloroformiques sont dissous dans du chloroforme dilué 5 fois avec l'eau distillée et les glycosides cucurbitacines éthanoliques sont dissous dans un volume d'acétone dilué 5 fois avec l'eau distillée.

Tableau 13 : Détermination des doses létales d'alcaloïdes et des glycosides cucurbitacines injectées aux rats par voie intra-péritonéale.

Groupe	N° Lot	Nombre de rats	Poids moyen (g)	Doses injectés mg/kg (p.c)
1 : Témoin	1	06	140	1ml Nacl 0,9%
2 : Alcaloïdes	2	06	134	100
	3	06	137.5	200
	4	06	139.3	400
	5	06	140.8	600
	6	06	146.8	800
3 : Glycosides cucurbitacine chloroformique	7	06	169.6	50
	8	06	160.2	100
	9	06	155	200
	10	06	146.7	250
	11	06	140.5	300
4 : Glycosides cucurbitacine éthanolique	12	06	169.7	50
	13	06	172.2	75
	14	06	171	100
	15	06	157.3	150
	16	06	136.6	200

3. Effets antidiabétiques des alcaloïdes et des glycosides *in vivo*

L'analyse des effets antidiabétiques *in vivo*, des alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines est réalisée sur 64 rats mâles Wistar adultes répartis en 2 groupes de 08 lots chacun :

Groupe 1 : 32 rats mâles soumis à des tests sur les effets antidiabétiques d'alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines extraits de la coloquinte. Leur effet est évalué à court terme (0, 1, 2 et 4h) à court et à long terme (9 semaines) ;

Groupe 2 : 40 rats mâles soumis à des tests de tolérance au glucose provoqué par voie orale.

3.1. Induction du diabète expérimentale

Des rats mâles du poids moyen de 200 à 250g sont rendus diabétiques par l'injection intrapéritonéale de 65mg/kg de Streptozotocine STZ (Sigma Aldrich) préparée fraîchement dans une solution tampon de citrate 0.1M, pH 4.5).

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

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

Les rats ayant une glycémie à jeun supérieur à 2.5g/l et une glycosurie +++ (après un dosage enzymatique) sont considérés diabétiques et sont retenus pour l'expérimentation.

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

3.2. Répartitions des lots de rats

- ❖ Lot 1 : Témoins normaux (RTN) ;
- ❖ Lot 2 : Témoins diabétiques (RTD) ;
- ❖ Lot 3 : Normaux traités par les alcaloïdes totaux (RNAIc) ;
- ❖ Lot 4 : Diabétiques traités par les alcaloïdes totaux (RDAIc) ;
- ❖ Lot 5: Normaux traités par les glycosides cucurbitacines chloroformiques (RNGCl) ;
- ❖ Lot 6 : Diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines chloroformiques (RDGCl) ;
- ❖ Lot 7 : Normaux traités par les glycosides cucurbitacines éthanoliques (RNGet) ;
- ❖ Lot 8 : Diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines éthanoliques (RDGet) ;

La glycémie basale est mesurée au début de l'expérimentation.

3.3. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte à court terme

Trente deux rats mâles sont utilisés, ils sont répartis en 8 lots de 4 rats chacun.

Les extraits et les doses injectés sont indiqués dans le tableau 14. Ils sont administrés par voie intra-péritonéale, aux rats mis à jeun de 16 à 18 h.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine caudale à des temps réguliers : 0, 1, 2, 4h.

La glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur du glucose (glucomètre Accu-Chek à bandelettes réactives Accu-Chek Active).

Remarque : généralement tous les glucomètres sont constitués d'une couche supérieure absorbante sur laquelle la goutte de sang est déposée, finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne, elle retient les globules rouges et laisse diffuser le plasma vers les couches inférieures contenant les réactifs : essentiellement la glucose-oxydase (éventuellement l'hexokinase) associée à un chromogène. La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le "lecteur de glycémie" [Desch, 2001].

Tableau 14 : Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques.

lots	Effectifs	Poids moyen (g)	Extraits injectés	Doses injectés
RTN	04	342.85	Eau physiologique	0.9%
RTD	04	250.62		
RNAIc	04	260.67	Alcaloïdes totaux	80 mg/kg p.c
RDAlc	04	183.975		
RNGcl	04	265	Glycosides cucurbitacine chloroformique	20 mg/kg p.c
RDGcl	04	217.425		
RNGet	04	262.42	Glycosides cucurbitacine éthanoliques	20 mg/kg p.c
RDGet	04	191		

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

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

G_0 : glycémie basale (temps = 0 min).

G_t : glycémie à temps t.

3.4. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte à long terme

Les effets antidiabétiques des extraits de coloquinte à long terme (9 semaines) à été analysés sur les rats décrits précédemment. Les rats ayant reçu la première injection intra-péritonéale des extraits de coloquinte (extraits d'alcaloïdes totaux, les extraits chloroformiques, éthanoliques des glycosides cucurbitacines), 3 semaines après l'installation de diabète chez les rats induite diabétiques par la STZ. Ils reçoivent une 2^{ème} injection des extraits au bout de la 5^{ème} semaines. Les doses injectées sont indiquées dans le tableau 15 .

Tableau 15 : Tableau récapitulatif des différentes injections des extraits de la coloquinte à long terme.

Semaines	S0	S1-S3	S3	S3+3-S5	S5	S5+3-S9
Substances injectées	STZ (65mg/kg p.c)		80mg/kg p.c alcaloïdes ou 20mg/kg p.c glyco chl ou 20mg/kg p.c glyco eth		60mg/kg p.c alcaloïdes 20mg/kg p.c glyco eth	
Dosages enzymatiques de la glycémie et cholestérolémie et mesure de poids						

glyco chl : extrait chloroformiques des glycosides cucurbitacines

glyco eth : extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines

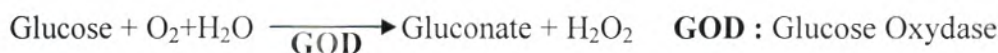
le taux de glucose plasmatique et le taux de cholestérol plasmatique sont mesurés périodiquement chaque semaine , à partir du sang prélevé du sinus rétro-orbital de rat à jeun. Le sang obtenu est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes.

➤ Dosage de la glycémie

La détermination du glucose dans le sang se fait par des dosages enzymatiques, à l'aide de Kit de Prochima, selon la méthode de **Trinder [1969]**.

Principe

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



POD : Peroxydase.

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

Solution de travail.

Dans une fiole de 500 ml, on verse le contenu du réactif 3, on ajoute 100ml d'eau distillée. Puis on rince le flacon. On ajoute le contenu du flacon2. On rince le flacon2. En fin on complète à 500 ml avec l'eau distillée. La solution du travail est stable un mois à -4°C.

Méthode de dosage

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution du travail	2ml	2ml	2ml
Réactif		20µl	
Sérum			20 µl

On mélange, et on attend 20 mn à température ambiante. Puis on lit la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

Calcul :

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

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

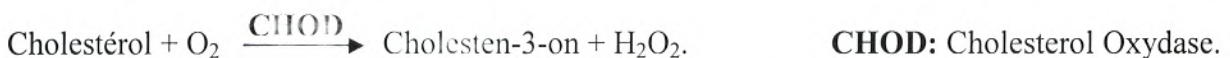
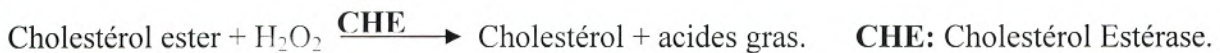
➤ **Dosage de la cholestérolémie**

La détermination du cholestérol e dans le sang se fait par des dosages enzymatiques, à l'aide de Kit de Prochima, 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. H₂O₂ 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

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

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

Calcul :

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

3.5. Effet des extraits de la coloquinte sur la régulation de l'hyperglycémie provoquée par voie orale

Dans le but de vérifier l'effet des alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacine de la coloquinte sur la régulation et l'utilisation périphérique du glucose chez les rats diabétiques et normaux dans un état d'hyperglycémie provoquée par voie orale. Nous avons utilisé 40 rats mâles de poids moyen entre 200 et 240 âgés de 3 mois répartis en 10 lots et maintenus à jeun pendant 16 à 18 heures (voir tableau 16).

Ces animaux reçoivent une injection intra-péritonéale des extraits de la coloquinte 30 minutes avant le gavage d'une solution de glucose (2.5g/kg p.c) par voie orale à l'aide d'une sonde de gavage gastrique.

L'évolution de la glycémie est suivie durant quatre heures (0, 30, 60, 120 et 240 min) après l'injection d'extraits.

Le sang est prélevé à partir de la veine caudale.

la glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur de glucose (glucomètre à bandelettes réactives One Touch Ultra).

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

Remarque : Les témoins sont représentés par des lots diabétiques et normaux ayant reçu soit du sérum physiologique ou le Glibenclamide 5mg/kg p.c (antidiabétique oral présenté comme témoin positif).

Tableau 16 : Test d'hyperglycémie provoquée, répartition des lots de rats et injection des extraits de coloquinte 30min avant le gavage de 2.5g/kg p.c du glucose par voie orale.

lots	Effectifs	Poids moyen (g)	Extraits injectés (t_0)	Doses injectés
RTN	04	235.77	Eau physiologique	0.9%
RTD	04	197.8		
RTN+	04	245.4	Glibenclamide	5mg/kg p.c
RTD+	04	202.625		
RNAIc	04	236.57	Alcaloïdes totaux	60 mg/kg p.c
RDAIc	04	235.55		
RNGel	04	224.9	Glycosides cucurbitacine chloroformique	20 mg/kg p.c
RDGel	04	213.85		
RNGet	04	210.225	Glycosides cucurbitacine éthanoliques	20 mg/kg p.c
RDGet	04	201.25		

4. L'effet des alcaloïdes totaux et les glycosides cucurbitacine sur la captation du glucose par les adipocytes isolés

Afin de déterminer le mode d'action de nos extraits sur la captation du glucose au niveau des tissus insulino sensibles (muscles, foie et tissus adipeuses) ; nous avons comparé l'effet des alcaloïdes totaux et l'extrait chloroformiques des glycosides cucurbitacines, à différents concentrations, par rapport à l'effet de l'insuline sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolés à partir de tissu adipeux épидидymal des rats wistar mâles selon la méthode de Rodbell (1964).

4.1. Préparation du milieu d'incubation KRBA

KRBA (Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé) est constitué des solutions mères isotoniques au sérum, qui va être utilisé comme milieu d'incubation pour les adipocytes isolés.

Ce milieu est préparé à partir du KRB (Krebs-Ringer Bicarbonaté) à pH 7.4 et de l'albumine Bovine.

Tableau 17 : Préparation du KRB

N°	Solutions mères isotoniques au sérum	Concentration [M]	Concentration [g/L]	Volume nécessaire (ml)
01	Na Cl	0.154	9	1000
02	Ca Cl ₂	0.110	12.2	30
03	KCl	0.154	11.5	40
04	KH ₂ PO ₄	0.154	21.1	10
05	MgSO ₄	0.154	38.2	10
06	NaHCO ₃	0.150	13	210

Le KRB est conservé à 4°C .

Le pH de la solution KRBA 4% et KRBA 1% est ajusté à 7.4 par 10mM d'Hepes (acide 4-(2-hydroxyéthyle)-1-piprazine-éthane sulfonique) tout juste avant leur utilisation.

4.2. Isolement des adipocytes de rats

➤ Les rats et dissection

Nous avons utilisé 10 rats Wistar mâles âgés de 6 mois ayant un poids moyen de 300g. les rats sont maintenus à jeun pendant 16 à 18 heures.

Ils sont sacrifiés et disséqués.

➤ Récupération de tissu adipeux et lavage ;

Le tissu adipeux épидидymal est rapidement prélevé, déposé dans une boîte de pétri en polyéthylène contenant du sérum physiologique, nettoyé des vaisseaux sanguins et caillot de sang et puis pesé et découpé en petits morceaux.

➤ Digestion enzymatique du tissu adipeux par la collagénase

Les morceaux de tissu adipeux découpés sont incubés dans une solution contenant la collagénase (Type II, Sigma C6885), dissous dans 10ml de KRBA 4% (5mg de collagénase pour 3g de tissu adipeux), pendant 45 minutes à 37°C sous agitation.

la collagénase permet la digestion de fibres de collagène du tissu conjonctif libérant ainsi les cellules adipeuses.

➤ Lavage et isolement des adipocytes

Après digestion enzymatique :

- ❖ Le mélange est filtré à travers un filtre en nylon. Ce filtre remplace le filtre Dutieux ou soie japonaise recommandée pour cette technique ;
- ❖ Le filtrat est centrifugé à 400 tr/min pendant 4 min. les adipocytes sont récupérés à la surface du fait de leur flottation ;

- ❖ La suspension cellulaire récupérée est lavée 3 à 4 fois avec 10 ml de KARBA 1% ;
- ❖ Après chaque centrifugation, le culot est aspiré à partir du fond du tube à l'aide d'une seringue attachée à un cathéter;
- ❖ A la fin de l'opération de lavage, la suspension cellulaire est ajustée au volume nécessaire à notre expérience.

4.3. Viabilité et numération cellulaire

Le but de cette opération est de vérifier l'état des cellules (viabilité et taux de mortalité) ainsi que le nombre des cellules vivantes par ml de suspension et par g de tissu adipeux.

Elle est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une cellule de Malassez, avec une suspension cellulaire diluée et colorée par le bleu de trypan 1%. Ce dernier colore les cellules non viables qui se laissent envahir par le colorant.

La proportion des cellules non viables par rapport aux cellules viables est exprimée directement en pourcentage.

4.4. Incubation des adipocytes

Les adipocytes sont mis à incuber une heure à 37°C sous agitation dans des boîtes de culture cellulaire en polyéthylène.

Dans chaque puits, nous avons 500µl de suspension avec 1.5 ml de KRBA 4% contenant du glucose 3mM (0.54g/l) ou 11mM (2g/l) sont déposées.

Les différentes concentrations d'insuline (témoin positif), d'alcaloïdes totaux et l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sont ajoutées aux puits expérimentaux et sont mentionnées dans le tableau ci-dessus.

Remarque : 1- L'insuline utilisée est une solution d'insuline humaine bio synthétique à 100UI/ml (Actrapide IM, MOVO Nordisk).

2- Deux témoins sont utilisés :

- ❖ le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose (2.5mM) ou (9mM) est incubé en absence des adipocytes et les différents extraits.
- ❖ 500µl de suspension cellulaire sont incubées dans le milieu d'incubation KRBA4% contenant du glucose (3mM) ou (11mM) en absence d'insuline ou d'extraits.

Tableau 18 : Concentrations d'insuline, d'alcaloïdes totaux et d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines ajoutées au milieu d'incubation contenant des adipocytes

Extraits	Concentrations	Volume d'extraits (µl)	KRBA4%+ Glucose 3mM (ml)	KRBA4%+ Glucose 11mM (ml)	Suspension cellulaire (µl)
Témoins		0	1.5		300µl KRBA1%
		0		1.5	300µl KRBA1%
		0	1.5		500
		0		1.5	500
Insuline	10 µ UI/ml	5	1.5		500
		5		1.5	500
	100 µ UI/ml	10	1.5		500
		10		1.5	500
	500 µ UI/ml	15	1.5		500
		15		1.5	500
	1000 µ UI/ml	20	1.5		500
		20		1.5	500
Alcaloïdes totaux	25 µg/ml	5	1.5		500
		10	1.5		500
	50 µg/ml	10		1.5	500
		15	1.5		500
	75 µg/ml	15		1.5	500
		20	1.5		500
	100 µg/ml	20		1.5	500
		20		1.5	500
Extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines	25 µg/ml	5	1.5		500
		10	1.5		500
	50 µg/ml	10	15	1.5	500
		15	1.5		500
	75 µg/ml	15		1.5	500
		20	1.5		500
	100 µg/ml	20		1.5	500
		20		1.5	500

5. Analyses statistiques

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

5.1. La moyenne

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

5.2. La variance

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

5.3. L'écart-type

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

5.4. L'erreur standard de la moyenne (Sm)

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

5.5. Test de Student

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Peu significative : $P < 0.05$ (*) ;

Significative : $P < 0.01$ (**) ;

Très significative : $P < 0.001$ (***) ;

Hautement Significative : $P < 0.0001$ (****).

Tableau 21 : Analyses phytochimiques d'extraits éthanoliques des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte.

Extrait, aspect physique	Masse (mg)	Rendement (%)	λ max (nm)	Analyse par CCM		
				Eluant	Nombre de taches	Rf
Solides de couleur brune	506	1.01	220 et 325	Chloroforme/ Méthanol (17/3)	5	0.83, 0.73, 0.63, 0.58, 0.51
				Butanol/ acide acétique/ eau (40/10/30)	06	0.9, 0.82, 0.78, 0.75, 0.51, 0.47

L'extraction des glycosides cucurbitacines par le chloroforme à partir de 50g des graines de coloquinte broyées et dégraissées permet de récupérer 0.529 g d'un Liquide visqueux de couleur marron, avec un rendement de 1.06% ; et l'extraction des glycosides cucurbitacines par l'éthanol 80% à partir du même marc, permet de récupérer 0.506g d'un produit solide de couleur brune, avec un rendement de 1.01%. Les deux résidus donnent un test positif dans la réaction de Liebermann Burchardt, ce qui confirme la présence des glycosides dont les parties aglycones seraient de forme stéroïdique ou tri- terpénique.

L'analyse des glycosides cucurbitacines par chromatographie sur couche mince, dans un système contenant (Chloroforme/ Méthanol (17/3)) révèle la présence de 5 taches pour l'extrait chloroformique et même pour l'extrait éthanolique, dont 3 taches ont des Rfs similaires. L'utilisation d'une phase mobile (B/A/W : Butanol / acides acétique/ eau (40/10/30)) révèle la présence de 7 taches pour l'extrait chloroformique et 6 taches pour l'extrait éthanolique, dont 3 taches ont des Rfs similaires.

Le spectre UV des glycosides cucurbitacines (chloroformique et éthanolique) étudié dans une solution méthanolique par un spectrophotomètre UV/visible donne un pic d'absorbance maximal à 220nm (λ max : 220nm) pour l'extrait chloroformique et deux pics d'absorbance maximal à 220nm et 325 (λ max : 220nm et 325nm) pour l'extrait éthanolique.

I. Analyses phytochimiques

1. Extraction des alcaloïdes totaux

Tableau 19 : Analyses phytochimiques des alcaloïdes totaux des graines de coloquinte.

Extrait, aspect physique	Masse (mg)	Rendt (%)	λ max (nm)	Analyse par CCM			
				Eluant	Proportion	Nombre de taches	Rf
Cristallisé de couleur jaune	821	0.91	210	A: CHCl ₃ /(CH ₃) ₂ CO/MeOH	49/49/2	3	0.7 0.5 0.4
				B: Chloroforme /MeOH	9/1	4	0.76 0.35 0.25 0.1

L'extraction des alcaloïdes totaux obtenus à partir du 90 g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées permet de récupérer 0.821 g d'un produit solide cristallisé de couleur jaune, avec un rendement de 0,91 %. Ce résidu donne un test positif avec les réactifs de Mayer et Wagner.

L'analyse du résidu par chromatographie sur couche mince révèle la présence de trois taches importantes avec le système A (CHCl₃/(CH₃)₂CO/MeOH : 49/49/2) et 4 taches avec le système B : (Chloroforme/MeOH : 9/1).

Le spectre UV des alcaloïdes étudié dans une solution méthanolique par un spectrophotomètre UV/visible donne un pic d'absorbance maximal à 210nm (λ_{max} : 210nm).

2. Extraction des glycosides cucurbitacines

Au cours de cette extraction le matériel végétal est épuisé respectivement avec le chloroforme puis une solution hydroalcoolique (éthanol 80%) (Tableau 20 et 21) :

Tableau 20 : Analyses phytochimiques d'extraits chloroformiques des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte.

Extrait, aspect physique	Masse (mg)	Rendement (%)	λ max (nm)	Analyse par CCM		
				Eluant	Nombre de taches	Rf
Liquide visqueux de couleur marron	529	1.06	220	Chloroforme/ MeOH (17/13)	05	0.73, 0.63, 0.5, 0.15, 0.08
				Butanol/ acide acétique/ eau (40/10/30)	07	0.9, 0.8, 0.54, 0.47, 0.36, 0.33, 0.02

II. Détermination de la dose létale

Les résultats relatifs à la toxicité des différents extraits étudiés et la détermination des doses létales sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 22 : Détermination de la dose létale des extraits d' alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines chloroformique et éthanolique, répartition des lots, doses injectées (IP) et effets observés.

Groupe	N° Lot	Nombre de rats	Doses injectés mg/kg	Taux de mortalité	Effets produits
1 : Témoin	1	06	Nacl 0,9%	00	Comportement normal
2 : Alcaloïdes	2	06	100	00	Comportement normal
	3	06	200	00	Comportement anormal, activité réduite pendant 24 h
	4	06	400	00	Comportement anormal, activité réduite pendant 24 h.
	5	06	600	01	Comportement anormal, activité réduite et mort d'un rat après 48h.
	6	06	800	03	Comportement anormal, activité réduite, coma et mort de 3 rats après 48h.
	3 : Extrait chloroformique des Glycosides cucurbitacines	7	06	50	00
8		06	100	00	Comportement normal
9		06	200	03	Comportement anormal, activité réduite et mort de 3 rats après 48h.
10		06	250	05	Comportement anormal, activité réduite, gonflement d'abdomen et mort de 5 rats après 24h
11		06	300	06	Comportement anormal, diarrhée gonflement d'abdomen et mort de 6 rats après 24h
4 : Extrait éthanolique des Glycosides cucurbitacines		12	06	20	00
	13	06	50	01	Comportement anormal, activité réduite et mort d'un rat après 48h.
	14	06	75	03	Comportement anormal, activité réduite et mort de 3 rats après 24h.
	15	06	100	04	Comportement anormal, activité réduite et mort de 4 rats après 24h.
	16	06	150	06	Activité réduite, diarrhée et mort de 6 rats après 24h.
	17	06	200	06	Activité réduite, diarrhée et mort de 6 rats après 24h

D'après les résultats, et aussi sachant que la dose médiane **DL₅₀** est égale à la dose qui entraîne la mort de 50% de l'effectif des rats du lots, la **DL₅₀** des alcaloïdes totaux serait de 800mg/kg, de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines serait de 200 mg/kg et de l'extrait éthanolique des glycosides serait de 75mg/kg.

Par contre, la dose létale **DL₁₀₀** (la dose qui entraîne la mort de 100% de l'effectif des rats du lot) l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines serait de 300mg/kg et de l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines serait de 150mg/kg.

III. Induction du diabète par la Streptozotocine (STZ)

72 h après l'injection de 65 mg/kg de STZ aux rats des lots 2, 4, 6 et 8 des deux groupes, les observations suivantes ont été faites:

➤ **apparition des symptômes comportementaux :**

Polyurie ;

Polydipsie ;

Polyphagie.

➤ **l'analyse urinaire à l'aide des bandelettes « Labstrix » révèle :**

Glycosurie : de +++ à ++++

Sang : trace,

PH : de 6.5 à 7 ;

Protéine : trace .

Corps cétonique : présence des Traces.

➤ **l'analyse sanguine du taux de glucose :**

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

IV. Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte

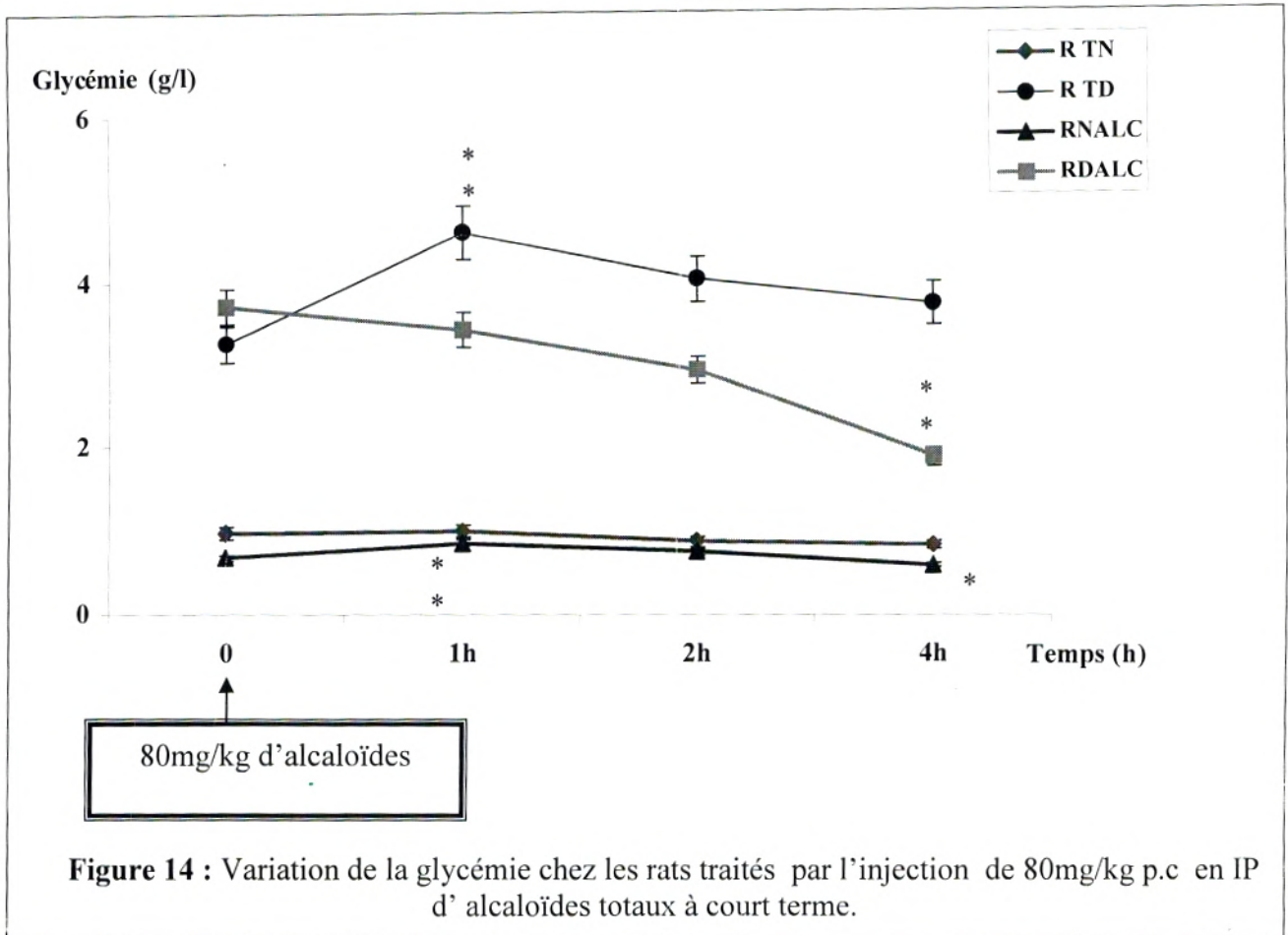
1. Effets à court terme (ou immédiat)

L'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques et normaux a été suivie durant les 4 premières heures (0, 1, 2 et 4 h) qui suivent une injection unique par voie intra-péritonéale des différents extraits des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

Chapitre II:

Résultats et Interprétation

1.1. Effet des alcaloïdes totaux sur la glycémie

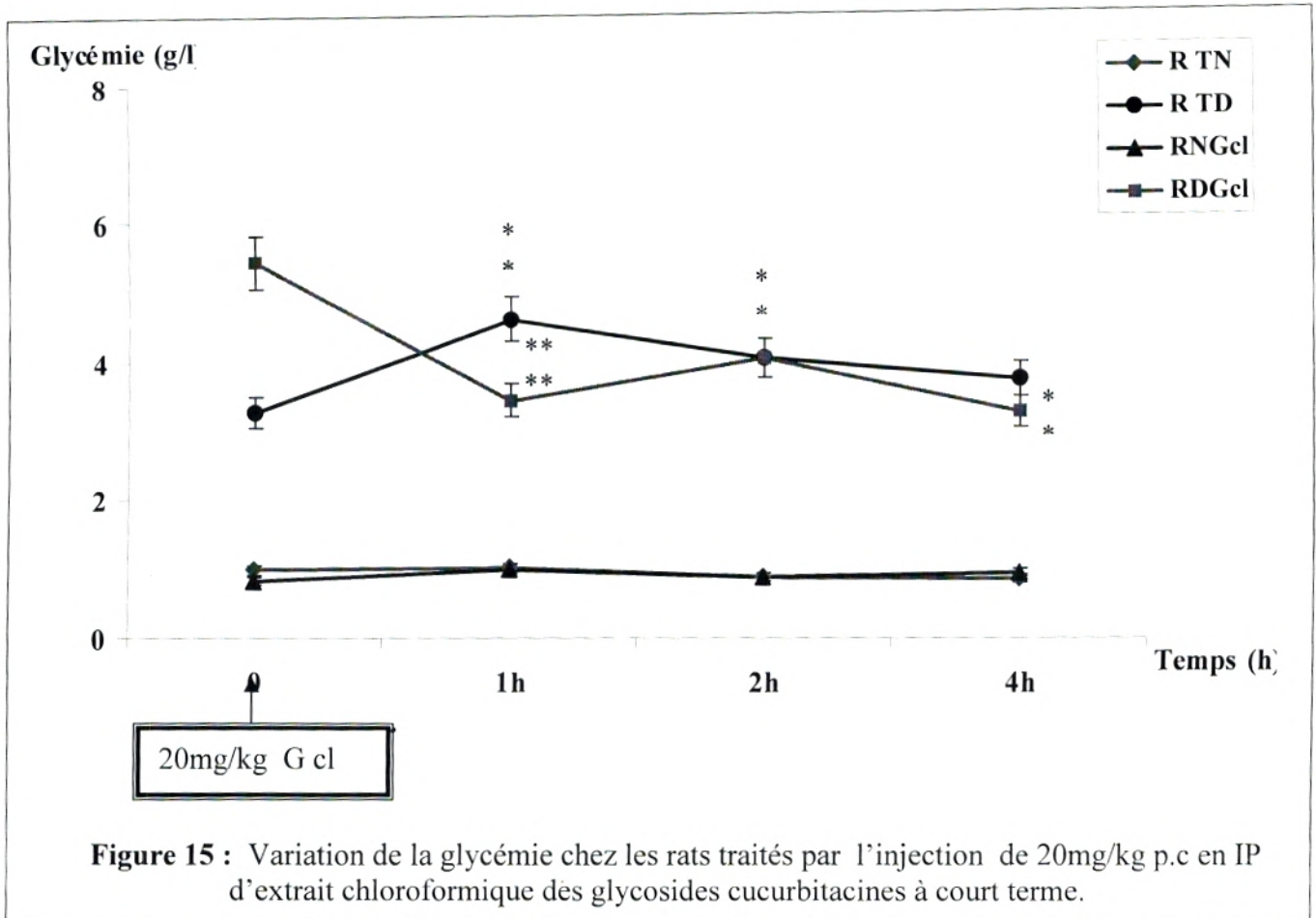


* degré de signification par rapport T₀

4 heures après l'injection de 80 mg/kg d'alcaloïdes totaux par voie intra-péritonéale aux rats diabétiques, il a été observé une diminution significative ($p < 0.01$) de la glycémie par rapport aux rats témoins diabétiques et une diminution significative d'ordre de **49.5%** par rapport aux T₀ (**Fig.14**).

Par contre, chez les rats normaux traités par les alcaloïdes totaux, il a été constaté une augmentation significative de la glycémie l'ordre de **26.6%** par rapport aux T₀ et une augmentation peu significative ($p < 0.05$) par rapport aux rats témoins normaux après une heure de l'injection de 80mg/kg d'alcaloïdes totaux. A la quatrième heure, il a été noté une diminution peu significative de la glycémie l'ordre de **13.6%** par rapport aux T₀ et une diminution significative par rapport aux rats témoins normaux (**Fig.14**).

1.2. Effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sur la glycémie



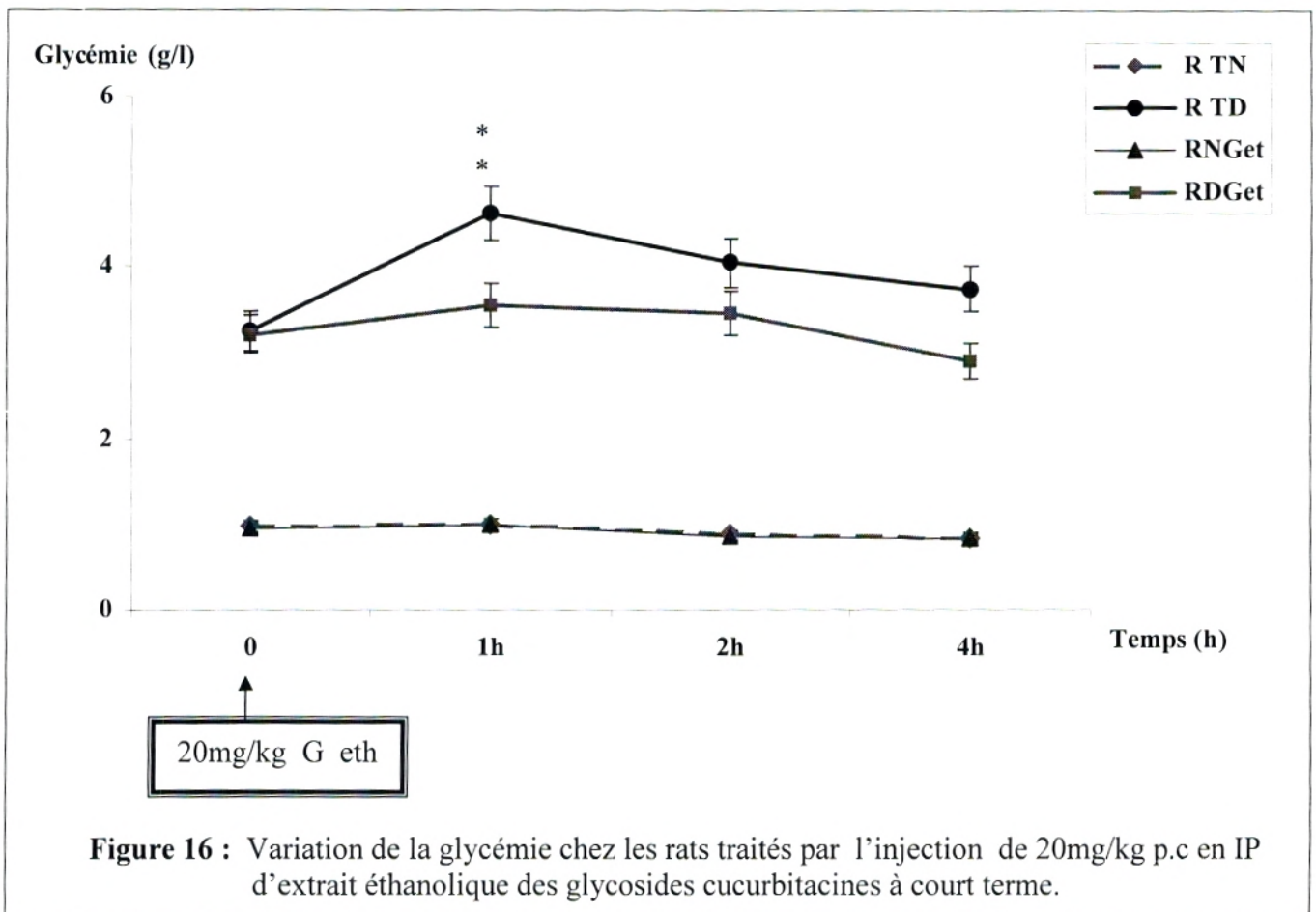
G cl: extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines

* degré de signification par rapport T₀

Dès la première heure après l'injection de 20mg/kg par voie intra-péritonéale de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines, il a été constaté une diminution hautement significative ($p < 0.0001$) de la glycémie d'ordre de **36.8%** par rapport à T₀ (de 5.43g/l à 3.43g/l), pour se stabiliser ensuite jusqu'à la 4^{ème} heure, chez les rats diabétiques (**Fig.15**).

Par contre, aucune variation significative de la glycémie n'a été notée durant les 4 heures chez les rats normaux traités par le même extrait par rapport aux T₀ (**Fig.15**).

1.3. Effet d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines sur la glycémie



G eth: extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines

* degré de signification par rapport T_0

Durant les 4 heures après l'injection de 20 mg/kg par voie intra-péritonéale de l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines aux rats diabétiques, il a été observé une légère diminution (non significative) de la glycémie par rapport aux T_0 d'ordre 9.2% . elle de 11.7% chez les rats normaux. Ces variations ne sont pas significatives par rapport aux rats témoins diabétiques ou normaux respectivement (**Fig.16**).

1.4. Comparaison entre l'action des trois extraits sur la glycémie

Tableau 23 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les différents extraits des graines de *Citrullus colocynthis* durant 4 heures par rapport aux rats diabétiques témoins.

Extraits injectés par voie intara- péritonéale	n	Glycémie basale (T ₀) (g/l)	Pourcentage de variation de la glycémie (%) ± SEM		
			1h	2h	4h
NaCl 0.9% (Témoins)	05	3.26 ± 0.29	+41.5 ± 0.64**	+23.9 ± 0.86	+14.7 ± 0.44
Alcaloïdes 80mg/kg	04	3.71 ± 0.56	-7.4 ± 0.96	-21±0.71	-49.5 ± 0.91**
Glycosides extrait chloroformique 20mg/kg	04	5.43 ± 0.23	-36.8 ± 0.21****	-25.7 ± 0.69 **	-40 ± 0.82 **
Glycosides extrait éthanolique 20mg/kg	04	3.22 ± 1.32	+10.3 ± 1.16	+7.5 ± 1.21	-9.2 ± 1.08

* : degré de signification par rapport aux T₀.

Tableau 24 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats normaux traités par les différents extraits des graines de *Citrullus colocynthis* pendant 4 heures par rapport aux rats normaux témoins

Extraits injectés par voie intara- péritonéale	n	Glycémie basale (T ₀) (g/l)	pourcentage de variation de la glycémie (%) ± SEM		
			1h	2h	4h
NaCl 0.9% (Témoins)	04	0.98 ± 0.1	+2 ± 0.05	-10.5 ± 0.10	-15 ± 0.09
Alcaloïdes 80mg/kg	04	0.69± 0.07	+26.6 ± 0.05**	+10.6± 0.03	-13.9 ± 0.06*
Glycosides extrait chloroformique 20mg/kg	04	0.82± 0.15	+20.7 ± 0.23	+6.7 ± 0.09	+13.1 ± 0.28
Glycosides extrait éthanolique 20mg/kg	04	0.96± 0.15	+4.7 ± 0.15	-11 ± 0.15	-11.7 ± 0.15

* : degré de signification par rapport aux T₀.

D'après les résultats obtenus, il a été constaté que l'effet anti hyperglycémiant des alcaloïdes totaux et l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines est plus significatif durant les quatre premières heures, après une injection intra-péritonéale chez les rats diabétiques. L'hyperglycémie est corrigée jusqu' à **49.5%** pour les alcaloïdes et **40%** pour l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines. Par contre, cet effet anti hyperglycémiant est moins significatif chez les rats diabétiques traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines durant la même période (**Tableau 23**).

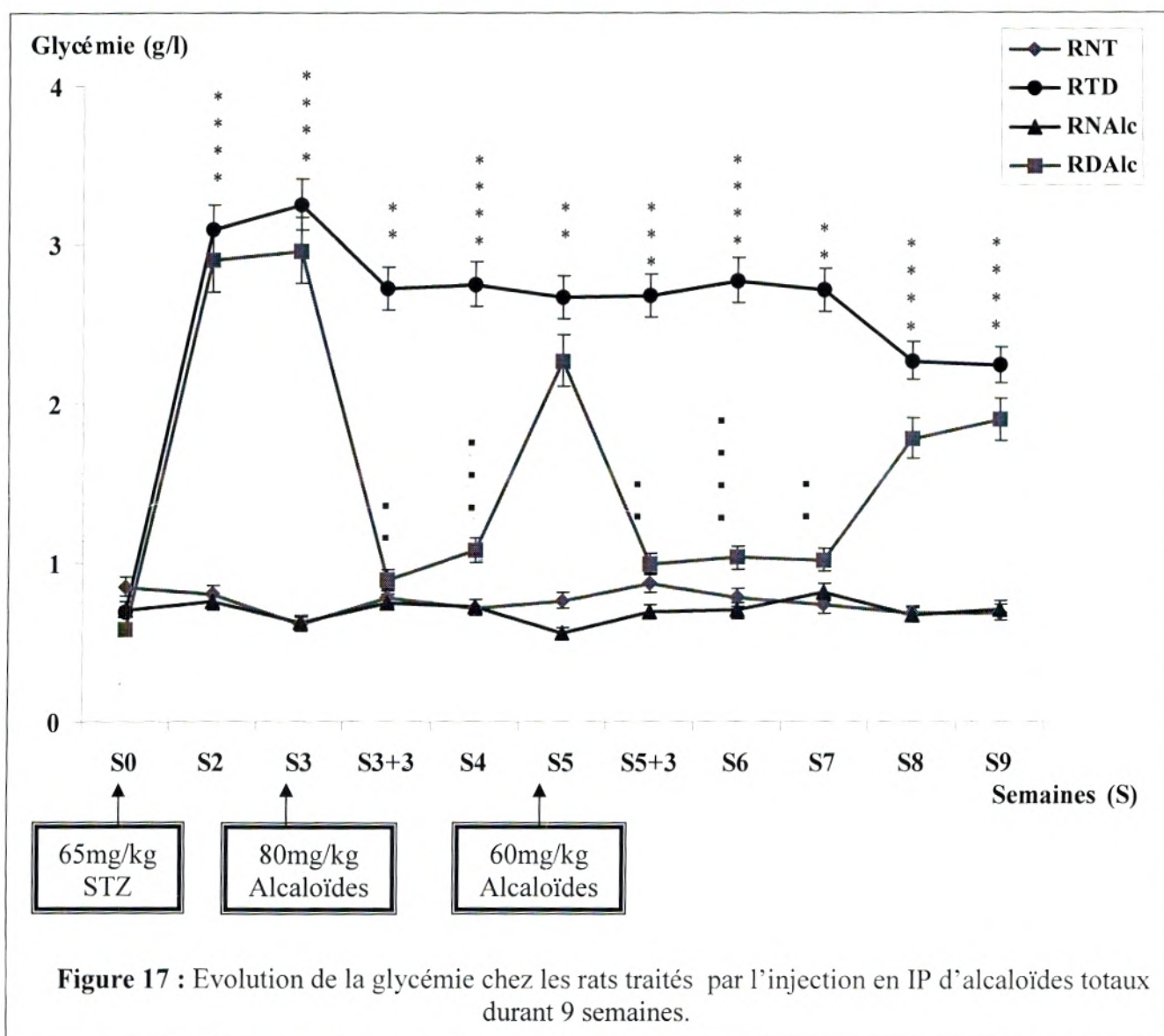
Par ailleurs, une réduction de la glycémie atteignant **13.6%** a été observée chez les rats normaux suite à l'injection de 80 mg/kg p.c d'alcaloïdes totaux. Par contre cet effet est absent chez les rats normaux traités par les glycosides cucurbitacines (**Tableau 24**).

2. Effets à long terme

2.1. Evolution de la glycémie

Trois semaines après l'installation du diabète chez les rats des lots 2, 4, 6 et 8 par l'injection de 65mg/kg de STZ, une injection intra-péritonéale des différents extraits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) aux rats des lots diabétiques et normaux a été effectuée. Les rats sont suivis chaque semaine (durant 9 semaines) par un prélèvement sanguin au niveau du sinus rétro orbital en vue de l'analyse de la glycémie et de la cholestérolémie. Le poids des rats est relevé durant la même période. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures suivantes :

2.1.1. Effet des alcaloïdes totaux sur la glycémie



- ° : degré signification par rapport témoins diabétiques
- * : degré signification par rapport aux rats témoins normaux.

72 h après l'injection par voie intra-péritonéale de 80 mg/kg d'alcaloïdes totaux pour les rats diabétiques du lot 4, il a été observé une diminution significative ($p < 0.01$) de la glycémie par rapport aux témoins diabétiques.

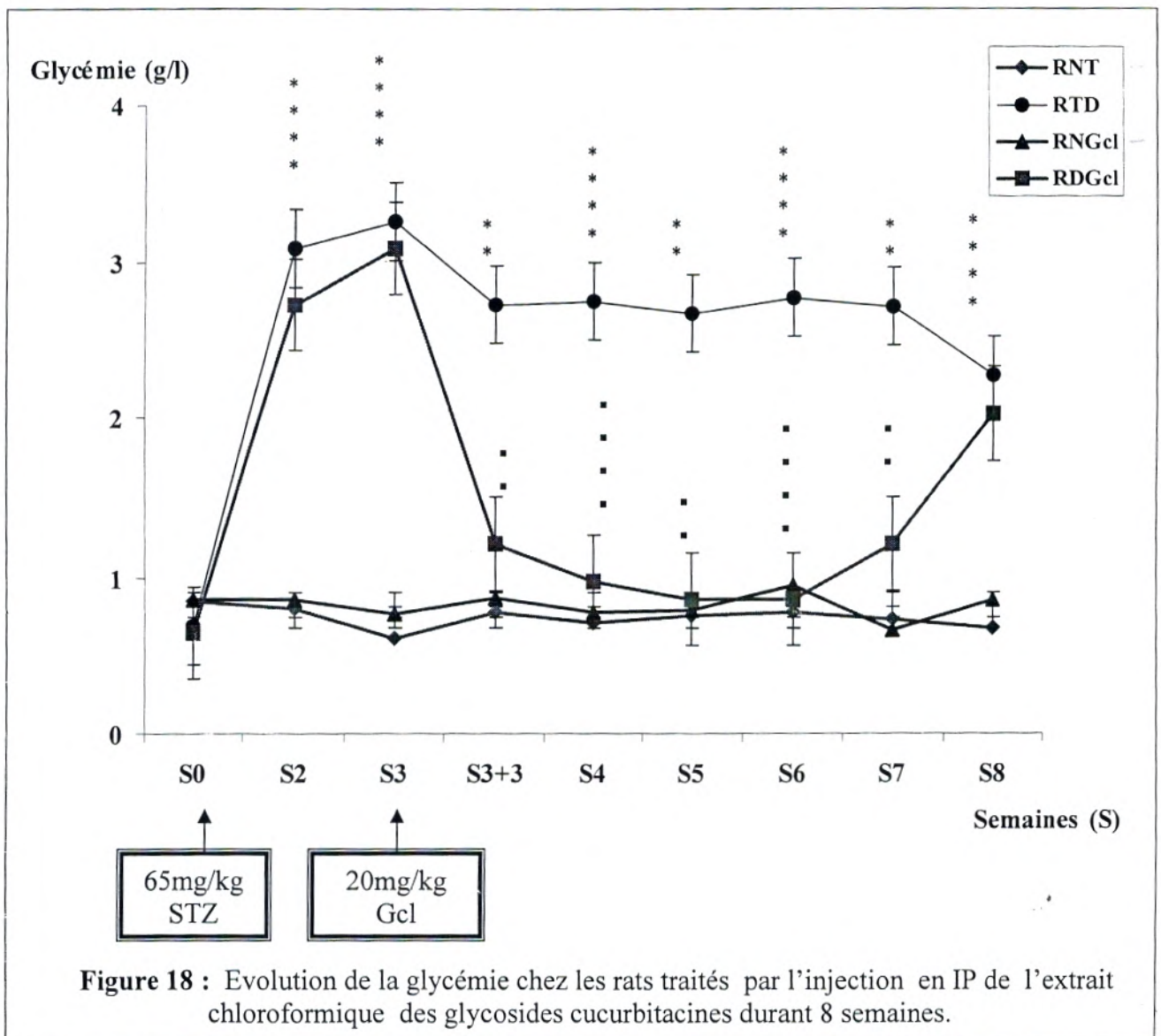
Ces taux persistent 2 semaines, puis la glycémie commence à augmenter et la glycosurie réapparaît, ce qui nous a permis de constater le retour à l'état diabétique.

Cela nous a amené à faire une 2^{ème} injection, après la 5^{ème} semaine, de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux.

Suite à cette injection, 72h après, l'hyperglycémie est réduite de 2.96g/l à 0.89g/l (70%). Ce taux relativement réduit de la glycémie persiste pendant 3 semaines, au delà des quelles, la glycémie commence à remonter.

Par contre, aucune différence significative de la glycémie entre les rats normaux traités par les alcaloïdes totaux et les rats témoins normaux n'a été observée (Fig.17)

2.1.2. Effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sur la glycémie



G cl : l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines

■ : degré de signification par rapport témoins diabétiques

* : degré de signification par rapport aux rats témoins normaux.

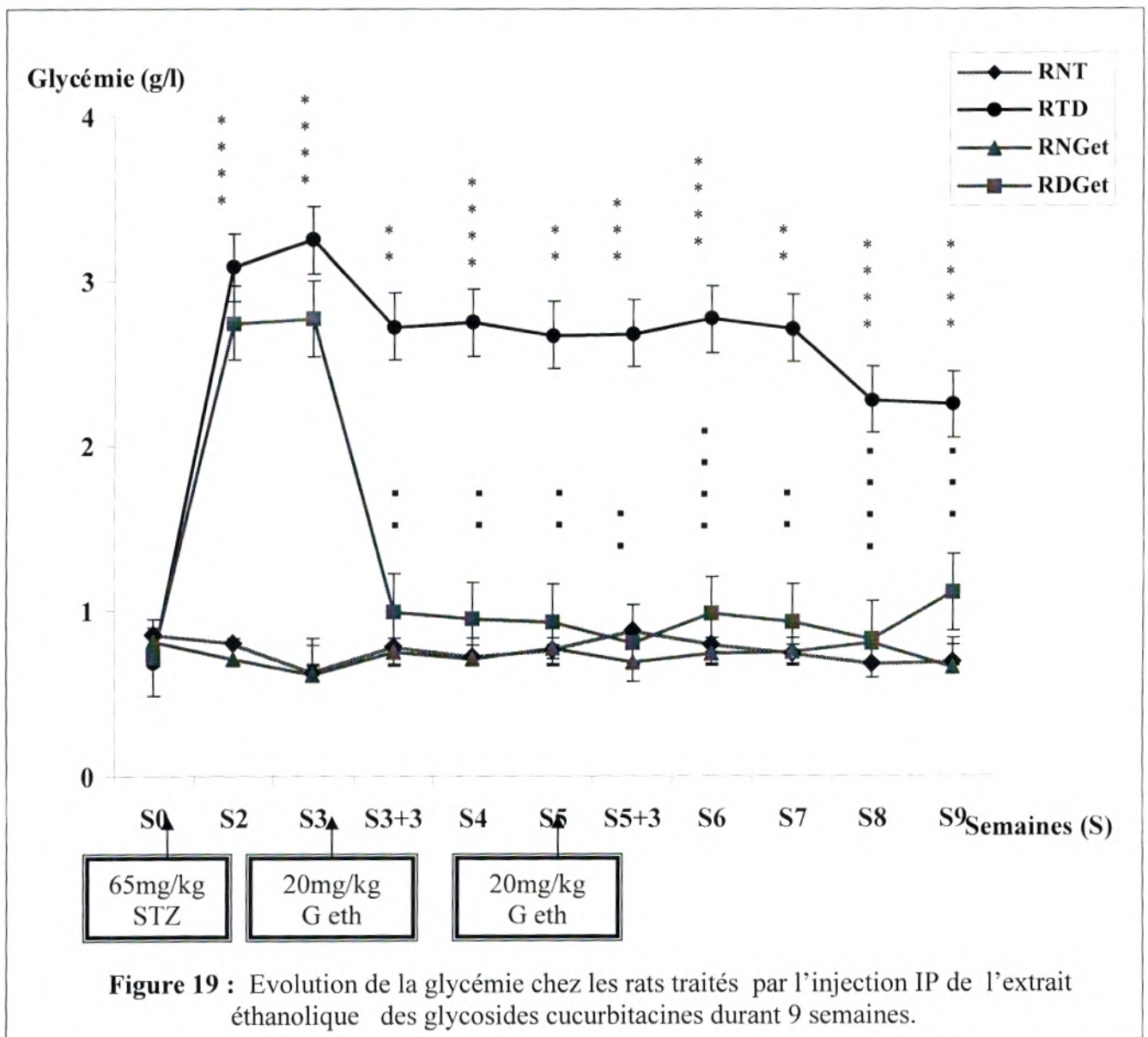
72 h après l'injection par voie intra-péritonéale de 20 mg/kg de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines aux rats diabétiques du lot 6, il a été observé une diminution

significative de la glycémie par rapport aux rats témoins diabétiques, avec un taux de diminution d'ordre de plus de **60%** (de 3.08g/l à 1.21g/l). Cette diminution atteint le taux de **-72%** à la 5^{ème} semaine avec un degré hautement significative par rapport aux rats témoins diabétiques (**Fig.18**).

Ces taux relativement bas de la glycémie persistent pendant 5 semaines puis commencent à augmenter de nouveau et la glycosurie réapparaît c'est l'état diabétique.

Concernant les rats normaux traités par l'injection intra-péritonéale de 20 mg/kg glycosides cucurbitacines extrait chloroformique, aucune différence significative par rapport aux rats témoins normaux n'a été observée (**Fig.18**).

2.1.3. Effet d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines sur la glycémie



G eth : l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines

■ : degré de signification par rapport témoins diabétiques,

* : degré de signification par rapport aux rats témoins normaux.

3 jours après l'injection IP de 20 mg/kg de l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines aux rats diabétiques du lot 8, il a été observé une diminution significative de la

glycémie par rapport aux rats témoins diabétiques, avec un taux de diminution de l'ordre de **64.25%** (de 2.77g/l à 0.99g/l).

Après la 5^{ème} semaine, une autre dose de 20 mg/kg de l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines a été administrée aux mêmes rats du lot 8. Une semaine après, la glycémie diminue significativement par rapport aux rats diabétiques témoins. Cette diminution persiste jusqu'à la fin de l'expérience (5 semaines) (**Fig.19**).

Concernant les rats normaux traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines , aucune différence significative n'a été observée (**Fig.19**).

2.1.4. Comparaison entre l'action des trois extraits sur la glycémie

A la lumière de ces résultats, il apparaît que aussi bien l'extrait d'alcaloïdes totaux que les extraits des glycosides cucurbitacines (chloroformique et éthanolique) ont un effet anti-hyperglycémiant. Il apparaît aussi que l'action des extraits des glycosides cucurbitacines persiste plus longtemps (5 semaines) avant que la glycémie remonte et la glycosurie réapparaisse, en comparaison avec l'action des alcaloïdes totaux.

✕ Par ailleurs, aucun effet hypoglycémiant n'a été observé chez les rats normaux traités par les extraits étudiés, ces derniers exerceraient un effet anti-hyperglycémiant. (**Tableau 25 et 26**)

Tableau 25 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les différents extraits des graines de *Citrullus colocynthis* durant 9 semaines par rapport aux rats diabétiques témoins (S0 : STZ, S3: 1^{ère} injection IP des extraits, S5: 2^{ème} injection IP des extraits).

Extraits	n	Glycémie (g/l) ± SEM										
		S0	S2	S3	S3+3	S4	S5	S5+3	S6	S7	S8	S9
NaCl 0.9% (Témoins)	04	0.69±0.17	3.09±0.16 ****	3.25±0.14 ****	2.72±0.79 **	2.75±0.44 ****	2.67±0.95 **	2.68±0.61 ***	2.77±0.4 ****	2.71±0.81 **	2.27±0.28 ****	2.24±0.35 ****
Alcaloïdes totaux	04	0.58±0.12	2.90±0.08 ****	2.96±0.31 ****	0.89±0.31 ..	1.08±0.34 ..	2.27±0.71 **	0.99±0.32 ..	1.03±0.25 ..	1.02±0.33 ..	1.78±0.44 **	1.90±0.53 **
Glycosides chloroformique	04	0.65±0.09	2.72±0.44 ****	3.08±0.33 ****	1.21±0.44 ..	0.97±0.11 ..	0.86±0.06 ..		0.86±0.08 ..	1.21±0.22 ** ..	2.03±0.38 ***	
Glycosides éthanolique	04	0.72±0.08	2.75±0.28 ****	2.77±0.55 ****	0.99±0.17 ..	0.94±0.67 ..	0.93±0.33 ..	0.80±0.34 ..	0.97±0.18 ..	0.93±0.24 ..	0.82±0.08 ..	1.10±0.11 *** ..

· : signification par rapport témoins diabétiques, * : signification par rapport aux rats normaux traités par le même extrait.

Tableau 26 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats normaux traités par les différents extraits des graines de *Citrullus colocynthis* durant 9 semaines par rapport aux rats normaux témoins (S0 : STZ, S3: 1^{ère} injection IP des extraits, S5: 2^{ème} injection IP des extraits).

Extraits	n	Glycémie (g/l) ± SEM										
		S0	S2	S3	S3+3	S4	S5	S5+3	S6	S7	S8	S9
NaCl 0.9% (Témoins)	04	0.85±0.06	0.80±0.07	0.62±0.10	0.78±0.10	0.72±0.09	0.76±0.12	0.87±0.06	0.78±0.06	0.73±0.10	0.68±0.05	0.68±0.06
Alcaloïdes totaux	04	0.71±0.21	0.75±0.05	0.62±0.05	0.75±0.15	0.72±0.16	0.55±0.08 *	0.69±0.06 **	0.70±0.14	0.81±0.12	0.67±0.06	0.70±0.09
Glycosides chloroformique	04	0.86±0.13	0.86±0.10	0.77±0.08 *	0.87±0.11	0.78±0.12	0.80±0.06		0.95±0.14	0.66±0.10	0.86±0.09 *	
Glycosides éthanolique	04	0.81±0.20	0.71±0.11	0.61±0.07	0.75±0.15	0.70±0.10	0.77±0.15	0.69±0.09	0.74±0.09	0.75±0.16	0.80±0.09	0.65±0.09

*: signification par rapport témoins normaux.

2.2. Evolution de la cholestérolémie

Chez les rats témoins normaux, nous n'avons pas noté des différences significatives de la cholestérolémie au cours de l'expérimentation.

Part contre, chez les rats témoins diabétiques, nous avons constaté une augmentation significative ($p < 0.001$) de la cholestérolémie à partir de la 5^{ème} semaine par rapport aux rats témoins normaux.

2.2.1. Effet des alcaloïdes totaux sur la cholestérolémie

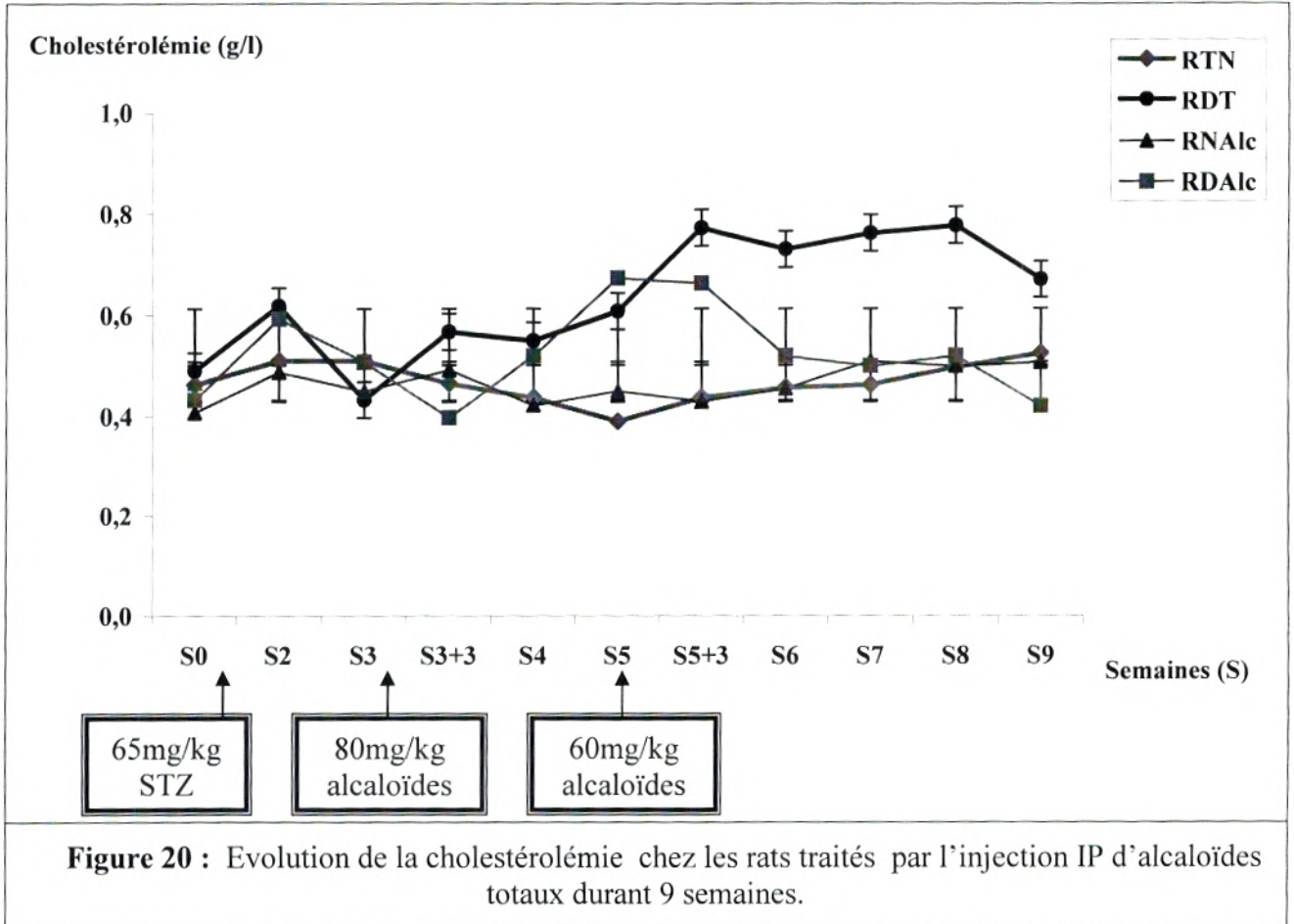
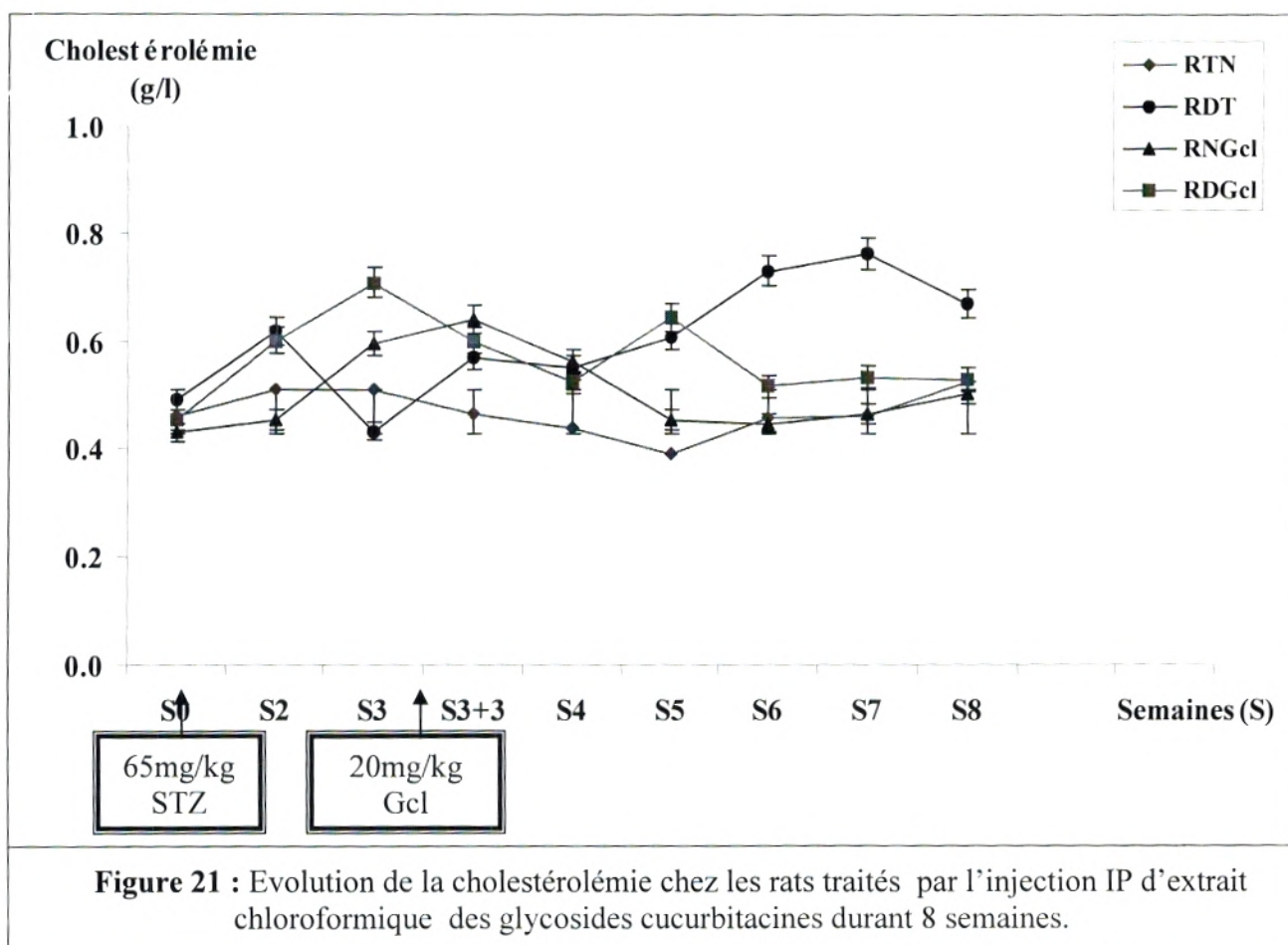


Figure 20 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'injection IP d'alcaloïdes totaux durant 9 semaines.

Chez les rats diabétiques traités par les alcaloïdes totaux, il a été noté une diminution significative de la cholestérolémie par rapport aux témoins diabétiques après l'injection par voie intra-péritonéale de 80 mg/kg d'alcaloïdes totaux à la 3^{ème} semaine et 60mg/kg à la 5^{ème} semaine (Fig. 20).

Par contre, il n'a été noté aucune différence significative de la cholestérolémie des rats normaux traités par les alcaloïdes totaux par rapport aux rats témoins normaux (Fig. 20).

2.2.2. Effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sur la cholestérolémie

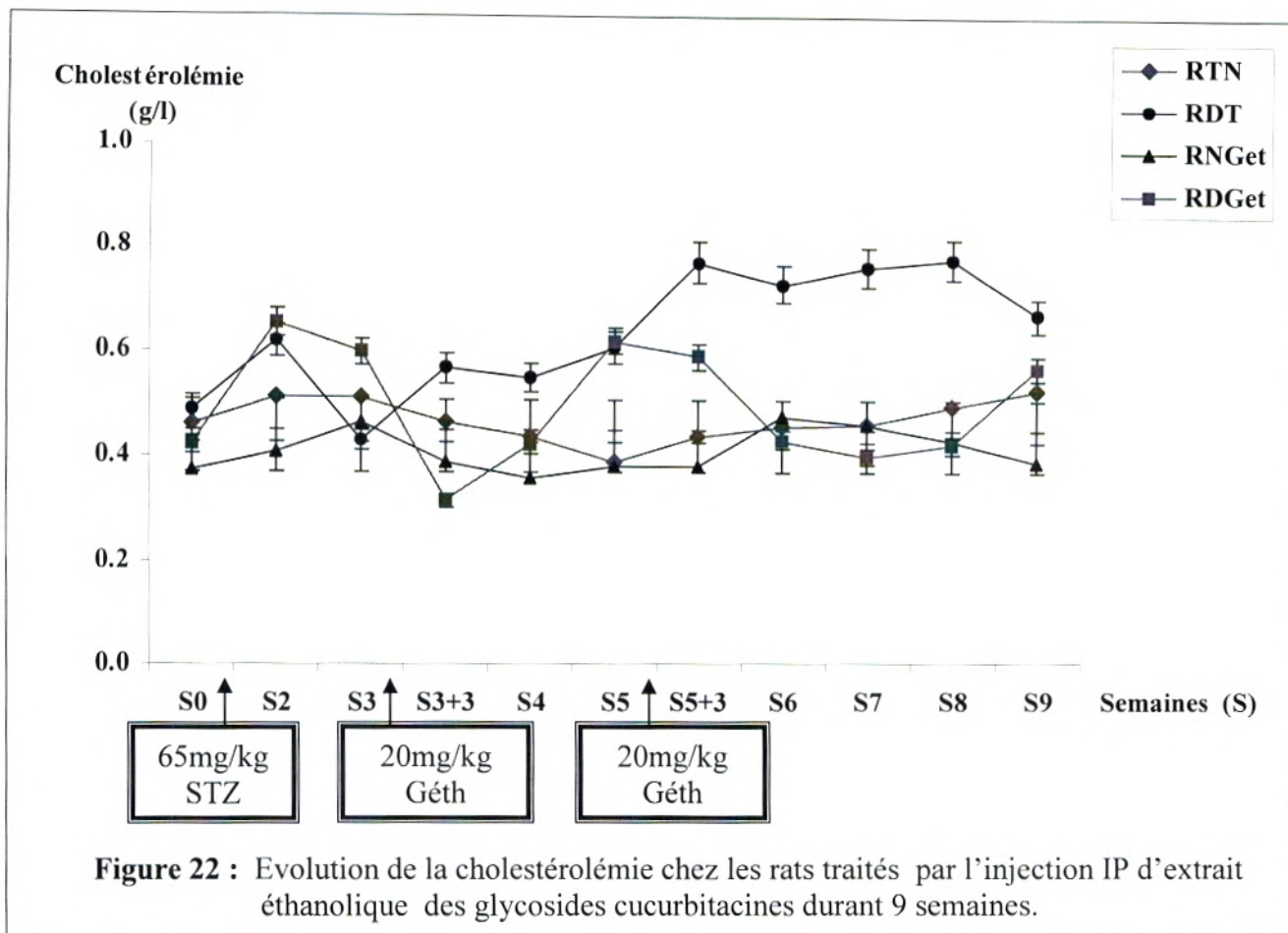


G cl : l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines

Chez les rats diabétiques traités par l'injection intra-péritonéale de 20 mg/kg de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines, il n'a pas été noté de correction significative de l'hypercholestérolémie par rapport aux témoins diabétiques (**Fig. 21**).

Pour les rats normaux traités par l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines, il a été observé une augmentation significative de la cholestérolémie 3 jours après l'injection intra-péritonéale de 20 mg/kg par rapport aux rats témoins normaux. le taux de cholestérol revient à la normale une semaine après (**Fig. 21**).

2.2.3. Effet d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines sur la cholestérolémie



G eth : l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines

Chez les rats diabétiques traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines, il a été noté une diminution significative de la cholestérolémie par rapport aux témoins diabétiques après l'injection intra-péritonéale de 20 mg/kg à la 3^{ème} semaine et à la 5^{ème} semaine (Fig. 22).

Par contre, il n'a été noté aucune différence significative de la cholestérolémie des rats normaux traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines par rapport aux rats témoins normaux (Fig. 22).

2.2.4. Comparaison entre l'action des trois extraits

Les alcaloïdes totaux et l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines semblent mieux corriger l'hypercholestérolémie chez les rats diabétiques par rapport à l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines.

2.3. Evolution du poids corporel

Les résultats relatifs à l'évolution du poids corporel des animaux traités et témoins sont indiqués dans les figures

Il a été observé une croissance pondérale lente et régulière chez rats témoins normaux (de 333.9g à S0 jusqu'aux 345.45g à la 9^{ème} semaine). Par contre, les rats témoins diabétiques subissent une diminution du poids corporel de 7.8% après 2 semaines de l'injection de la STZ atteignent à une diminution de 50.47% à la 5^{ème} semaine. Cette chute de poids corporel serait attribuée à l'effet de l'installation du diabète (Fig. 23).

2.3.1. Effet des alcaloïdes totaux sur le poids corporel

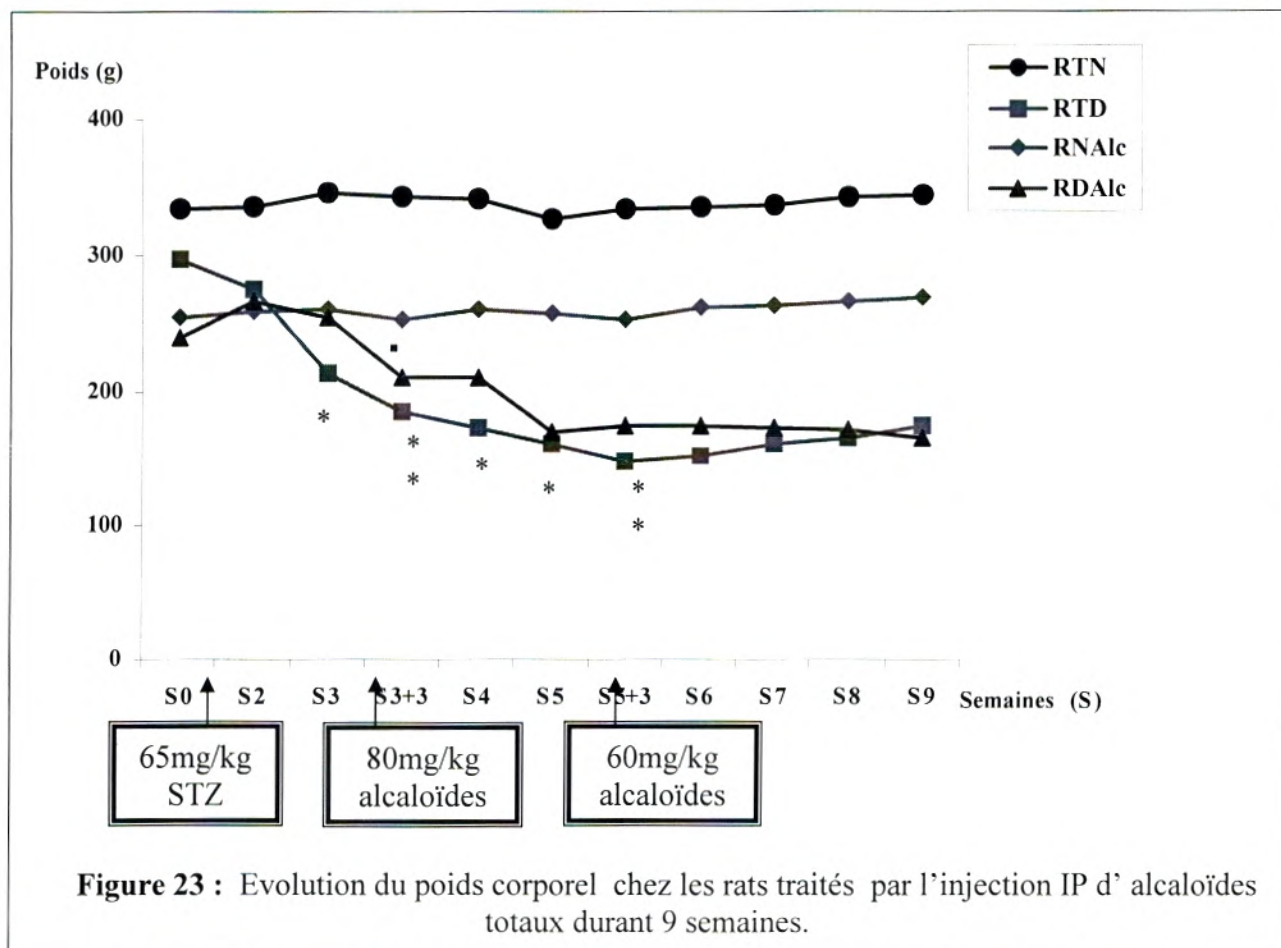


Figure 23 : Evolution du poids corporel chez les rats traités par l'injection IP d'alcaloïdes totaux durant 9 semaines.

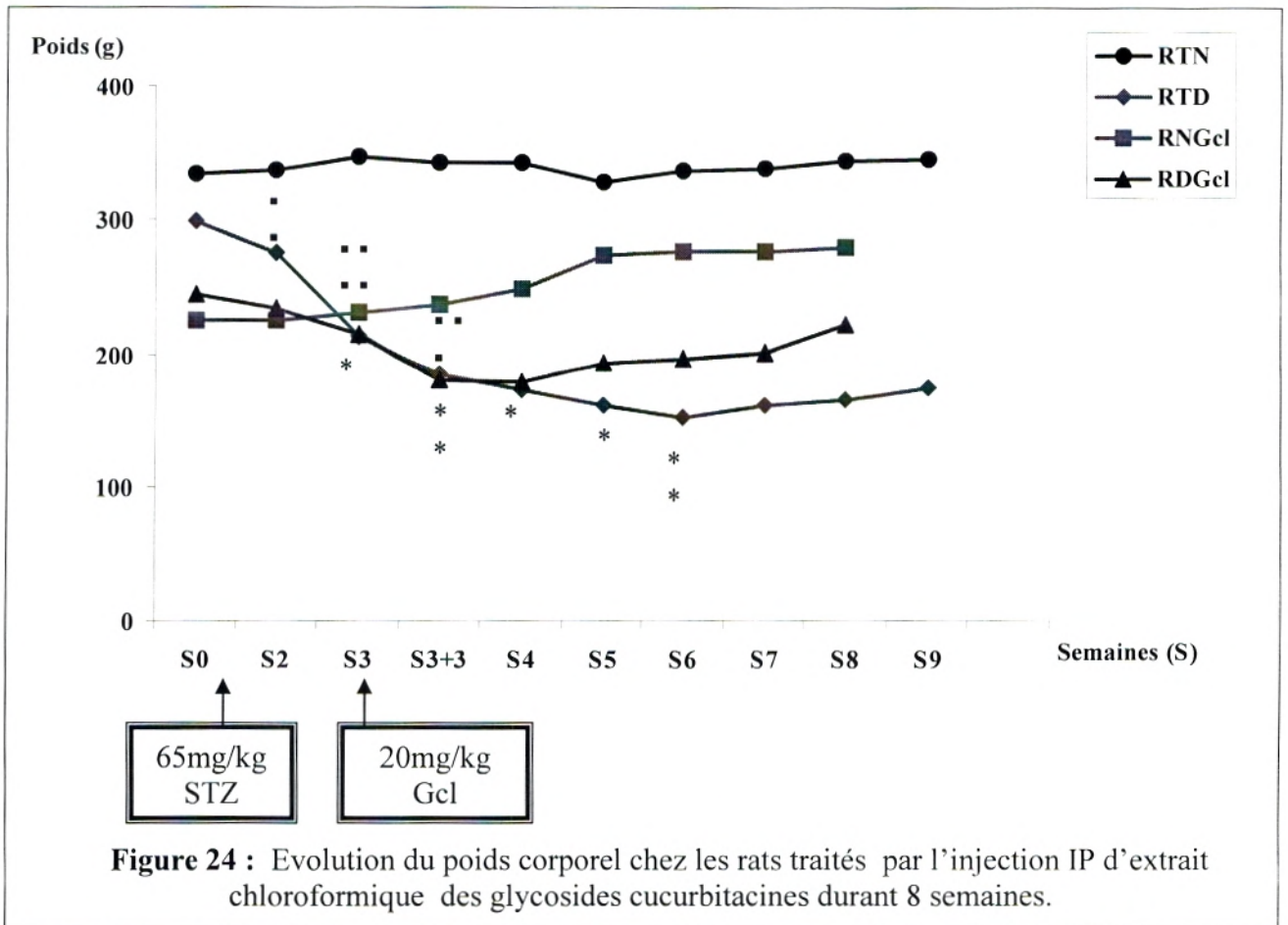
* : degré de signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats témoins

■ : degré de signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats traités par les alcaloïdes

Trois jours après l'injection de 80 mg/kg d'alcaloïdes totaux par voie intra péritonéale, il a été noté une diminution peu significative du poids corporel des rats diabétiques atteignant 29.22% à la 5^{ème} semaine. après la deuxième injection de 60mg/kg d'alcaloïdes totaux, il a été constaté une légère augmentation du poids corporel des rats.

De même, il a été observé que après chaque injection d'alcaloïdes (S3+3 et S5+3) une légère diminution du poids corporel chez les rats normaux. (Fig. 23).

2.3.2. Effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sur le poids corporel



G cl : l' extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines

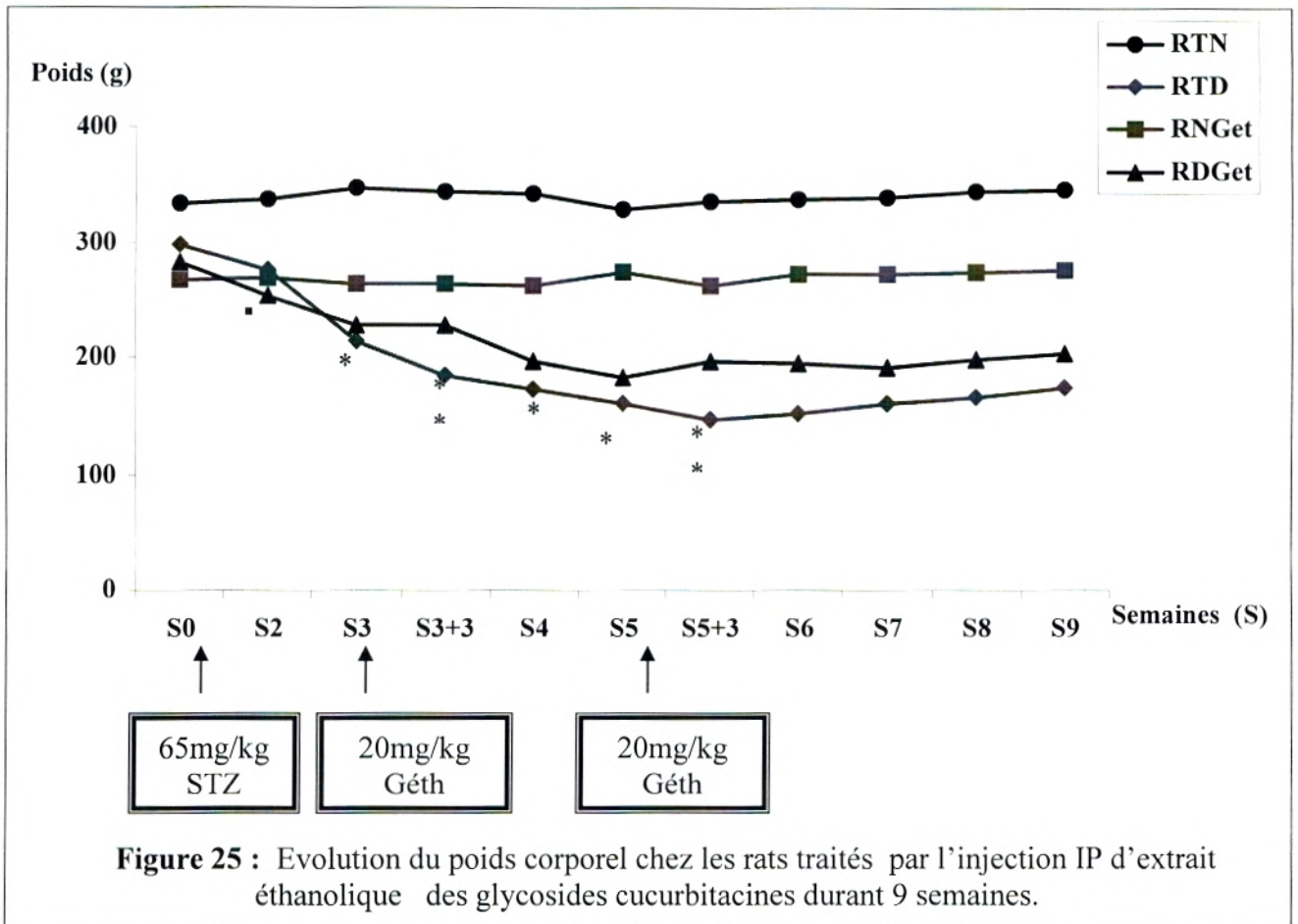
* : signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats témoins

▪ : signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats traités par les glycosides

L'injection de 65mg/kg de STZ a provoqué une diminution très significative ($p < 0.001$) de l'ordre de **26.12%** à S3+3. Après la première injection de 20mg/kg d'extrait chloroformique des glycosides par voie intra-péritonéale aux rats diabétiques une légère reprise du poids a été observée.

Alors que, l'injection de la même dose pour les rats normaux a donné une augmentation régulière et stable du poids corporel (**Fig. 24**).

2.3.3. Effet d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines sur le poids corporel



G eth : l' extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines

* : signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats témoins

▪ : signification d'une semaine par rapport à l'autre pour les rats traités par les glycosides

L'injection de 65mg/kg de STZ a provoqué une diminution peu significative du poids corporel des rats diabétiques. Cette diminution est corrigée après la deuxième injection de 20mg/kg d'extrait éthanolique des glycosides par voie intra-péritonéale aux rats diabétiques.

Pour les rats normaux traités par les mêmes doses, il a été noté une augmentation régulière et stable du poids corporel (**Fig. 25**).

2.3.4. Comparaison entre l'action des trois extraits sur le poids corporel

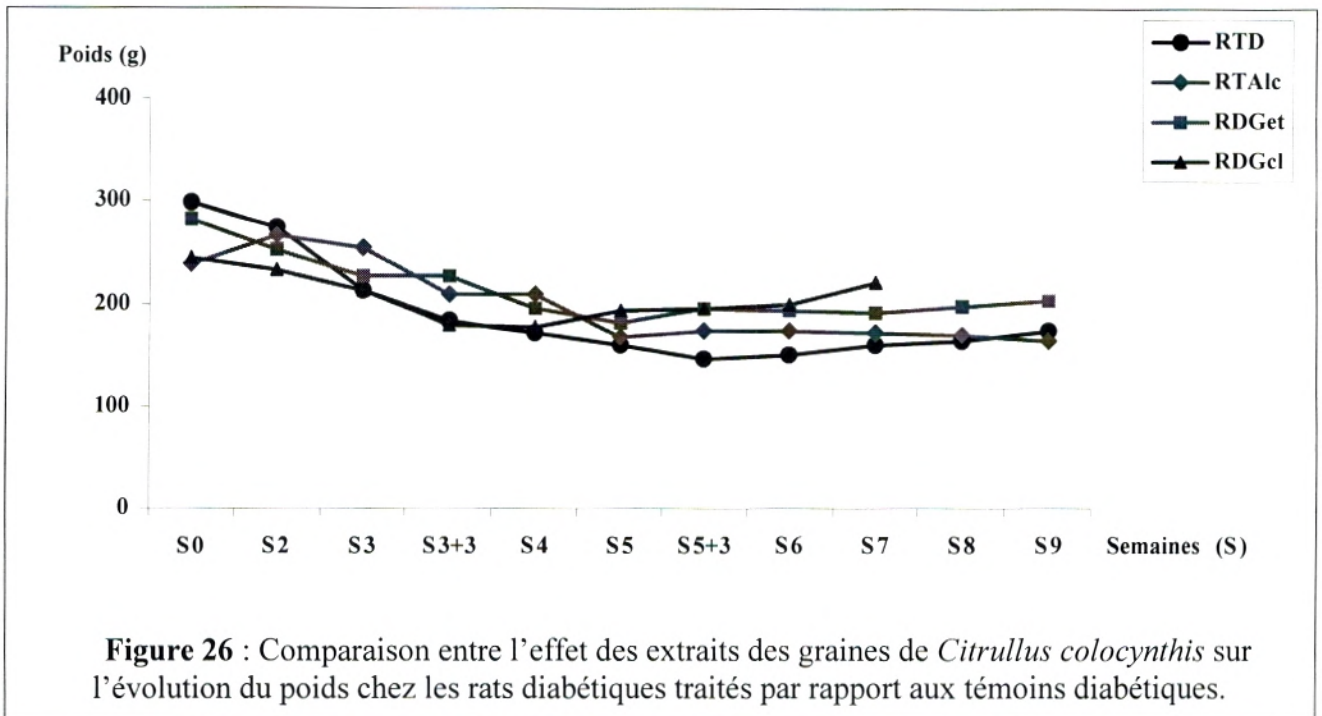


Figure 26 : Comparaison entre l'effet des extraits des graines de *Citrullus colocynthis* sur l'évolution du poids chez les rats diabétiques traités par rapport aux témoins diabétiques.

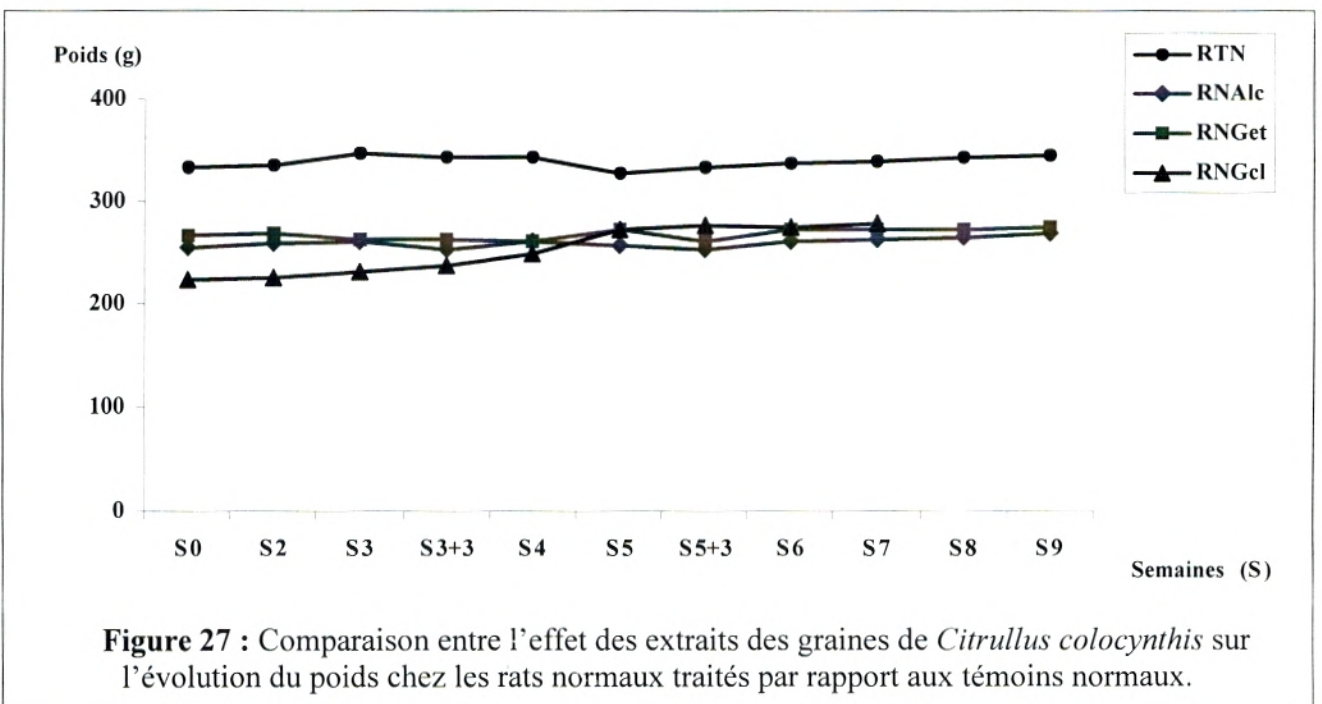


Figure 27 : Comparaison entre l'effet des extraits des graines de *Citrullus colocynthis* sur l'évolution du poids chez les rats normaux traités par rapport aux témoins normaux.

Il est bien clair que l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines corrige mieux la diminution du poids chez les rats diabétiques et maintient la croissance régulière et stable des rats normaux par rapport aux extraits éthanoliques des glycosides cucurbitacines et aux alcaloïdes totaux.

3. Test de hyperglycémie provoquée par voie orale

L'hyperglycémie provoquée par voie orale est réalisée par un gavage d'une solution de glucose (2.5g/kg p.c) 30min après une injection intra-péritonéale des extraits des graines de *Citrullus colocynthis*. (extrait d'alcaloïdes totaux, extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines et l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines).

Les animaux témoins reçoivent du sérum physiologique au lieu de l'extrait, et les témoins positifs reçoivent du Glibenclamide à 5mg/kg.

L'évolution de la glycémie est suivie à 0,30, 60, 120 et 240 min.

3.1. Les rats témoins

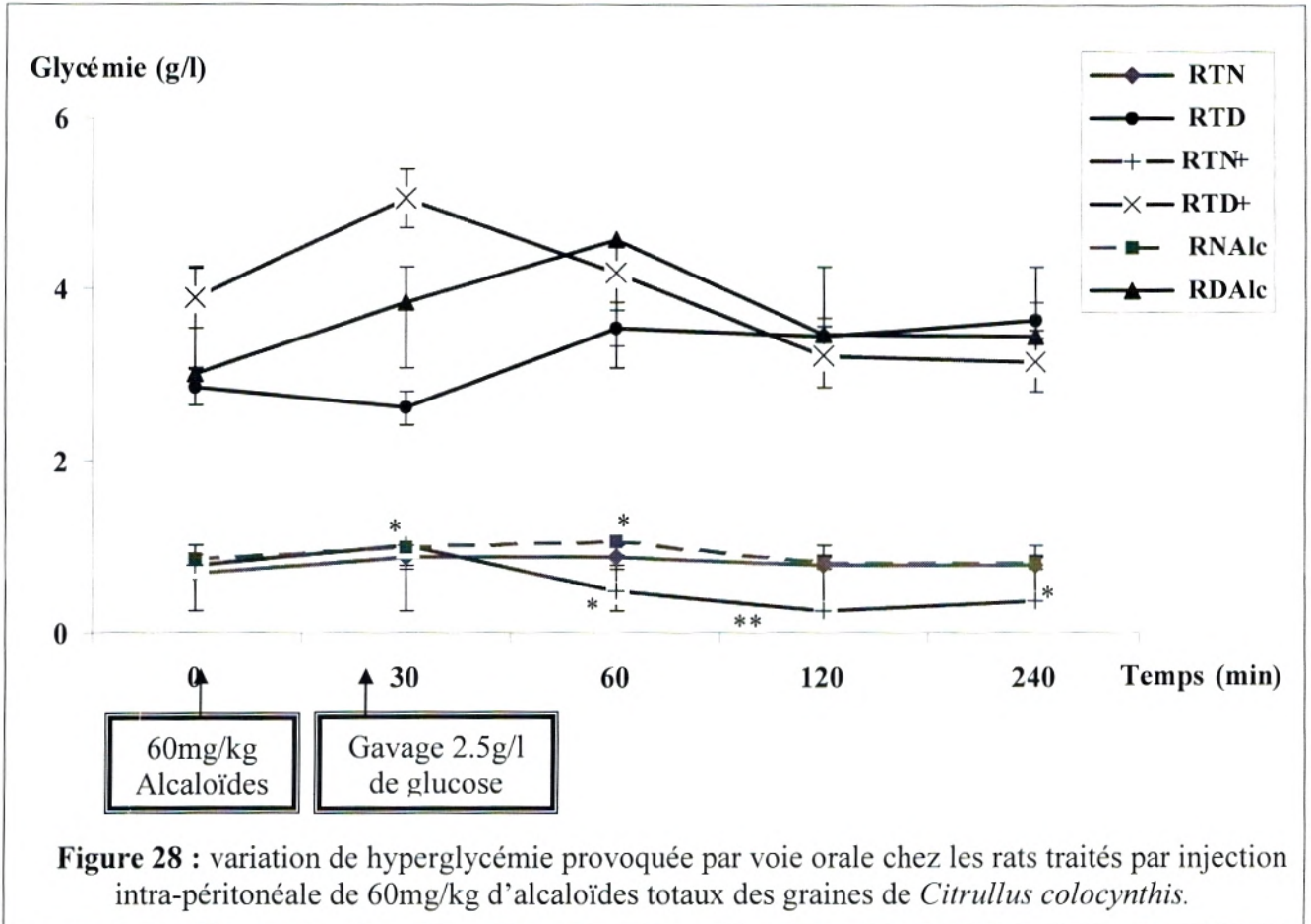
Les résultats obtenus montrent que chez les rats témoins diabétiques, un pic d'hyperglycémie de 25% apparaît 30min après le gavage du glucose. Ce taux de glucose sanguin se maintient ensuite jusqu'à la 4^{ème} heure (**Fig. 28**).

Tandis que chez les témoins normaux, le pic d'hyperglycémie apparaît dès 30min, se maintient jusqu'à 60min, puis diminue en se stabilisant ensuite jusqu'à la 4^{ème} heure sans pour autant atteindre sa valeur initiale (**Fig. 28**).

Chez les rats témoins diabétiques traités au Glibenclamide, l'hyperglycémie augmente davantage juste après le gavage du glucose (+30% par rapport à la valeur initiale T_0). Elle commence à décroître progressivement pour se stabiliser, au bout de la 2^{ème} heure, à une valeur inférieure à sa valeur initiale (-18% environ) (**Fig. 28**).

Chez les témoins positifs (Glibenclamide), les rats normaux montrent un pic d'hyperglycémie juste après le gavage du glucose, puis diminue fortement après 30 min à -40% environ (à 60min), puis -68% et -54% à 120min et 240 min respectivement (**Fig. 28**).

3.2. les rats traités aux alcaloïdes totaux



* : signification par rapport aux temps 0min

Chez les rats diabétiques traités avec 60mg/kg p.c d'alcaloïdes suivis de gavage d'une solution du glucose ; l'hyperglycémie augmente fortement après 60min (plus de 50%) par rapport à son taux initial (3 g/l), puis commence à diminuer au bout de la 2^{ème} heure, pour se stabiliser à un taux supérieur à sa valeur initiale (3.45g/l) (**Fig. 28**).

Comparativement aux rats normaux traités par les alcaloïdes, chez qui l'hyperglycémie provoquée est réduite après 60min, à un taux légèrement inférieur au taux initial. Alors que chez le témoin normal ayant reçu du sérum physiologique au lieu des alcaloïdes, la réduction de l'hyperglycémie est plus lente et moins importante (**Fig. 28**).

3.3. les rats traités aux glycosides cucurbitacines

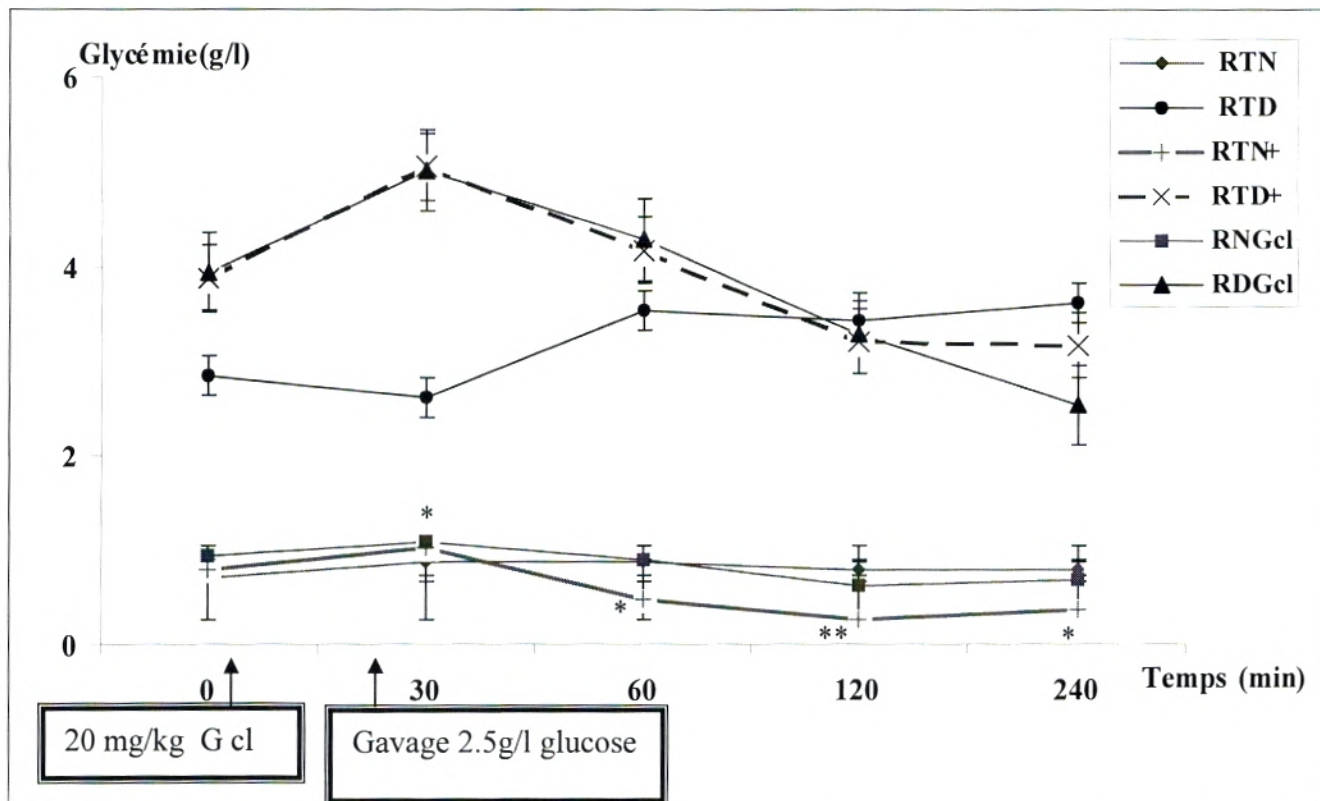


Figure 29 : Variation de hyperglycémie provoquée par voie orale chez les rats traités par l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacine des graines de *Citrullus colocynthis*.

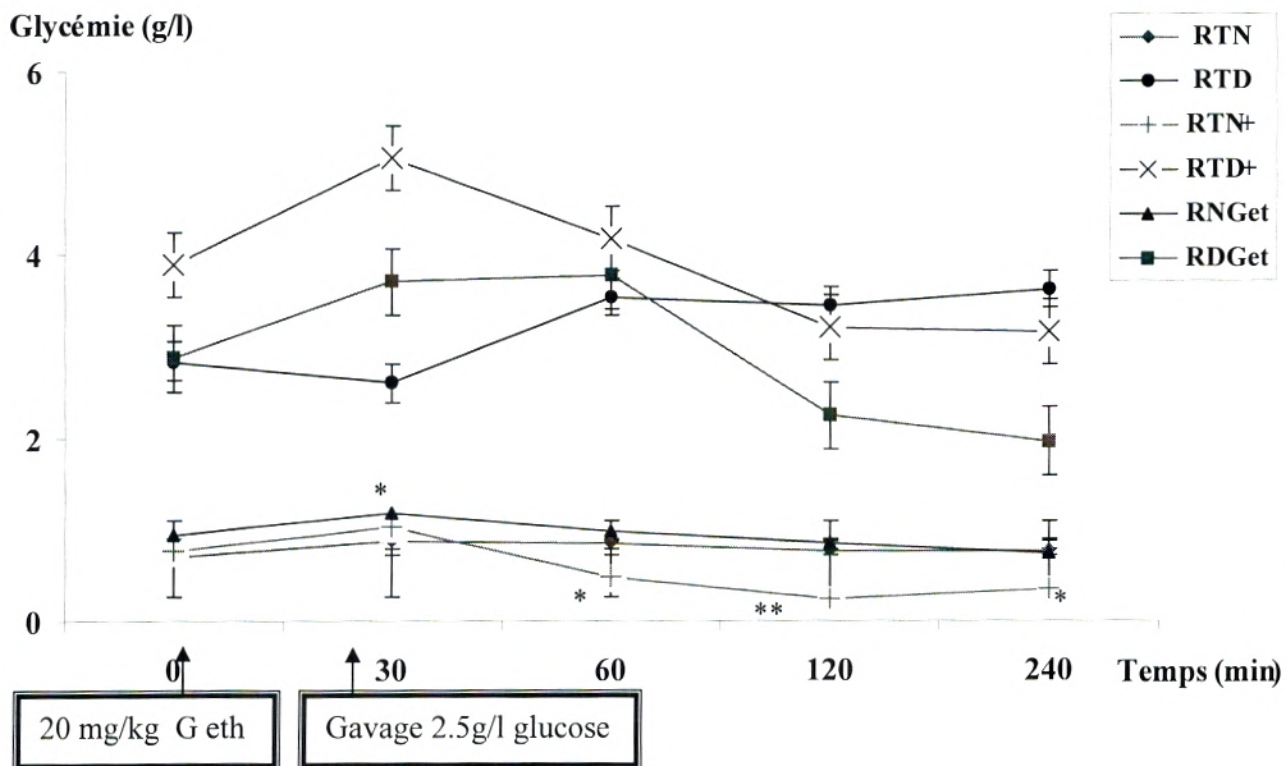


Figure 30 : Variation de hyperglycémie provoquée par voie orale chez les rats traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacine des graines de *Citrullus colocynthis*.

* : signification par rapport aux temps 0min

les rats diabétiques traités aux glycosides cucurbitacines (20mg/kg) suivis de gavage d'une solution de glucose, montrent un pic d'hyperglycémie dès 30min. Toutefois, cette hyperglycémie commence à diminuer dès la première heure dans le cas des rats diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines extrait chloroformique (**Fig. 29**) et dès la deuxième heure dans le cas des rats diabétiques traités à l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines (**Fig. 30**). Le taux de glycémie diminue nettement pour atteindre un taux inférieur au taux initial avec une réduction dépassant 30%.

Le profil d'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités aux extraits des glycosides cucurbitacines semble être comparable au profil des rats traités au Glibenclamide, c'est à dire, s'oppose à l'apparition d'un pic d'hyperglycémie et provoque une réduction importante de l'hyperglycémie après la première heure.

Chez les rats normaux, les extraits des glycosides cucurbitacines n'influence pas beaucoup sur la glycémie contrairement aux glibenclamide qui ont une action sur la sécrétion de l'insuline par le pancréas.

3.4. Comparaison entre l'action des trois extraits

Tableau 27 : Comparaison entre l'effet des trois extraits des graines de la *Citrullus colocynthis* sur la variation de la glycémie provoquée par voie orale chez les rats normaux.

Extraits injectés par voie intrapéritonéale	n	Glycémie basale 0min (g/l)	pourcentage de variation de la glycémie(%) ± SEM			
			30min	60min	120min	240min
NaCl 0.9% (Témoins)	04	0.70±0.12	+26±0.12	+25±0.04*	+12±0.08	+12±0.18
Glibenclamide 5mg/kg (Témoins +)	04	0.78±0.19	+30.7±0.04 *	-39±0.05 *	-68.3±0.06 **	-54.2±0.17 *
Alcaloïdes 60mg/kg	04	0.85±0.14	+16.5±0.11	+25.1±0.06 *	-5.3±0.03	-5±0.08
Glycosides extrait chloroformique 20mg/kg	04	0.94±0.15	+16.3±0.16**	-6.1±0.12	-33.6±0.18	-27.5±0.32
Glycosides extrait éthanolique 20mg/kg	04	0.94±0.03	+25.5±0.12	+5.8±0.10	-8.8±0.10	-19.6±0.12

* : signification par rapport aux temps 0min

مكتبة كلية العلوم
ملحقة البيولوجيا

Tableau 28 : Comparaison entre l'effet des trois extraits des graines de la *Citrullus colocynthis* sur la variation de la glycémie provoquée par voie orale chez les rats diabétiques.

Extraits injectés par voie intrara- péritonéale	n	Glycémie basale (T ₀) (g/l)	pourcentage de variation de la glycémie (%) ± SEM			
			30min	60min	120min	240min
NaCl 0.9% (Témoins)	04	2.84 ± 0.77	-8 ± 0.12	+25 ± 0.26	+21 ± 0.35	+28 ± 0.29
Glibenclamide 5mg/kg (Témoins +)	04	3.89 ± 1.00	+30.1 ± 0.77	+7.5 ± 0.92	-17.5 ± 0.89	-18.7 ± 1.16
Alcaloïdes 60mg/kg	04	3.00 ± 1.14	+28 ± 1.32	+52.6 ± 0.93	+15.8 ± 1.44	+15 ± 1.45
Glycosides : extrait chloroformique 20mg/kg	04	3.95 ± 0.73	+27.4 ± 0.73	+8.8 ± 0.91	-16.6 ± 0.65	-36.2 ± 1.11
Glycosides : extrait éthanolique 20mg/kg	04	2.87 ± 0.36	+29.2 ± 1.06	+31.4 ± 0.85	-21.3 ± 1.18	-31.1 ± 1.39

L'analyse des résultats du test de l'hyperglycémie provoquée par voie orale, nous a permis de constater l'effet anti- hyperglycémiant de l'extrait chloroformique et éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis* et, d'un degré moindre, les alcaloïdes totaux sur la correction de l'hyperglycémie chez les rats diabétiques et normaux traités par ces extraits par rapport aux témoins (tableaux 27 et n°28).

4. Captation du glucose par les adipocytes isolés

Cette étude est réalisée, *in vitro*, sur des adipocytes isolées à partir de rat mâle.

L'observation des adipocytes en présence d'un colorant tel que le bleu de trypan 0.1% nous a permis de noter que plus de 90% des cellules sont vivantes.

La numération cellulaire des adipocytes vivantes sur une cellule de Malassez nous a donné $1.2 \cdot 10^6$ cellule/ml/g de tissus adipeux.

L'effet de la captation ou consommation du glucose par les adipocytes isolés a été évalué en absence ou en présence d'insuline (témoins positif) et d'extrait d'alcaloïdes ou d'extrait de glycosides cucurbitacines à des concentrations variables.

4.1. Consommation basale du glucose

Les figures 31 et 32 présentent la concentration de glucose restant dans le milieu d'incubation (KRBA 4% avec 2.5 mM : état physiologique normal ou 9mM du glucose : état d'hyperglycémie), en absence et en présence des adipocytes incubées pendant 1heure. Ces essais nous ont permis de vérifier le bon état métabolique de nos cellules isolées.

Les résultats obtenus montrent une diminution très significative du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des adipocytes par rapport au témoin (milieu d'incubation avec 2.5mM ou 9mM glucose en absence des adipocytes), ce qui montre que les adipocytes ont une consommation basale du glucose relativement importante, qui peut se faire en absence d'insuline de

l'ordre de 9%, soit 0.04 g/l du glucose dans le cas du milieu d'incubation avec 2.5mM du glucose et de l'ordre de 11% soit 0.18g/l dans le cas du milieu d'incubation avec 9mM du glucose.

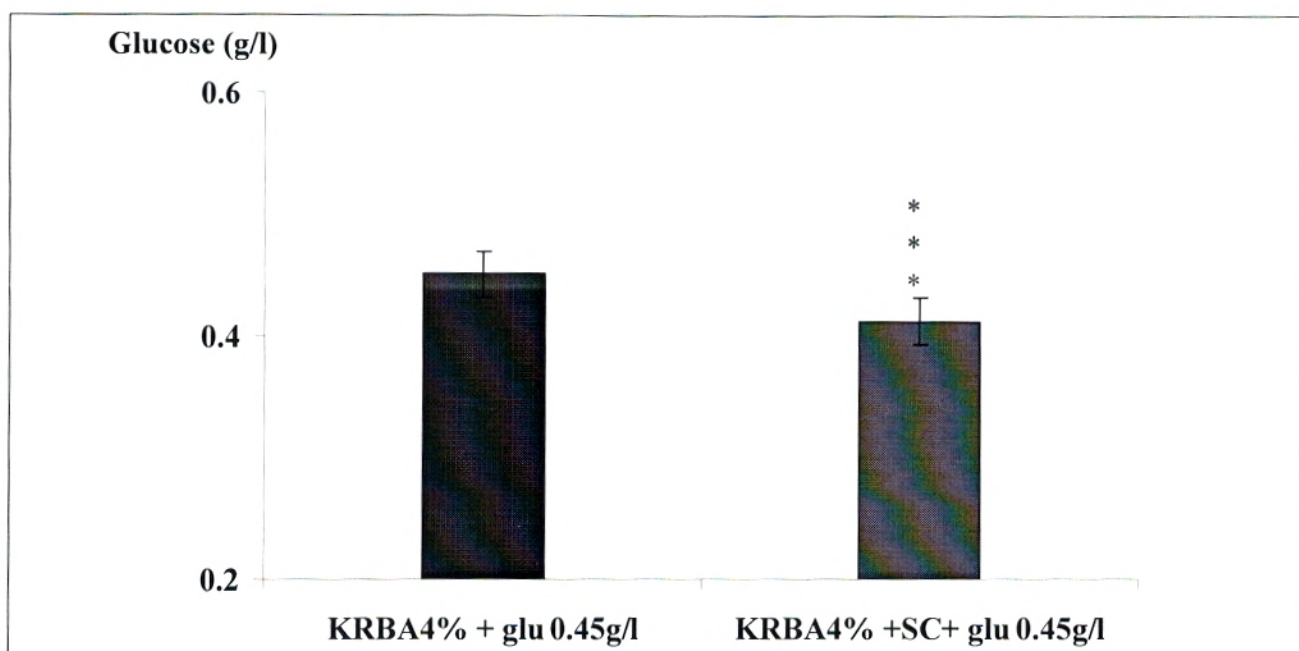


Figure 31 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 0.45g/l du glucose en absence et en présence des adipocytes

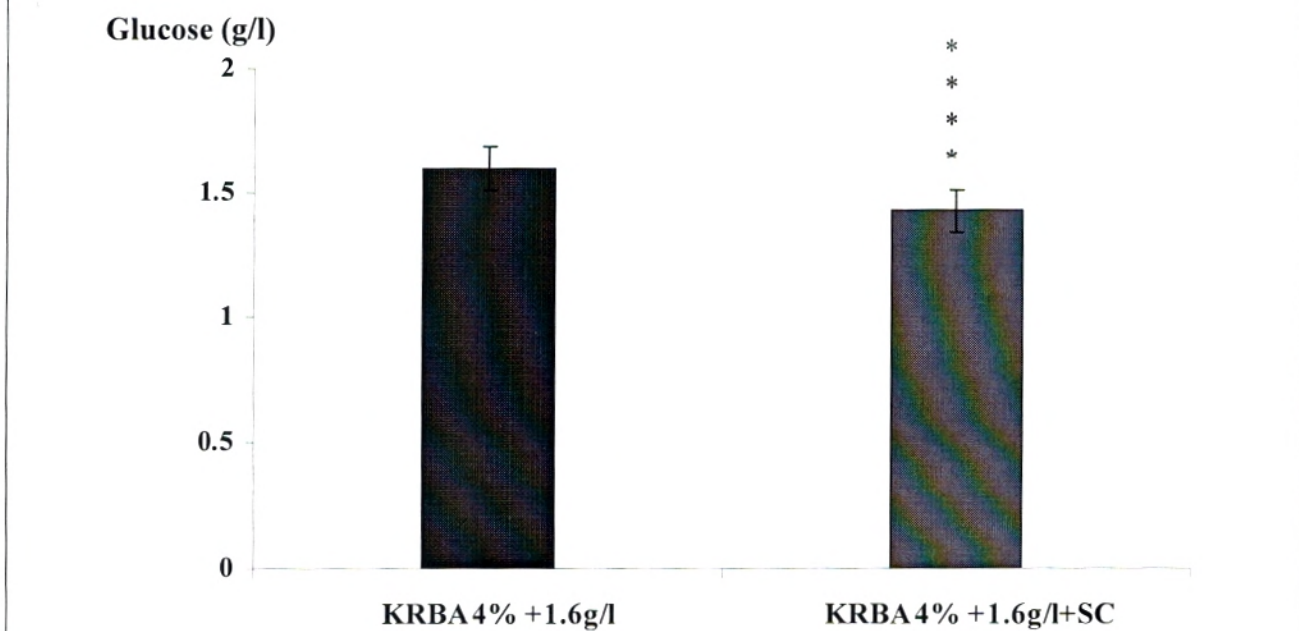


Figure 32 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1.6g/l du glucose en absence et en présence des adipocytes

SC: suspension cellulaire.

4.2. Effet d'insuline sur la captation du glucose par les adipocytes

Tableau 29 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'insulines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l

[Insuline μ UI/ml]	KRBA 4%+SC+ glu 0.45 g/l (2.5mM) (1)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] \pm SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
10	0.41	0.38 \pm 0.03	0.03	7.30
100	0.41	0.36 \pm 0.01****	0.05	12.20
500	0.41	0.34 \pm 0.01****	0.07	17.10
1000	0.41	0.35 \pm 0.01****	0.06	14.60

*: degré de signification par rapport (1), SC: suspension cellulaire.

Tableau 30 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'insulines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l

[Insuline μ UI/ml]	KRBA 4%+SC+ glu 1.6 g/l (9mM) (2)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] \pm SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
10	1.42	1.36 \pm 0.02 ***	0.06	4.22
100	1.42	1.32 \pm 0.03****	0.1	7.04
500	1.42	1.30 \pm 0.02****	0.12	8.45
1000	1.42	1.26 \pm 0.01****	0.16	11.26

*: degré de signification par rapport (2), SC: suspension cellulaire.

En présence d'insuline, il a été remarqué que la consommation du glucose restant augmente proportionnellement à la concentration d'insuline dans le milieu d'incubation de 10 à 1000 μ UI/ml. Ce qui confirme qu l'insuline active la pénétration du glucose dans les adipocytes. Cette augmentation est hautement significative ($p < 0.0001$) à la concentration 500 et 1000 μ UI/ml soit 17.32 et 34.65ng/ml avec un taux de captation de **17.1 et 14.6%** respectivement par rapport au milieu contenant des adipocytes incubés durant 1h avec 0.45g/l du glucose en absence d'insuline et un taux de captation de **8.4 et 11.26%** respectivement par rapport au milieu contenant des adipocytes incubés durant 1h avec 1.6 g/l du glucose (état d'hyperglycémie) en absence d'insuline (tableaux 29 et 30).

4.3. Effet d'alcaloïdes totaux sur la captation du glucose par les adipocytes

Tableau 31 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes totaux dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l

[Alcaloïdes $\mu\text{g/ml}$]	KRBA 4%+SC+ glu 0.45 g/l (2.5mM) (1)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] \pm SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
25	0.41	0.38 \pm 0.02 *	0.03	7.30
50	0.41	0.37 \pm 0.01****	0.04	9.70
75	0.41	0.36 \pm 0.01****	0.05	12.20
100	0.41	0.32 \pm 0.01****	0.09	21.95

*: degré de signification par rapport (1), SC: suspension cellulaire.

Tableau 32: Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes totaux dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l

[Alcaloïdes $\mu\text{g/ml}$]	KRBA4%+SC+ glu 1.6 g/l (9mM) (2)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] \pm SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
50	1.42	1.34 \pm 0.01****	0.08	5.60
75	1.42	1.26 \pm 0.02****	0.16	11.26
100	1.42	1.21 \pm 0.01****	0.21	14.78

*: degré de signification par rapport (2), SC: suspension cellulaire.

Les tableaux 31 et 32 représentent les résultats obtenus en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes totaux dans un milieu d'incubation KRBA4% avec 2.5mM (ou 9mM) du glucose. Les résultats montrent que la captation du glucose dans les adipocytes augmente proportionnellement à la concentration des alcaloïdes totaux. Elle est très faible à la concentration 50 $\mu\text{g/ml}$ (taux de 9.7% dans le milieu d'incubation avec 0.45g/l du glucose et 5.6% dans le milieu d'incubation avec 1.6g/l du glucose) et augmente de manière hautement significative à 100 $\mu\text{g/ml}$ avec un taux de 22% dans le milieu d'incubation avec 0.45g/l du glucose et 14.8% dans le milieu d'incubation avec 1.6g/l du glucose par rapport aux témoins (adipocytes incubés dans du KRBA 4% avec 0.45g/l ou 1.6 g/l du glucose en absence d'extrait).

4.4. Effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines sur la captation du glucose par les adipocytes

Tableau 33: Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 0.45g/l

[glycosides µg/ml]	KRBA 4%+SC+ glu 0.45 g/l (2.5mM) (1)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] ± SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
25	0.41	0.4 ± 0.02	0.01	2.40
50	0.41	0.38 ± 0.02*	0.03	7.30
75	0.41	0.36 ± 0.02***	0.05	12.20
100	0.41	0.33 ± 0.02****	0.08	19.51

*: degré de signification par rapport (1), SC: suspension cellulaire.

Tableau 34 : Captation du glucose au niveau des cellules adipeuses en présence des différentes concentrations d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + glu 1.6g/l

[Alcaloïdes µg/ml]	KRBA4%+SC+ glu 1.6 g/l (9mM) (2)	[glucose restant dans le milieu après incubation g/l] ± SEM	[glucose capté par les adipocytes g/l]	Taux du glucose captés par les adipocytes (%)
50	1.42	1.36 ± 0.04**	0.06	4.22
75	1.42	1.32 ± 0.05***	0.10	7.04
100	1.42	1.29 ± 0.05****	0.13	9.15

*: degré de signification par rapport (2), SC: suspension cellulaire.

Les résultats obtenus présentés dans les **tableaux 33 et 34**, montrent que l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines à différentes concentrations provoquent une diminution de la concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation et donc l'augmentation de la captation du glucose par les adipocytes. Cette captation augmente proportionnellement avec les concentrations des glycosides, elle est significative à 50µg/ml avec un taux de captation de **7.3** et **4.22%** dans le milieu d'incubation avec 0.45g/l et 1.6g/l du glucose respectivement et hautement significative à 100µg/ml avec un taux de captation d'ordre de **19.5** et **9.15%**, dans le milieu d'incubation avec 0.45g/l et 1.6g/l du glucose respectivement, par rapport aux témoins (adipocytes incubés dans du KRBA4% avec 0.45g/l ou 1.6g/l du glucose en absence d'extrait).

4.5. Comparaison entre l'effet d'alcaloïdes totaux et l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines par rapport à l'effet d'insuline

Tableau 35 : Taux de glucose (en pourcentage) capté par les adipocytes isolés incubés durant 1h dans un milieu contenant 0.45g/l en présence de différentes concentrations d'insuline, d'alcaloïdes et des glycosides par rapport au témoin (adipocytes incubés avec 0.45g/l du glucose en absence d'extraits).

Les doses	KRBA4% +SC+2.5mM glucose (1)	Insuline (µUI/ml)				Alcaloïdes (µg/ml)				Glycosides (µg/ml)			
		10	100	500	100	25	50	75	100	25	50	75	100
Taux glucose (%)	0.41g/l	7.3	12.2 ****	17.1 ****	14.6 ****	7.3 *	9.7 ****	12.2 ****	22.0 ****	2.4	7.3 *	12.2 ***	19.5 ****

SC: suspension cellulaire.

*signification des résultats par rapport aux (1).

Tableau 36 : Taux de glucose (en pourcentage) capté par les adipocytes isolés incubés durant 1h dans un milieu contenant 1.6g/l en présence de différentes concentrations d'insuline, d'alcaloïdes et des glycosides par rapport au témoin (adipocytes incubés avec 1.6g/l du glucose en absence d'extraits).

Les doses	KRBA4% +SC+9mM glucose (2)	Insuline (µUI/ml)				Alcaloïdes (µg/ml)			Glycosides (µg/ml)		
		10	100	500	100	50	75	100	50	75	100
Taux glucose (%)	1.42 g/l	4.22 ***	7.04 ****	8.45 ****	11.26 ****	5.60 ****	11.26 ****	14.78 ****	4.22 **	7.04 ***	9.19 ****

SC: suspension cellulaire.

*signification des résultats par rapport aux (2).

D'après les résultats obtenus dans les tableaux 35 et 36, il a été constaté que les alcaloïdes totaux et l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines activent la captation du glucose par les adipocytes dans un milieu d'incubation contenant 2.5mM du glucose ou 9mM du glucose (état d'hyperglycémie); Cet effet est comparable à celui de l'insuline.

Il a été noté que l'effet d'alcaloïdes totaux est meilleur des par rapport à l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines. A 100µg/ml ; ils peuvent assurer l'entrée presque 22% et 15% du glucose à du milieu extracellulaire des adipocytes vers le milieu intracellulaire des adipocytes isolés dans un milieu d'incubation de KRBA4% contenant 0.45g/l (2.5mM) ou 1.6g/l (9mM) du glucose, respectivement.

Chapitre III:

Discussion

Discussion

La recherche de l'effet antidiabétique d'extraits d'alcaloïdes et des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), nous a conduit à des résultats montrant un effet anti-hyperglycémiant net. Le taux de réduction de la glycémie chez les rats diabétiques observé est variable en intensité et dans le temps, selon la nature de l'extrait ou le mode d'extraction, sa composition et la concentration relatif de chacun de ses composants. Leur mécanisme d'action en dépendra en conséquence.

En effet, d'après l'analyse chromatographique, l'extrait des alcaloïdes serait composé d'au moins 3 substances. Tandis que les extraits de glycosides cucurbitacines, ont composés respectivement de 7 constituants pour l'extrait chloroformique et 6 constituants pour l'extrait éthanolique.

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

D'après **Darwish-Sayed et al. en 1974**, l'analyse chromatographique par CCM, en présence d'un mélange de solvant contenant n-Butanol, acide acétique et eau (4/1/5), de l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte, récoltées dans la région de Marsa-Matrouh (Egypte), révèle quatre glycosides cucurbitacines (E, B, I, L) seulement ; 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- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine E, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L et 2-O- β -D-glucopyranosyl-(22-27) hexanorcucurbitacine I) à partir d'extrait chloroformique de la partie aérienne et les fruits des la coloquinte broyés et dégraissés récoltés dans la région de Basrah (Sud Iraq) et seulement deux glycosides cucurbitacines (2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- β -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- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I et 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L.

L'injection de 65 mg/kg de streptozotocine (STZ) provoque la destruction sélective partielle des cellules β des îlots de langerhans. Elle induit une réponse tri-phasique : élévation aiguë de la glycémie entre la première et la deuxième heure (en rapport avec une glycogénolyse intense du stress), puis une hypoglycémie profonde de la 7^{ème} à la 10^{ème} heures (libération de l'insuline par les cellules β en voie de lyse), puis diabète sucré durable ; entraînant une hyperglycémie chronique et une altération du métabolisme lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline [Giroud et al., 1988 ; West et al., 1996 ; Szkudelski 2001].

L'hyperglycémie est donc la première conséquence de cette carence hormonale, avec une très forte glycosurie qui indique que la capacité de la réabsorption tubulaire des reins est largement dépassée. On note aussi que le volume des urines est très important (polyurie), avec une soif intense (polydipsie), une polyphagie et une apparition des corps cétoniques dans les urines.

Les rats diabétiques présentent aussi des perturbations lipidiques dues à une élévation significative de la cholestérolémie après cinq semaines de l'injection de STZ par rapport aux rats témoins.

Les mêmes observations ont été rapportées par **Basdevant en 1994** qui a noté que l'anomalie la plus nette du diabète de type 2 est une augmentation du taux de triglycéride plasmatique lié à une augmentation de VLDL et une diminution de HDL-cholestérol. De même il a noté, que la concentration de cholestérol total et de LDL-cholestérol n'est pas augmentée de façon constante. Par ailleurs, **Dunn en 1982**, **Kissebah et Schectman en 1988** ; ont observé, que certaines hypercholestérolémies pures peuvent être en rapport avec le diabète, mais cette éventualité est peu fréquente.

Dans notre étude, les rats témoins diabétiques subissent une diminution du poids corporel de **7.8%** après 2 semaines de l'injection de la STZ et arrivent à une diminution de **50.47%** à la 5^{ème} semaine. Ce qui peut être expliquée par un arrêt de la croissance et une fonte musculaire, conséquences de l'état diabétique. Ces résultats sont confirmés par ceux de :

Mayor et Calle en 1988 qui ont rapporté une perte du poids corporel de 22 %, deux semaines après l'injection de 65 mg/kg de STZ sur des rats Wistar.

Geloën et al., en 1989, ont obtenu une diminution pondérale d'ordre de 23 % après 4 semaines de l'injection de 75 mg/kg de STZ chez des rats Sprague Dawley.

Nagappa et al., en 2003, ont noté une diminution de 27.5% du poids corporel 3 semaines après l'injection de 150 mg/kg d'alloxane par voie intra-péritonéale aux rats Wistar.

Les travaux de **Shirwaikar et al., en 2006**, ont noté une diminution de 17.6% du poids corporel 2 semaines après l'injection intra-péritonéale de 60 mg/kg de STZ.

Les résultats des analyses biologiques *in vivo* (à court et à long terme et même après une hyperglycémie provoquée par voie orale) obtenus dans notre étude montrent bien les effets antihyperglycémiques des extraits d'alcaloïdes totaux et des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis*.

Les résultats des analyses biologiques *in vitro* démontrent la capacité de ces extraits d'exercer un effet comparable à celui de l'insuline sur la captation du glucose au niveau des cellules adipeuses.

Les alcaloïdes totaux

La détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) des alcaloïdes totaux administrée par voie intra-péritonéale chez les rats Wistar nous a permis de confirmer la toxicité relative de cet extrait, qui a été de 800mg/kg, et d'estimer la dose efficace non toxique à injecter aux rats, qui a été 60 mg/kg p.c.

Ces doses sont proches de celles injectées par **Abdel-Hassan et al. (2000)** : 50mg/kg d'alcaloïdes de l'épicarpe de *Citrullus colocynthis* administré aux lapins normaux par voie orale, et celles injectées par **Costantino et al. (2003)** : 50mg/kg et 63.4 mg/kg des différents extraits d'alcaloïdes isolés de *Tecoma stans* administrés par voie orale chez des souris *db/db* et celles de **Marles et Fransworth (1996)** : 100 mg/kg p.c. de leurosine sulfate et vindoline hydrochloride, deux alcaloïdes isolés de *Catharanthus roseus* L., administrés par voie orale.

D'après les différentes analyses biologiques *in vivo* que nous avons réalisé sur les effets antidiabétiques d'extraits d'alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*. Il a été constaté que cet extrait a un effet antihyperglycémiant :

Il provoque une diminution d'hyperglycémie de l'ordre de 49.5%, 4 heures après une injection intra-péritonéale de 80 mg/kg du poids corporel des rats diabétiques. Cette diminution persiste 3 semaines avant le retour de l'état d'hyperglycémie.

Par contre, il n'a pas été noté des changements significatifs de la glycémie entre les rats diabétiques traités par une injection intra-péritonéale de 60mg/kg p.c d'alcaloïdes totaux et les rats témoins diabétiques après une hyperglycémie provoquée par un gavage intra gastrique de 2.5g/kg p.c .

Par ailleurs, il a été noté une diminution peu significative de la glycémie d'ordre 13.6% par rapport à T_0 et une diminution significative par rapport aux rats témoins normaux quatre heures après l'injection de 80mg/kg p.c d'alcaloïdes totaux aux rats normaux.

A long terme, il a été aussi observé que l'injection de l'extrait d'alcaloïdes totaux par voie intra-péritonéale corrige l'hyper-cholestérolémie chez les rats diabétiques. De même, il a été noté après chaque injection d'alcaloïdes totaux une diminution du poids corporel des rats diabétiques. Elle est peut être due au perturbation du métabolisme intermédiaire.

L'effet des alcaloïdes totaux a été testé *in vitro* sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolés des rats Wistar mâle. Les résultats obtenus montrent que la présence de 100µg/ml d'alcaloïdes totaux (effets insulino-like), dans un milieu d'incubation KRBA 4% avec 0.45g/l (ou 1.6g/l) du glucose contenant des adipocytes isolés, augmentent la captation du glucose au niveau des adipocytes, avec un taux de 22% (KRBA4% avec 0.45g/l glucose) et 15% (KRBA4% avec 1.6g/l glucose) par rapport aux témoins (adipocytes incubés dans du KRBA 4% avec 0.45g/l (ou 1.6g/l) du glucose en absence d'extrait). Cet effet est comparable à celui d'insuline (témoins).

L'effet anti-hyperglycémiant des alcaloïdes des différentes plantes antidiabétiques est confirmé dans la littérature, notamment les travaux de :

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

Day et al. (1990), ont isolé des alcaloïdes à partir des fruits de *Momordica charantia* L., famille des cucurbitacée (même famille que la coloquinte), par une extraction en milieu alcalin et du chloroforme, lavé en suite par un acide et du chloroforme. Les résidus d'alcaloïdes obtenus ont un effet antihyperglycémiant sur des souris rendues diabétiques par la STZ. De même, **Raman et Lau (1996)**, ont noté que l'administration intra-péritonéale d'un alcaloïde pyrimidine nucléoside (Vicine) extrait des fruits de *Momordica charantia* L. cause un effet hypoglycémiant chez des rats normaux à jeun.

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

Hammouda et Amer (1966), ont montré que l'administration de tecomine et tecostanine, deux alcaloïdes isolés des feuilles de *Tcoma stans* famille des bignoniacée, provoquent une diminution de la glycémie chez des lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane. De même, des

recherches *in vitro* de **Costantino et al. (2003)** montrent que la tecomine stimule la captation du glucose au niveau des adipocytes à $6.76 \cdot 10^{-9}$ M chez des rats normaux, et notent aussi que la tecomine réduit le niveau du cholestérol chez des souris *db/db* (modèle génétique du diabète insulino-résistance avec obésité).

Les glycosides cucurbitacines

la dose létale **DL₁₀₀** des extraits des glycosides cucurbitacines est respectivement de 300mg/kg p.c pour l'extrait chloroformique et 150 mg/kg p.c pour l'extrait éthanolique, et la dose médiane **DL₅₀** est de 200mg/kg p.c pour l'extrait chloroformique et 75 mg/kg p.c pour l'extrait éthanolique. Les doses injectées dans les tests biologiques sont estimées à 20mg/kg p.c pour les deux extraits.

Les résultats obtenus des analyses *in vivo* montrent un effet antihyperglycémiant d'extrait chloroformique et éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis* :

Il a été constaté que les extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides cucurbitacines provoquent une diminution d'hyperglycémie d'ordre de 40% et 9.2% respectivement chez les rats diabétiques 4 heures après une injection de 20mg/kg p.c. Cette diminution persiste à long terme pendant 5 semaines pour les deux extraits. De même il n'a pas été noté des changements significatifs chez les rats normaux traités par les mêmes extraits par rapport aux rats témoins normaux.

Par contre, il a été noté une diminution régulière d'hyperglycémie provoquée par voie orale chez les rats diabétiques traités par injection intra-péritonéale de 20mg/kg p.c d'extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides cucurbitacines arrive à **-36.2%** et **-31.1%** respectivement après 4 heures. La diminution provoquée par l'extrait éthanolique est comparable avec celle de Glibenclamide (antidiabétique oral commercialisé, famille des sulfamides). Donc il semble que cette fraction assure une meilleure utilisation périphérique du glucose (une amélioration de la tolérance au glucose). De même, il a été observé une diminution de la glycémie après 240 minutes de l'ordre de **27.5%** et de **19.6%** par rapport à la glycémie basale pour les rats normaux traités par l'extrait chloroformique et éthanolique des glycosides cucurbitacines respectivement.

A long terme, il n'a pas été noté des corrections significatives de l'hyper-cholestérolémie marquée après l'injection d'extrait chloroformique par rapport aux témoins diabétiques. Par contre il a été bien constaté la correction de l'hypercholestérolémie chez les rats diabétiques traités par l'extrait éthanolique.

L'effet d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines a été testé *in vitro* sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolés des rats Wistar mâle. Les résultats obtenus montrent que la présence de 100µg/ml d'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines dans un milieu d'incubation KRBA 4% avec 0.45 g/l (ou 1.6g/l) du glucose contenant des adipocytes isolés augmente la captation du glucose au niveau des adipocytes, avec un taux de **19.5%** (avec 0.45g/l glucose) et **9%** (avec 1.6 g/l glucose) par rapport aux témoins (adipocytes incubés dans du KRBA 4% avec 0.45g/l ou 1.6g/l du glucose en absence d'extrait).

Plusieurs recherches confirment l'effet antidiabétique des extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides citant :

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

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

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

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

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

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

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

Yoshikawa, Harada et al. (1994) et Yoshikawa, Murakami et al. (1996), ont isolé à partir des graines de *Aesculus hippocastanum* L famille des Hippocastanacée, cinq tri terpènes oligoglycosides nommés escins Ia, Ib, IIa, IIb et IIIa. Ces tri terpènes provoquent un effet hypoglycémiant surtout pour les fractions escins IIa et IIb.

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

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

Conclusion générale

A la lumière des résultats préliminaires obtenus, nous pouvons conclure que les doses de 60mg/kg p.c. d'alcaloïdes totaux et 20 mg/kg d'extraits chloroformiques et éthanoliques des glycosides cucurbitacines, extraites des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*); administrées 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), stimuleraient la captation du glucose au niveau des adipocytes et maintendraient une croissance pondérale régulière des rats.

Ces résultats mériteraient d'être approfondis sur d'autres espèces animales et modèles expérimentaux,....

Des travaux complémentaires seraient nécessaires tels que :

- Identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions des alcaloïdes et des glycosides cucurbitacines par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
- Tester des composés purifiés afin de déterminer le principe actif de chaque extrait.
- Rechercher les effets toxiques chroniques de ces extraits ;
- Dosage d'autres paramètres plasmatiques : Triglycéridémie, HDL-cholestérol, l'insulinémie, hémoglobine glycosylé ... ;
- Étude *in vitro* de l'action des ces fractions sur les cellules β pancréatiques isolées et sur les tissus périphériques insulinosensibles isolés (foie, muscle et tissus adipeux) ;
- Tester leurs effets sur l'absorption intestinale des glucides ;
- Rechercher le mécanisme moléculaire intime par l'intermédiaire desquels nos composés agiraient sur le syndrome diabétique.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdel-barry JA, Abdel-Hassan IA et Al-Hakiem MH; 1997.** Hypoglycaemic and anti-hyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 58: 149- 155.
- X 2. **Abdel-Hassan I, Abdel-Barry J A et Mohammeda S T; 2000.** The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* ; 71: 325-330.
3. **ADA (American Diabetes Association) ; 1997.** Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 21 sup. 1: 5-19.
4. **ADA (American Diabetes Association) ; 1999.** Diabetes mellitus and exercise. *Diabetes Care*: S49-53.
5. **Agarwal R R et Dutt S, 1934.** *Current Sci*; 3 : 250. *In*: The glycosidal content of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica*; 26: 293-298.. **Darwish-Sayed et al.; 1974.**
- X 6. **Ahr HJ, Boberg M, Brendel E, Krause H P et Steinke J P ; 1997.** pharmacokinetics of miglitol absorption, distribution, metabolism and excretion following administration to rat, dogs and man. *Arzneim Forsch/Drug Res*; 47: 734-745.
- X 7. **Al Faraj S ; 1995.** haemorrhagic colitis induced by *Citrullus colocynthis*. *Annual Tropen parasitology*; 89 (6): 695-696.
- X 8. **Al Kofahi S, Batchoun R, Awais w et Najib N; 1996.** Biological activity of some Jordanian medicinal plants extracts. *Fitoterapia*; LXVII.5: 435-442.
9. **Alberti K G et Zimmet P Z (for the WHO Consultation); 1998.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *Diabetic Medicine*; 15 : 539-553.
- X 10. **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.
11. **Allen F M; 1927.** Blueberry leaf extract: physiologic and clinical properties in relation to carbohydrate metabolism. *JAMA*; 89: 1577-81.
- X 12. **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.
13. **Amotte M; 1971.** Initiation aux méthodes statistiques en biologie 2^{ème} edit. Paris ; Masson et Cie.
14. **ANAES (l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé) ; 2000.** Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. Service des Recommandations et Références Professionnelles. Paris ; I.S.B.N. : 2-910653-73-0.
15. **Annicotte J S ; 2004.** Etude des fonctions pancréatiques du récepteur nucléaire orphelin Liver Receptor Homolog-1 (LRH-1) et du facteur de transcription E2F1. Thèse de Doctorat en Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie, l'Université Strasbourg 1 (Louis Pasteur) : 31-55.
16. **Association d'aide aux diabétiques Tlemcen ; 2000.** Sidi Cheker.Tlemcen.
17. **Atkinson M A E et MacLaren N K ; 1994.** the pathogenesis of insulin-dependant diabetes. *N Engl J Med*; 331: 1428-36.

18. **Auterhoff H et Müller R, 1967.** Dt. Apoth. Ztg; 39: 153. *In: The glycosidal content of the different organs of Citrullus colocynthis.* Planta Medica; 26: 293-298.. **Darwish-Sayed et al.; 1974.**
19. **Azad Khan A K, Akhtar S et Mahtab H; 1980.** Treatment of diabetes mellitus with *Coccinia indica*. Br Med J; 280: 1044.
20. **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.
21. **Bailey C J et Day C; 1989.** Traditional plant medicines as treatments for diabetes. Diabetes Care; 12 (8): 553-564.
22. **Bailey C J et Turner R C;1996.** Metformin. N engl J Med ; 334 : 574-579.
23. **Banarjee S P et Dandiya P.C; 1967.** J.pharm.Sci; **56:** 1665.
24. **Baquar S R et Tasnif M ; 1984.** medicinal plants of Southern West Pakistan. Periodical export Book Agency. (Delhi).
25. **Barceló A ; 1996.** Série de monographie sur les maladies liées au vieillissement : diabète sucré non insulino-dépendant (DNID). vol. 17 N°1.
26. **Barcelo A, Diaz O, Norat T et Mateo de Acosta O; 1993.** Diabetes mellitus en Cuba (1979–1989). I. Variaciones relacionadas con edad y sexo. Rev Cub Endocrinol; 4: 59-66.
27. **Barnett A H, Eff C, Leslie R D et Gpyke D A; 1981.** Diabetes in identical twins. A study of 200. Paris. Diabetologia; 20: 87-93.
28. **Barrett-Connor E; 1980.** The prevalence of diabetes mellitus in an adult community as determined by history or fasting hyperglycemia. Am J Epidemiol; 111: 705-12.
29. **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.
30. **Basdevant A; 1994.** diabète sucré et hyperlipidémies. dans **Assal J P H, Ekoe J H, Lefebvre P et Slama G ;** Reconnaître, comprendre, traiter : le diabète sucré. 2^{ème} édit Maloine ; Chap 33: 105-08.
31. **Bastard J P ; 2004.** Résistance à l'insuline et expression des gènes du tissu adipeux chez l'homme. Ann Biol Clin ; 62 (1) : 25-30.
32. **Bastard J P, Cuevas J, Cohen S, Jardel C et Hainque B; 1994.** Percutaneous adipose tissue biopsy by mini-liposuction for metabolic studies. J Parenter Enternal Nutr; 18 : 466-468.
33. **Bastard J P, Hainque B, Jardel C, et al.1995.** Tissue-specific regulation of Glut4 and Glut5 expression in non insulin-dependent diabetes mellitus. Endocrinol Metab ; 2 : 259-68.
34. **Bastard J P, Jardel C, Guerre-Millo M et Hainque B ; 1998.** Les transporteurs d'hexoses chez l'homme : leur rôle dans l'insulino-sensibilité des tissus périphérique. Rev Med Interne ; 19 : 108-118.
35. **Bastard J P, Vigouroux C et Capeau J; 2001.** Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition ; 10-363-A-10.
36. **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).

37. **Baudin G; 2001.** biologie du diabète: Imagerie fonctionnelle et métabolique. Médecine Nucléaire ; 25.2: 55-60.
38. **Baudler S, Krone W, et Bruning J C; 2003.** Genetic manipulation of the insulin signalling cascade in mice--potential insight into the pathomechanism of type 2diabetes. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab; 17(3): 431-443.
39. **Bedevian A K ; 1936.** Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant names. Cairo, Argus D Papazian Presses.
40. **Bell G I, Burant C F, Takeda J, et Gould G W; 1993.** Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. J Biol Chem; 268: 19161-19164.
41. **Benariba N ; 2003.** Contribution a l'étude antidiabétique des extraits de graine de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Département de biologie , Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
42. **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.
43. **Birnbaum M J, Haspel H C et Rosen O M; 1987.** Transformation of rat fibroblasts by FSV rapidly increases glucose transporter gene transcription. Science; 235: 1495-1498.
44. **Blickle J F ; 2004.** actualités sur les traitements oraux du diabète. coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, (Paris) : 209-221.
45. **Blickle. J.F; 1999.** traitement oraux du diabetes; Encycl Med Chir (E.M.C) ; Elsevier, Paris ; Endocrinologie- Nutrition 10-366-R-20.
46. **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.
47. **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
48. **Boukef K et Souissi H R; 1986.** Contribution à l'étude des plantes utilisées en médecine populaire tunisienne. Faculté de Pharmacie Monastir : 31-44.
49. **Brahmachari H D, Augusti K T; 1964.** Isolation of orally effective hypoglycaemic compounds from *Ficus bengalensis* . Ind J Physiol Pharmacol; 8: 60-64.
50. **Brechner R J, Cowie C C, Howie L J, Herman W H, Will J C et Harris M I.; 1993.** Ophthalmic examination among adults with diagnosed diabetes mellitus. JAMA; 352: 1714-1718.
51. **Brun JM, Cathelineau G, Charbonnel B et al.; 1995.** Recommandations de l'ALFEDIAM. Mise à l'insuline du diabétique non-insulino-dépendant (diabétique de type 2). Diabète et métabolisme (Paris); 21 : 291-294
52. **Bruneton J; 1993.** Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Lavoisier 2^{ème} édition : 535-545.
53. **Bruneton J; 1996.** plante toxique : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Tec Doc (Paris).
54. **Bruneton J; 1999.** Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3^{ème} édition.

55. **Bryant N J, Govers R et James D E; 2002.** Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3:267-77.
56. **Burchell A, 1998.** A re-evaluation of GLUT 7. *Biochem J*; 331 : 973.
57. **Busch-Brafin M S et Pinget M; 2001.** Le diabète de type 2. Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire*; 25.2: 103-114.
58. **Buyschaert M et Hermans M P; 1998.** Critères révisés et nouvelle classification du diabète sucré. *Louvin MED* ; 117 : 1-6.
59. **Byrne M M, Sturis J, Fajans S S et al.; 1995.** Altered insulin secretory responses to glucose in subjects with a mutation in the MODY1 gene on chromosome 20. *Diabetes* ; 44 : 699-704.
60. **Byrne M M, Sturis J, Menzel S et al.; 1996.** Altered insulin secretory responses to glucose in diabetic and non diabetic subjects with mutations in the diabetes susceptibility gene MODY3 on chromosome 12. *Diabetes* 1996 ; 45 : 1503-1510.
61. **Calderhead D M, Kitagawa K, Tanner L I, Holman G D et Lienhard G E ; 1990.** Insulin regulation of the two glucose transporters in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*; 265: 13801-13808.
62. **Canal JR, Torres MD, Romero A et Perez C; 2000.** A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol Hung*; 87: 71-76.
63. **Capeau J; 2003.** Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance. *Med Sci (Paris)*; 19 (8-9): 834-839.
64. **Capet F, Debaille R, Tafforeau J et Van Oyen H; 1999.** Situation Actuelle et Eléments pour le Développement d'une Politique de Santé : diabète épidémiologie. *CROSP* ; 19 : 1-12 ; 27-28.
65. **Carney JR, Krenisky JM, Williamson RT, et al.;1999.** Maprouneacin, a new daphnane diterpenoid with potent antihyperglycaemic activity from *Maprounea africana*. *J Nat Prod*; 62: 345-347.
66. **Carter I; 1997.** Plantes protectrices pastèque sauvage. *Revue Pas à Pas Tear Fund (Angleterre)* ; 32 : 9.
67. **Cerasi E et Luft R; 1967.** The plasma insulin response to glucose infusion in healthy subjects and in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Kbh)*; 55 : 278-304.
68. **Charbonnel B et Cariou B; 1997.** Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *médecine thérapeutique* ; 3.hs: 103-11.
69. **Chattopadhyay RR; 1993.** Hypoglycaemic effect of *Ocimum sanctum* leaf extract in normal and streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol*; 31: 391-393.
70. **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.
71. **Costantino I, Raimondi I, Pirisino R, brunette T, Pessotto P, Giannessi F, Lins A P, Barlocco D, Antolini L et EL-Abady; 2003.** Isolation and pharmacological activities of the *Tecoma stans* alkaloids. *IL Farmaco* ; 58 : 781-785.
72. **Cushman SW et Wardzala L J; 1980.** Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane. *J Biol Chem*; 255: 4748- 4762

73. **Czech M Pet Buxton J M; 1993.** Insulin action on the internalization of the GLUT4 glucose transporter in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem*; 268: 9187-9190.
74. **Darwish-Sayed M, Balbaa S I et Afifi M S A; 1973.** Nitrogenous base of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica*; 24 (3): 260-265.
75. **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..
76. **Day C, Cartwright T, Provost T et Bailey C; 1990.** hypoglycemic effect of *Momordica charantia* extracts. *Planta Med.*; 56: 426-429.
77. **De Broucker H; 1986.** Problemes Quotidiens du diabete ; Si l'obese devient diabetique ; n°200.
78. **De Meyts P ; 2004.** Insulin and its receptor: structure, function and evolution. *Bioessays* ; 26(12) : 1351-1362.
79. **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.
80. **Desch G; 2001.** Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic et de la surveillance du diabète: Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire*; vol.25.2: 61-72.
81. **Dewick P M ; 2002.** Medicinal Natural Products: Alkaloids chp.6. John Wiley & Sons, Ltd: 291-403.
82. **Dharmananda S; 2003.** Treatment of diabetes with Chinese herbs and acupuncture. Internet journal of the institute for traditional medicine and preventive health care.
83. **Dinneen S, Gerich J et Rizza R ; 1992.** Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* ; 327 : 707-713.
84. **Domart A et Bourneuf J; 1986.** Nouveau Larousse Médical. Paris ; n°13515 : 320-22
85. **Dornan T; 1994.** Diabetes in the elderly: epidemiology. *J R Soc Med*; 87: 609-12.
86. **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.
87. **Duke J A; 1983.** *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Handbook of Energy Crops..
88. **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.
89. **Dunn C Jet Faulds D ; 2000.** Nateglinide. *Drugs* ; 60 : 607-615.
90. **Dunn C J et Peters D; 1995.** Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs* ; 49 : 721-749.
91. **Dunn F L; 1982.** hyperlipidemia and diabetes. *Med Clin North Am*; 77: 1347-67.
92. **Duron F et Heurtier A ; 2006.** Epidémiologie, clinique et traitement des diabètes. *Endocrinologie*. DCEM1 - Examen National Classant 2006 – 2007, Université Paris-VI ; 232 : 239-299.
93. **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.
94. **Eschwege E, Simon D et Balkau B, 1998.** Le diabète de type 2 vu par l'épidémiologiste. *Dis Manage Health Outcomes* ; 4 suppl 1 : 1-12.

- 95. Everhart J, Knowler W C et Bennett P H; 1985.** Incidence and risk factor for non-insulin-dependent diabetes mellitus. In : National Diabetes Data Group, réd. Diabetes in America. Diabetes data compiled 1984. US Department of Health and Human Services. Chap IV: 1-35.
- 96. Fajans S S, Bell GI et Polonsky K S ; 2001.** Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity onset diabetes of de young. *N Engl J Med*; 345:971-980.
- 97. Farias RA, Rao VS, Viana GS, et al.; 1997.** Hypoglycaemic effect of trans-dehydrocrotonin, a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Med*; 63: 558-560.
- 98. Farnsworth N R et Segelman A B, 1971.** hypoglycemic plants. *Tile Till*; 57: 52-55.
- 99. Fasce C F; 1982.** Serum Cholesterol determined colorimetrically with enzyme. *Clin Chem* ; 18 : 901
- 100. Feener E P et King G L ; 1997.** Vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Lancet*; 350 suppl 1: 9-13.
- 101. Feinbrun-Dothan N; 1978.** Flora Palaestina. Part III. The Israeli Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem.
- 102. Fève B, Moldes M, El Hadri K, lasnier F et pairault; 1998.** La différenciation adipocytaire : tout un programme. *médecine/science* ; 14 : 848-857.
- 103. Fisch A, pichard E, Prazuck T, Leblanc H, Sidibe Y et Brucker G; 1987.** Prevalence and risk factors of diabetes mellitus in the rural region of Mali (West Africa): a practical approach. *Diabetologia*;30: 1227-19.
- X **104. Fontbonne A et Simon D ; 2004.** Epidémiologie du diabète. In Diabète de type II, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, Paris : 23-44.
- 105. French L R, Boen J R, Martinez A M, Bushouse S A, Sprafka J M et Goetz F C 1990.** Population based study of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in Wadena, Minnesota. *Diabetes*; 39 :p1131-1137.
- 106. Fujita Y, Herrow AL et Seltzer HS; 1975.** Confirmation of impaired early insulin response to glycemic stimulus in non obese mild diabetes. *Diabetes*; 24 : 17-27.
- 107. Fumeron F; 2005.** De l'obésité au daibète de type2 : épidémiologie et physiopathologie. *Cholé-doc* ; N°88.
- 108. Gautier JF, Berne C, Grimm JJ, Lobel B, Coliche V et Mollet E ; 1998.** Activité physique et diabète. *Diabetes Metab* ; 24:281-90.
- 109. Geloën A, Roy P E et Bukowecki L J; 1989.** Regression of white adipose tissue in diabetic rats. American Physiological Society.
- 110. Gerald Karp; 1996.** Cell and Molecular Biology: concepts and experiment. Edit. DeBoek University US: 669-671.
- X **111. Gin H et Rigalleau V; 1999.** Dietitique et Diabetes. *Encycl Med Chir (E.M.C)* ; Elsevier, Paris ; Endocrinologie- Nutrition 10-366-R-10.
- 112. Giroud J P, Tchobrotsky J, Slama G et Chast F; 1988.** Pharmacologie clinique: base de la thérapeutique. Expansion Scientifique Française 2^{ème} éd.1921 : 2311-12.
- 113. Giudicelli J et Cattan N ; 2001.** Données immunologique du diabète de type1 : Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire* ; 25.2 : 85-90.
- 114. Golditz G A, Willett W C, Rotnizky A et Manson J E; 1995.** Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med*; 122: 481-486.

151. **Knowler W C, Saad M F, Pettitt D J, Nelson R G et Bennett P H; 1993.** Determinants of diabetes mellitus in the Pima Indians. *Diabetes Care*; 16: 216-27.
152. **Krawaya M S, Wahab S M, El Olemy M et farrag N M; 1984.** Diphenylamine et anti hyperglycemic agent from onion and tea. *Journal of natural products*; 47: 775-780.
153. **Kreider M, Gerich J et Wittlin S, 1997.** Bedtime insulin in non-insulin dependent diabetes mellitus: rationale, safety, efficacy and recommendations. *Diabetes Nutr. Metab. Clin. Exp*; 10: 82-93.
154. **Ktorza, et al.; 1997.** Are animal Models of Diabète relevant to the study of Genetics non insulino-dependant Diabetes in humans? *Diabetes Metabolism. Paris*; 23: 7-17.
155. **Laakso M; 1997.** Dyslipidemia, morbidity and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*; 11: 137-141.
156. **Lan M S, Wasserfall C, et Maclaren N K; 1996.** Notkins AL. IA-2, transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major auto antigen in insulin-dependant diabetes mellitus. *USA*; 93: 6367-70.
157. **Larger E ; 1998.** Mécanismes d'action des antidiabétiques oraux. *Médecine Thérapeutique, Paris ; Hors Série*: 97- 102.
158. **Laurent D; 1992.** Atlas de poche de physiologie. Flammarion Médecin-Science. 2^{ème} éd. Française (Paris): 212-213.
159. **Lavie D, Willner D et Merenlender Z; 1964.** Constituents of *Citrullus colocynthis* (L.) Schard. *Phytochemistry*; 3: 51-56
160. **Lavie D, Willner D, Belkin M et Hardy W G; 1959.** ACTA Unio Int. Contra Cancrum; 154 bis : 177. *In: Constituents of Citrullus colocynthis* (L.) Schard. *Phytochemistry*; 3: 51-56, **Lavie et al , 1964.**
161. **Le Floch JP, Duprat-Lomont, Eschwege E, Liard F et Grimaldi A; 1998.** Management of 5548 patients with type 2 diabetes followed by general practitioners in France. *Diabetes*; 47(suppl 1) : A386.
162. **Leatherdale B A, Panesar R K, Singh G, Atkins T W, Bailey C J et Bignell A H C ; 1981.** Improvement in glucose tolerance due to *Momordica charantia* (karela). *Br Med J*; 282: 1823-24.
163. **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.
164. **Lev E et Amar Z; 2002.** Ethnopharmacology survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*; 82: 131-145.
165. **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.
166. **Mac Keigne P M, Shah B, Marmot M G; 1991.** Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asians. *Lanat*; 337: 382-386.
167. **Marieb E N; 1999.** Anatomie et physiologie humaines 2^e éditions. Edition Renouveau Pédagogique Inc.ed. (Saint-Laurent).
168. **Marie-Luce Guillermin Spahr ; 2004.** Facteurs prédictifs d'une intolérance au glucose après un diabète gestationnel. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine, Présentée à la Faculté de Médecine De l'Université de Genève : 4-9.

169. **Marles R J et Farnsworth N ; 1996.** antidiabetic plants and their active constituent. Prot. J Bot Med ; 1 (3) : 85-135.
170. **Martin B C, warram J H, Krolewski A S, Bergman R N, Soeldner J S et Kahn C R; 1992.** Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25 years follow-up study. Lancet; 2: 925-929.
171. **Massin P, Pâques M et Gaudric A; 1999.** rétinopathie diabétique, Encyc Méd Chir. (Elsevier, Paris), Endocrinologie –nutrition, 10-366-K-10, 11P.
172. **Mateo-de-Acosta O, Amaro S et Diaz O; 1973.** Diabetes in Cuba. Acta Diabetol Lat; 10: 534-46.
173. **Mayer P et Calle C; 1988.** Glucagons binding and lipolytic responce in isolated adipocytes from streptozotocin diabetic rats. Japan. Endocrinol; **35**(2): 207-15.
174. **Melander A; 1996.** Oral anti-diabetic drugs : an overview. Diabetic Medicine ; 13 : S143-S147
175. **Merad Chiali R; 1973.** Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. Tec. Doc.
176. **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.
177. **Metz S A, Halter J B et Robertson R P ; 1979.** Paradoxical inhibition of insulin secretion by glucose in human diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab; 48 : 827-35.
178. **Middaugh J, Talbot J et Roche J; 1991.** Diabetes prevalence in Alaska; 1984-1986. Arctic Med. Res.; 50: 107-19.
179. **Monnier L et Avignon A ; 1997.** Nutrition et diététique du diabète non insulino-dépendant. Médecine thérapeutique; 3 : 87-96.
180. **Monnier L, Slama G, Vialettes B et Ziegler O ; 1995.** Nutrition et diabète. Recommandations de l'ALFEDIAM. Diabetes Metab ; 21:207-16.
181. **Mueckler M, 1994.** Facilitative glucose transporters. Eur J Biochem ; 219(3): 713-725.
182. **Murty B S R, Vasudevan T N et Khorana M L; 1970.** Indian J. Pharm; 10: 32. *in*: The glycosidal content of the different organs of *Citrullus colocynthis*. Planta Medica; 26: 293-298.
183. **Nadkarni K M; 1998.** Indian Plants and Drugs with their Medical Properties and Uses. In TRAFFIC India. Asiatic Publishing House, Delhi, India.
184. **Nagappa A N, Thakurdesai P A, Venkat Rao et Singh J; 2003.** Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. Journal of Ethnopharmacology; 88: 45-50.
185. **Naira G, Mureenj C H et Charron M J; 2003.** What we know about facilitative glucose transporters. Biochemistry and molecular education; 31,3: 163-172.
186. **Natiq A R H, Donald A W et Nahia J Y; 1989.** Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. Phytochemistry; 28 (4): 1268-1271.
187. **Naylor C D, Sermer M, Chen E et coll. ;1997.** Selective screening for gestational diabetes mellitus. N Engl J Med; 337: 1591-96.
188. **Naylor W R H et Chappel F S; 1907.** Pharm. J. ; 25 :117. *In*: Constituents of *Citrullus colocynthis* (L.) Schard. Phytochemistry; 3: 51-56, **Lavie et al , 1964.**
189. **NDDG. National Diabetes Data Group; 1979.** Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes; 28: 1039–57.

230. Roman-Ramos R, Lara-Lemus A et Alarcon-Aguilar F ; 1992b. Hypoglycaemic activity of some antidiabetic plants. Arch Med Res; 23: 105-109.
231. Ross R; 1986. The pathogenesis of arteriosclerosis- an update. N Engl j Med; 314: 488-500.
232. 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.
233. 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.
234. Satyavati G V, Neeraj T et Madhu S, 1989. Indigenous plant drugs for diabetes mellitus.
235. 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.
236. Schwartz D; 1992. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3^{ème} edit. Paris ; Flammarion médecine-Sciences.
237. Seger C H, Strum S, Mair M E, Ellmerer E P et Stuppner H; 2005. ¹H and ¹³C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L) Scharder and *Echallium elaterium* L. (Cucurbitaceae). Magn. Reson. Chem.; 43 : 489-491.
238. Shani J, Goldschmied A, Joseph B, Aharonson Z et Sulman F G ; 1974. Hypoglycemic effect of *Trigonella foenumgraecum* and *Lupinus termis* (leguminosae) seeds and their major alkaloids in alloxan diabetic and normal rats. Arch Int Pharmacodyn Ther; 210: 27-37.
239. Shanmugasundaram K R, Panneerselvam C, Samudram P et Shanmugasundaram E R B; 1983. Enzyme changes and glucose utilisation in diabetic rabbits: the effect of *Gymnema Sylvestre* R Br. J Ethnopharmacol; 7: 205-34.
240. Sharma S B, Nasir A, Prabhu K M, Murthy et Dev G; 2003. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. Journal of ethnopharmacology; 85: 201-206.
241. Shirwaikar A, Rajendran K et Barik R ; 2006. Effect of aqueous bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type II diabetes mellitus. Journal of Ethnopharmacology
242. Siddiqui R H, Siddiqui I R et Muhammad S ; 1955. J. Indian chem. Soc 32: 669. In: Constituents of *Citrullus colocynthis* (L.) Schard. Phytochemistry; 3: 51-56, Lavie et al , 1964.
243. Simmons D, Williams D R et Powell M J; 1991. The Coventry diabetes Study: prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in Euripides and Asians. Q.J. Med.; 81: 1021-30.
244. Simon D et Eschwege E; 2002. Données épidémiologiques sur le diabète de type 2. BEH: 20-21 et 86-87.
245. Simon D, Fagot-Campagna A, Eschwège E et Balkau B ; 2005. Diabète : définition, dépistage et épidémiologie. In Traité de diabétologie, coordonnateur Grimaldi A. Médecine sciences Flammarion : 3-21.
246. Sincich F; 2002. Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Rome, FAO: 114-115.

247. **Sobey F W J, Beer S F, Carrington C A et al; 1989.** Sensitive and specific two-site immunoradiometric assays for human insulin, proinsulin, 65-66 split and 32- 33 split proinsulins. *Biochem J*; 260 : 535-41.
248. **Spurgeon David; 1995.** À chacun son rythme. Dans Vents du Sud: La contribution du monde en développement à la science. CRDI: 154. ISBN 0-88936-737-X.
249. **Stary F; 1992.** Plantes médicinales ; Paris: 5-26.
250. **Sui DY, Lu Z.Z, Li SH et Cai Y;1994.** Hypoglycaemic effect of Saponin isolated from leaves of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Et Maxim.) Harms]. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*; 19: 683-685.
251. **Sun X J, Rothenberg P, Kahn C R, Backer J M, Araki E, Wilden P A, Cahill D A, Goldstein B J et White M F; 1991.** Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature*; 352: 73-77.
252. **Surwit R S, Schneider M S et Feinglos M N; 1992.** Stress and diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 15, 10: 1413-22.
253. **Suzuki K, Kono T; 1980.** Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci (USA)*; 77: 2542- 2545.
254. **Szkudelski T ; 2001.** The mechanism of Alloxan and Streptozotocin action in B cells of the rat panceas. *Physiol. Res.*50: 536-546.
255. **Taylor R, Bennett P, Uili R et al.; 1985.** Diabetes in Wallis Polynesians: a comparison of residents of Wallis Island and first generation migrants to Noumean, New Caledonia. *Diabetes Res Clin Pract*; 1: 169-78.
256. **Temple R C, Clark P M S, Nagi D K et al. ; 1990.** Radio immunoassay may overestimate insulin in non-insulin-dependent diabetics. *Clin Endocrinol*; 32 : 689-693.
257. **Teuscher T, Baillod P, Rosman J B et al.; 1987.** Absence of diabetes in a rural west African population with a high carbohydrate/ cassava diet. *Lancet*; 1: 765-8.
258. **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.
259. **Timsit J ; 1996.** Ethiopathogénie du diabète de type1. la revue de praticien. Paris ; 46 : 560-64.
260. **Tordjman K M, Leingang K A James D E et Mueckler M M; 1989.** Differential regulation of two distinct glucose transporter species expressed in 3T3-L1 adipocytes: effect of chronic insulin and tolbutamide treatment. *Proc Natl Acad Sci (U S A)*; 86: 7761-7765.
261. **Tournaire J; 1994.** Endocrinologie. Diabète Nutrition pour le praticien. Ed. Masson SIMEP; 1^{ère} Ed.: 317-319.
262. **Tournant F, Heurtier A, Bosquet F et Grimaldi A ; 2004.** Classification du diabète sucré critères diagnostiques et dépistage. In Diabète de type II, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, Paris : 45-82.
263. **Tremblay F ; 2004.** Régulation nutritionnelle de l'action de l'insuline sur le métabolisme du glucose : implication de la voie de signalisation mTOR. Thèse pour l'obtention du grade de Philosophic Doctor (Ph.D.). Faculté de médecine. Université Laval Québec. Canada.
264. **Trinder P; 1969.** Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clin Biochem*; 6: 24-27.

- inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycaemic activity on glucose tolerance test. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* ; 42: 1357-1359.
- 285. Yoshikawa M, Matsuda H, Harada E, et al.; 1994b.** A new hypoglycaemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem: Structure-related hypoglycaemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*; 42: 1354-1356.
- 286. Yoshikawa M, Morikawa T, Kobayashi H, Nakamura A, Matsuhira K, Nakamura S et Matsuda H ; 2007.** Bioactive Saponins and Glycosides. XXVII.1) Structures of New Cucurbitane-Type Triterpene Glycosides and Antiallergic Constituents from *Citrullus colocynthis*. *Chem. Pharm. Bull*; 55(3): 428- 434.
- 287. Yoshikawa M, Murakami T, Matsuda H, et al.; 1996.** Bioactive saponins and glycosides. III. Horse chestnut. (1): The structure, inhibitory effect on ethanol absorption, and hypoglycaemic activity of escins Ia, Ib, II a, II b and III a from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*; 44: 1454-1464.
- 288. Yoshikawa M, Yoshizumi S, Ueno T, et al.; 1995.** Medicinal foodstuffs. I. Hypoglycaemic constituents from a garnish foodstuff "taranome," the young shoot of *Aralia elata* Seem.: elatosides G, H, I, J, and K. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*; 43: 1878-1882.
- 289. Zarzuelo A, Risco S, Gamez MJ, et al.; 1990.** Hypoglycaemic action of *Salvia lavandulifolia* Vahl. Spp. Oxydon: a contribution to studies on the mechanism of action. *Life Sci*; 47: 909-915.
- 290. Zekri M A et Dib A H et; 2001.** Etude de l'effet hypoglycémiant des extraits d'alcaloïdes et de flavonoïdes de *Citrullus colocynthis* sur les paramètres biochimiques plasmatiques de rats rendus diabétiques. Mémoire DES en Biochimie. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
- 291. Zhang XF et Tan BK; 2000.** Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Med J*; 41: 9-13.
- 292. Zierath J R et Kawano Y, 2003.** The effect of hyperglycaemia on glucose disposal and insulin signal transduction in skeletal muscle. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 17(3): 385-398.
- 293. Zierler K; 1999.** Whole body glucose metabolism. *Am J Physiol*; 276(3 Pt 1): E409-426.
- 294. Zimmet P ; 1982.** Type 2 (non insulino-dependant) diabetes : an epidemiological overview. *Diabetologia* ; 22 : 399-411.
- 295. Zimmet P; 1992.** Challenges in diabetes epidemiology—from west to rest. *Diabetes Care*; 15: 232-52.
- 296. Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli, Serhrouchni M et Benjelloun W ; 1997.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* ; 58: 45-54.
- 297. Zoro A B I, Koffi k k et Djè Y; 2003.** Caractérisation botanique et agronomique de trois espèces de cucurbites consommées en sauce en Afrique de l'Ouest : *Citrullus* sp., *Cucumeropsis manni* Naudin et *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* ; 7 (3-4) : 189-199.