



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire de Magister

En vue de l'obtention du diplôme de magister en
Biologie Moléculaire

Thème

***Effet des huiles des graines de Nigella sativa L. sur le
modèle de rats au diabète induit par la
nicotinamide/stréptozotocine***

Présenté par

Belmouhoub Messaoud

Devant le jury :

Pr. ATMANI.D	(U.A.M de Béjaïa)	Président
Pr. IGUEROUADA.M	(U.A.M de Béjaïa)	Examinateur
Dr. BENABDESSALAM.F	(U.A.M de Béjaïa)	Examinatrice
Pr. BENBOUBETRA.M	(UFA de Sétif)	Rapporteur
Dr. KHETTAL.B	(U.A.M de Béjaïa)	Invitée
Mme. SOBHL.W	(U.A.M de Béjaïa)	Invitée

Année 2009/2010

Remerciement

Tout d'abord, je remercie Dieu le tout- puissant, de m'avoir donné la force et la patience de pouvoir mener ce travail à terme.

J'adresse mes plus sincères remerciements à ma Co-promotrice Mme AMROUCHE.W, pour m'avoir guidé durant la réalisation de ce travail.

Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de gratitude.

Je tiens également à remercier mon promoteur le Professeur BENBOUBTRA. M, d'avoir accepté diriger ce travail, je le remercie infiniment pour son soutien et son encouragement.

Je remercie Monsieur ATMANI. D Professeur à l'université de Bejaia, d'avoir accepté d'assurer la présidence de jury de ma thèse de magistère.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Monsieur IGUEROUADA.M Professeur à l'université de Bejaia pour son aide et d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Je remercie infiniment Mme BENABDASSALAM.F maitre de conférences à l'université de Bejaia d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier également Mme KHATTAL.B maitre de conférences à l'université de Bejaia d'accepter juger ce travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Mr ZAIDI, MAKHLOUF pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.

Je remercie Monsieur ZAOUANI.M directeur de laboratoire de pharmaco-toxicologie de la division recherche et développement de SAIDAL (Alger), ainsi que son équipe de recherche de m'avoir accueillis au sein de leur laboratoire et pour leurs aide durant tout mon travail.

Un remerciement particulier à Mlle ABBAD.S, de m'avoir appris quelques techniques de manipulation sur l'animal.

Mes sentiments de reconnaissances et mes remerciements vont également à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

J'adresse, surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, mes frères et mes sœurs, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect.

Liste des abréviations

- ABBOS : Albumine Sérique Bovine
- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ATP : Adénosine Triphosphate
- Ca: atome de calcium
- Cu : atome de cuivre
- Fe: atome de fer
- H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
- IL : Interleukine
- INF : Interféron
- K: atome de potassium
- MeOH: methanol
- Mg: atome de magnesium
- Mn : atome de manganèse
- Na: atome de sodium
- Ni : atome de nickel
- NO : Nitric Oxide
- OH : Radical hydroxyle
- ONOO : Peroxynitrite
- TNF : Tumor Necrosis Factor
- XO: Xanthine Oxydase
- Zn: atome de zinc
- ICAM : Intercellular-Adhesion-Molecule
- INOS : inducible nitric oxide synthase

Liste des tableaux

Tableau I : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le monde.....	04
Tableau II: Composition chimique générale de la graine de <i>Nigella sativa</i>	08
Tableau III: Composition en acides gras des huiles fixes de la graine de la <i>Nigella sativa</i>	09
Tableau IV : Composition chimique en huiles essentielles des graines de <i>Nigella sativa</i>	10
Tableau V: Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète.....	24

Liste des figures

Figure 1 : Aspects morphologiques et classification botanique de <i>Nigella sativa</i> L.....	07
Figure 2 : Structure moléculaire de la thymoquinone.....	11
Figure 3 : Structure de la Stréptozotocine.....	28
Figure 4 : Mécanisme d'action de la stréptozotocine dans la cellule β pancréatique.....	29
Figure 5 : Structure de l'alloxane.....	30
Figure 6 : Structure de la nicotinamide.....	30
Figure 7 : Les différentes actions possibles de la nicotinamide dans la cellule β pancréatiques.....	31
Figure 8 : Elevage des rats <i>wistar</i> albinos au sein de la division R&D du Groupe Sidal.....	33
Figure 9 : Système d'extraction au Soxhlet.....	34
Figure 10 : Différentes étapes d'extraction des huiles fixes de la graine de <i>Nigella sativa</i>	35
Figure 11 : Injection des substances chimiques par voie intrapéritonéale.....	36
Figure 12 : Administration des extraits par voie orale.....	37
Figure 13 : Prélèvement du sang par le sinus rétro-orbital.....	38
Figure 14 : Rendement des graines de <i>Nigella sativa</i> en huile fixe (A) et leur teneur en huile polaire et neutre (B).....	44
Figure 15 : Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile totale.....	46
Figure 16 : Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traité par l'huile polaire.....	47
Figure 17 : Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par l'huile neutre.....	48
Figure 18 : Evolution de la glycémie chez des rats traités par la métformine.....	49
Figure 19 : Effet de la thymoquinone sur la glycémie des rats diabétiques.....	50
Figure 20 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques traités par l'huile totale.....	52
Figure 21 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques traité par l'huile polaire.....	53
Figure 22 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques traité par l'huile neutre....	53
Figure 23 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques traité par la métformine.....	54
Figure 24 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats diabétiques traité par la thymoquinone...	55

Figure 25 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile totale.....	56
Figure 26 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile polaire.....	57
Figure 27 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile neutre.....	58
Figure 28 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par la métformine.....	59
Figure 29 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	60
Figure 30 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile totale.....	61
Figure 31 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile polaire.....	61
Figure 32 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile neutre.....	62
Figure 33 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	63
Figure 34: Evolution pondérale des rats diabétiques traités par la métformine.....	64
Figure 35 : Quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par l'huile totale....	65
Figure 36 : Quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par l'huile polaire...	66
Figure 37 : Quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par l'huile neutre...	66
Figure 38: Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la métformine.....	67
Figure 39 : Quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	67
Figure 40: Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par l'huile totale.....	69
Figure 41: Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par l'huile polaire.....	69
Figure 42: Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par l'huile neutre.....	69

Figure 43: Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	70
Figure 44 : Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par la métformine.....	70
Figure 45: Effet de l'huile polaire et l'huile neutre sur les glycosidases intestinales.....	72
Figure 46 : Effet de l'huile neutre et de l'huile polaire sur le transport intestinal de glucose.....	73
Figure 47 : Inhibition de l'alpha glucosidase par l'huile neutre et polaire.....	74

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Matériel végétal

I.1. Les plantes et la médecine.....	3
I.2. Utilisation des plantes médicinales à travers le monde.....	3
I.3. La plante <i>Nigella sativa</i> L.....	5
I.3.1. Historique.....	5
I.3.2. Aspect botanique.....	5
I.3.3. Présentation et description des graines de la plante <i>Nigella sativa</i>	6
I.3.4. La plante <i>Nigella sativa</i> L et ses graines en médecine traditionnelle.....	6
I.3.5. Composition chimique de la graine de <i>Nigella sativa</i>	8
I.3.5.1. Les huiles des graines de <i>Nigella sativa</i>	8
I.3.5.1.1. Les huiles fixes des graines de <i>Nigella sativa</i>	8
I.3.5.1.1.1. Composition chimique de l'huile polaire des graines de <i>Nigella sativa</i>	8
I.3.5.1.1.2. Composition chimique de l'huile neutre des graines de <i>Nigella sativa</i>	9
I.3.5.1.1.3. Les acides gras de l'huile fixe de la graine de la <i>Nigella sativa</i>	9
I.3.5.1.1.4. Les effets thérapeutiques de l'huile fixe des graines de la <i>Nigella sativa</i>	9
I.3.5.1.2. L'huile essentielle des graines de la <i>Nigella sativa</i>	10
I.3.5.1.2.1. Effets thérapeutiques des huiles essentielles des graines de la <i>Nigella sativa</i>	11
I.3.5.1.2.2. La thymoquinone.....	11
a) Structure et fonction.....	11
b) Effet thérapeutique.....	11
I.3.5.1.3. Les alcaloïdes des graines de la <i>Nigella sativa</i>	12
I.3.5.1.4. Autres composés des graines de la <i>Nigella sativa</i>	12
I.3.6. Effets thérapeutiques des graines de <i>Nigella sativa</i>	13
I.3.6.1. Activité anti-inflammatoire.....	13
I.3.6.2. Activité antibactérienne.....	14

I.3.6.3. Effet gastroprotecteur.....	14
I.3.6.4. Effet broncho-dilatateur.....	14
I.3.6.5. Action antidiabétique des graines de la <i>Nigella sativa</i>	15

Chapitre II : Généralités sur le diabète

II.1. Définition.....	17
II.2. Classification étiologique du diabète.....	17
II.2.1. Le diabète de type 1.....	17
II.2.2. Le diabète de type 2.....	17
II.2.3. Le diabète spécifique.....	18
II.2.4. Le diabète gestationnel.....	18
II.3. Etiologie du diabète.....	18
II.3.1. Facteurs génétiques.....	18
II.3.2. Facteurs diététiques.....	19
II.3.3. Facteurs environnementaux.....	19
II.4. Physiopathologie du diabète.....	20
II.4.1. Diabète de type 1.....	20
II.4.2. Diabète de type 2.....	20
II.5. Critères diagnostiques du diabète sucré.....	21
II.6. Traitement médicamenteux du diabète sucré.....	21
II.6.1. Insulinothérapie.....	22
II.6.2. Transplantation du pancréas.....	22
II.7. Phytothérapie du diabète.....	23

Chapitre III : Méthodes d'étude du diabète expérimental

III.1. Différents modèles animaux disponibles pour la recherche d'antidiabétiques.....	25
III.1.1. Les modèles animaux du diabète spontané.....	25
III.1.1.1. Le diabète type 1.....	25
III.1.1.2. Le diabète type 2.....	25
III.1.2. Diabète induit par pancréatectomie.....	26
III.1.3. Les souris transgéniques.....	26
III.1.4. Diabète induit par le régime alimentaire.....	26

III.1.5. Diabète induit par inoculation de virus.....	26
III.1.6. Diabète induit par des substances chimiques.....	27
III.2. Les substances chimiques utilisées dans l'induction de diabète.....	27
III.2.1. La Stréptozotocine (STZ).....	27
III.2.1.1. Structure.....	27
III.2.1.2. Action de la stréptozotocine sur la cellule β pancréatique.....	28
III.2.2. L'Alloxane.....	29
III.2.2.1. Structure.....	29
III.2.2.2. Fonction.....	29
III.2.3. La nicotinamide.....	30
III.2.3.1. Structure.....	30
III.2.3.2. Fonction.....	30

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes.....	32
I.1 Matériel.....	32
I.1.1 Matériel biologique.....	32
I.1.1.1. Matériel végétal.....	32
I.1.1.2. Réactifs chimiques.....	32
I.1.1.3. choix des animaux.....	32
I.2. méthodes.....	33
I.2.1. Préparation des extraits des graines de <i>Nigella sativa</i>	33
I.2.1.1 Obtention de l'extrait méthanolique par soxhlet.....	33
I.2.1.2 Extraction de l'huile totale à froid.....	34
I.2.1.3 Fractionnement de l'huile totale par chromatographie sur colonne.....	34
I.2.2. Etude de l'effet des extraits de la graine de <i>Nigella sativa</i> sur des rats diabétiques.....	36
I.2.2.1. Induction du diabète.....	36
I.2.2.2. Répartition des animaux.....	36

I.2.2.3. Administration des extraits.....	37
I.2.2.4. Prélèvements sanguins.....	37
I.2.2.5. Mesure des différents paramètres.....	38
I.2.2.5.1. Dosage des paramètres biochimiques.....	38
a) Dosage du glucose.....	38
b) Dosage de cholestérol.....	39
c) Dosage des triglycérides.....	39
I.2.2.5.2. Etude de l'évolution pondérale.....	40
I.2.2.5.3. Mesure de la quantité de l'eau et de la nourriture consommées.....	40
I.2.3. Etude de l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post prandiale	40
I.2.3.1. Préparation des extraits.....	41
I.2.3.2. Répartition des animaux.....	41
I.2.3.3. Procédé expérimental.....	41
a) Etude de l'effet des extraits sur les glycosidases intestinales.....	41
b) Etude de l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur le transport intestinal du glucose.....	41
I.2.4. Etude de l'effet des extraits étudiés sur l' α glucosidase in vitro.....	42
I.2.4.1. Préparation des solutions.....	42
I.2.4.2. Procédé expérimental.....	42
I.3. Analyse statistique.....	42

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion.....	43
II.1 Rendement de l'extraction des huiles des graines de <i>Nigella sativa</i>	43
II.1.1 Rendement des graines en huile fixe.....	43
II.1.2.Teneur en huiles polaires et neutres de l'huile des graines de <i>Nigella sativa</i>	43
II.2. Dosage des paramètres biochimiques des animaux.....	44
II.2.1. Evolution de la glycémie.....	44
II.2.1.1.Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile totale.....	44
II.2.1.2. Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile polaire.....	46

II.2.1.3. Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l’huile neutre.....	46
II.2.1.4. Evolution de la glycémie chez les rats traités par la métformine.....	48
II.2.1.5. Evolution de la glycémie chez les rats traités par la thymoquinone.....	49
II.2.2. Evolution de la concentration du cholestérol plasmatique.....	51
II.2.2.1. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l’huile totale.....	51
II.2.2.2. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l’huile polaire.....	52
II.2.2.3. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l’huile neutre.....	53
II.2.2.4. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par la métformine.....	54
II.2.2.5. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par la thymoquinone.....	54
II.2.3. Evolution de la concentration des triglycérides.....	55
II.2.3.1. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l’huile totale.....	55
II.2.3.2. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l’huile polaire.....	56
II.2.3.3. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l’huile neutre.....	57
II.2.3.4. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par la métformine.....	58
II.2.3.5. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par la thymoquinone.....	59
II.3. Evolution pondérale.....	60
II.3.1. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l’huile totale.....	61
II.3.2. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l’huile polaire.....	61
II.3.3. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l’huile neutre.....	62
II.3.4. Evolution du poids des rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	63
II.3.5. Evolution du poids des rats diabétiques traités par la métformine.....	64
II.4. Quantité de la nourriture consommée par les rats.....	64
II.4.1. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par les huiles fixes des graines de la <i>Nigella sativa</i>	65
II.4.2. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la métformine.....	66
II.4.3. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la thymoquinone.....	67
II.5. Volume d’eau consommée par les rats.....	68

II.5.1. Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par les extraits des graines de <i>Nigella sativa</i>	68
II.5.2. Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par la métformine.....	70
II.6. Etude de la glycémie post prandial.....	71
II.6.1. Effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post prandial.....	71
A) Effet de l'huile neutre et polaire sur les glycosidases intestinales.....	71
B) Etude de l'effet inhibiteur des extraits sur le transport intestinal de glucose.....	72
C) Action de l'huile neutre et de l'huile polaire sur l'activité de l'alpha glucoside.....	74
II.7. Discussion générale.....	75
Conclusion et perspectives	78
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

La prévalence du diabète dans le monde était estimée à 2.8% en 2000, avec un nombre de 171 millions de diabétiques. L'évolution prévue est de 366 millions de diabétiques en 2030, représentant environ 4.4% de la population mondiale (**Wild et al., 2004**).

La progression du diabète revêt actuellement une allure pandémique, cette évolution accélérée touche les pays industrialisés et les pays en voie du développement, du fait d'une urbanisation croissante, d'une occidentalisation du mode de vie et de vieillissement de la population, surtout pour le diabète de type 2 (**Guillausseau et al., 2003**).

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**Peter-Riesch et al., 2002**).

Depuis le temps ancien, le remède végétal a été largement utilisé pour aider à soigner le diabète ; plus de 1000 plantes différentes, ont été décrites comme un traitement traditionnel du diabète. Parmi toutes les plantes testées in vitro, 80% sont potentiellement antidiabétiques (**Oubré et al., 1997**).

La graine de *Nigella sativa*, utilisée depuis plusieurs siècles contre plusieurs pathologies humaines, telles que : l'asthme, les inflammations, la toux, l'eczéma et les états grippaux, est l'une des plantes les plus utilisées dans le traitement du diabète (**Ghedira, 2006**).

Plusieurs études sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, ont montré que l'extrait total de la graine de *Nigella sativa* possède un effet hypoglycémiant sur la glycémie à jeun, dont le mécanisme d'action est toujours mal compris (**Hawsawi et al., 2001; Zaoui et al., 2002**). Tandis que, très peu d'étude ont été réalisées sur l'effet de ces extraits sur la glycémie post prandiale (**Meddah et al. 2009**).

La présente étude, consiste en premier lieu, à tester l'effet antidiabétique des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, en second lieu, tester l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post prandiale.

Partie bibliographique

Chapitre I
Matériel végétal

I.1. Les plantes et la médecine

L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. En Mésopotamie, des plaques de roche sur lesquelles est inscrit l'usage de quelques plantes médicinales ont été découvertes dernièrement, leur âge remonte à 2600 années avant Jésus Christ (**Gurib-Fakim, 2006**).

L'Homme, poussé par sa curiosité, fut tenté de goûter à tout ce qui lui tombait sous la main, s'exposant ainsi à de cuisantes confrontations aux immenses pouvoirs de créatures végétales apparemment inoffensives.

Les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques telles que les tanins, les glucosides, les mucilages, les flavonoïdes, les saponines, les résines, les gommes...etc. et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir. Nos ancêtres nous ont légué une longue chaîne de savoirs traditionnels dont l'ensemble constitue la médecine traditionnelle actuelle (**Eddouks *et al.*, 2007**).

Les plantes médicinales représentent une alternative thérapeutique, un choix plus sûr, ou dans certains cas, le seul traitement efficace. Les gens de différentes cultures et régions, utilisent les mêmes plantes pour des problèmes de santé similaires. Un très grand nombre de ces plantes et leurs constituants, ont montré des effets thérapeutiques très bénéfiques, tels que l'effet antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreux, et immunomodulateur (**Salem, 2005**).

I.2. Utilisation des plantes médicinales à travers le monde

Actuellement, selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (**Eddouks *et al.*, 2007; Tableau I**).

Tableau I: Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le monde (Eddouks *et al.*, 2007).

Pays ou région	Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle
<ul style="list-style-type: none"> • Afrique 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisée par 80% de la population locale pour les soins primaires
<ul style="list-style-type: none"> • Australie 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisée par 49% d'adultes
<ul style="list-style-type: none"> • Chine 	<ul style="list-style-type: none"> • Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 95% des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle.
<ul style="list-style-type: none"> • Inde 	<ul style="list-style-type: none"> • Largement utilisée. 2 860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle.
<ul style="list-style-type: none"> • Indonésie 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisée par 40% de la population totale et 70% de la population rurale
<ul style="list-style-type: none"> • Japon 	<ul style="list-style-type: none"> • 72% des médecins pratiquent la médecine traditionnelle.
<ul style="list-style-type: none"> • Thaïlande 	<ul style="list-style-type: none"> • Intégrée dans 1 120 centres hospitaliers.
<ul style="list-style-type: none"> • Vietnam 	<ul style="list-style-type: none"> • Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 30% de la population se soignent par la médecine traditionnelle.
<ul style="list-style-type: none"> • Pays occidentaux 	
<ul style="list-style-type: none"> <ul style="list-style-type: none"> * France 	<ul style="list-style-type: none"> • 75% de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois.
<ul style="list-style-type: none"> <ul style="list-style-type: none"> *Allemagne 	<ul style="list-style-type: none"> • 77% des cliniques pratiquent l'acupuncture.
<ul style="list-style-type: none"> <ul style="list-style-type: none"> * Etats-Unis 	<ul style="list-style-type: none"> • 29 à 42% de la population utilisent la médecine complémentaire.

I.3. La plante *Nigella sativa* L.

I.3.1. Historique

Nigella sativa L. découverte sur la tombe de Toutankhamon était considérée par les égyptiens de l'antiquité comme une panacée. Chez les grecs anciens (Hippocrate et Galien), la *Nigella sativa* était considérée comme un remède précieux dans le traitement des affections hépatiques et digestives. *Nigella sativa* est une plante d'un grand intérêt médical, elle appartient à la famille des ranunculacées et cultivées dans différents pays surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde. L'appellation de cette plante, qui fleurit en juin/juillet, est verte avant maturation et brunâtre après, revient au nom latin "Nigellus" qui signifie noir reflétant la couleur noire des graines (**Ghedira, 2006**).

Les romains qui avaient connaissance de la nigelle ou "coriandre grecque", la considéraient comme complément alimentaire. Dans la bible, la *Nigella sativa* est identifiée comme étant "le cumin noire curatif". Par ailleurs, et pour l'école arabe de médecine notamment pour Avicenne, auteur de canon de la médecine, la *Nigella sativa* est un stimulant de l'énergie de l'organisme et aide à la récupération en cas de fatigue ou d'abattement (**Ghedira, 2006**).

La plante, décrite et identifiée pour la première fois par Linnaeus en 1753 (**El Tahir et Bakeet, 2006**) est connue encore par plusieurs appellations; nigelle, cumin noir, poivre, tout épices, quatre épices, sinoj, kamun assouad, habat el-baraka, el-haba el-saouda ...etc.

Par leur nature aromatique, les graines de *Nigella sativa* sont très utilisées comme épices de cuisson, dans les préparations des sirops, en pâtisserie et boulangerie et récemment en industrie pharmaceutique (**Atta, 2003**). Boukhari auteur de la médecine prophétique, cite le prophète Mohammed (que la prière et le salut d'Allah soient sur lui) "soignez vous en utilisant la graine de la nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort" (**Ghedira, 2006**).

I.3.2. Aspect botanique

La *Nigella sativa* est une plante annuelle herbacée, atteignant 30 à 60cm de haut, les fleurs sont petites à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes, et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle. Les feuilles pennatiséquées et à lobes étroits, sont lancéolés à linéaire et présentent des onglets nectarifères (**Benkaci-Ali et al., 2007**). La *Nigella sativa* produit après reproduction des capsules de fruits, formée de 3 à 6 carpelles

soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants, contenant des graines blanches de forme angulaire de 1 à 5mm de long (**Figure 1**). Une fois la capsule de fruit devient mûre, elle s'ouvre, et les graines s'exposent à l'air et deviennent noires (**Bonnier, 1990; Salem, 2005**).

I.3.3. Présentation et description des graines de la plante *Nigella sativa*

La graine de *Nigella sativa* est connue sous plusieurs noms : *Kalonji* en Hindi, *Kezah* en hébreu, *Charnuchka* en russe, *Habbat albaraka*, *Sanounj*, *Habba sawda* en arabe et *black caraway* ou *black seed* en anglais. C'est une graine ovoïde de 2 à 3,5mm de long, de couleur noir mat, présentant 3 à 4 angles. La face supérieure est finement granuleuse et réticulée. Elle a une odeur fortement aromatique lorsqu'elle est broyée, rappelant celle de l'anis ou de la noix de muscade et une saveur d'abord légèrement amère, puis épicée et un peu âpre (**Zohary and Hopf, 2000**).

I.3.4. La plante *Nigella sativa* et ses graines en médecine traditionnelle

La *Nigella sativa* (**Figure 1**), est une plante médicinale, utilisée depuis plusieurs siècles contre diverses pathologies humaines (**Michelitsch et al., 2004**). C'est une plante annuelle dicotylédone, appartenant à la famille des *Ranunculaceae* (**Khan et al., 2003a**). Elle est cultivée surtout dans les régions méditerranéennes et les pays asiatiques (**El-Dakhkhny et al., 2002**). Au sud d'Asie, elle s'appelle "kalonji", son nom arabe est "Habat assawda", et dans la littérature anglo-saxonne, elle est connue sous le nom "black cumin" (**Mahmood et al., 2003**). Les graines de *Nigella sativa* sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement et la prévention de nombreuses maladies, en raison de ses diverses activités thérapeutiques telle que : l'activité anti-tumorale (**Musa et al., 2004**), anti-inflammatoire (**Hajhashemi et al., 2004**), antimicrobienne et antioxydante (**Singh et al., 2005**). Les graines de *Nigella sativa* sont aussi utilisées pour des fins culinaires. Bien que toutes ces potentialités ne sont pas encore concrétisées, de nombreux travaux soutiennent l'utilisation possible de la *Nigella sativa* en thérapeutique (**Ghedira, 2006**).

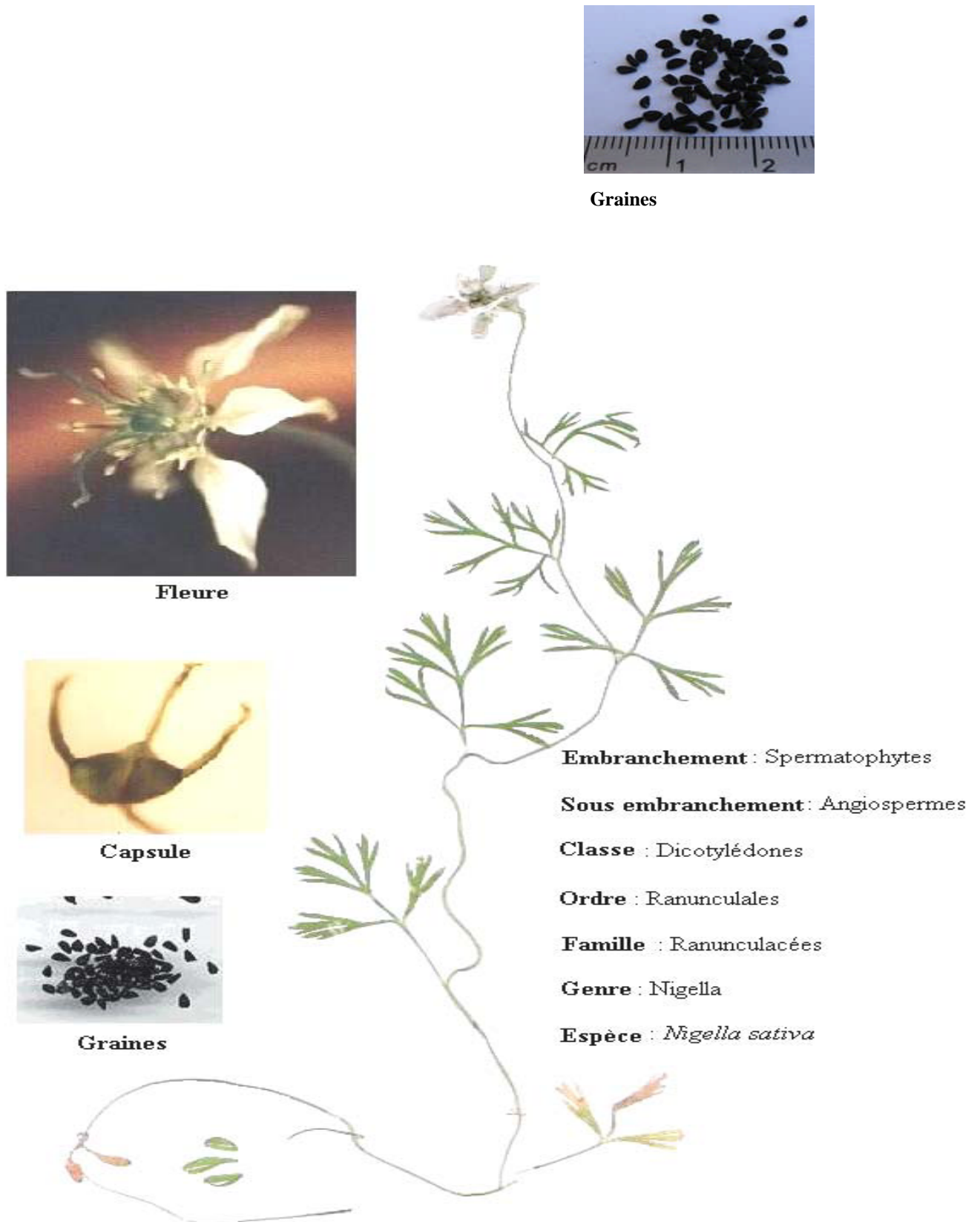


Figure 1 : Aspects morphologiques et classification botanique de *Nigella sativa* L
(Boudiaf, 2006 ; la classification est d'après Zohar et Hodf, 2000).

I.3.5. Composition chimique de la graine de *Nigella sativa*

La composition chimique des graines de *Nigella sativa*, est riche et diverse. Les principaux constituants de cette graine tels que les alcaloïdes, les huiles fixes, les huiles volatiles et les protéines ont été identifiés (Kokdil *et al.*, 2005). Les analyses physicochimiques ont montré que les graines de la *Nigella sativa* contiennent 0,4% des huiles volatiles (Al-Salah *et al.*, 2006), 39,7 à 52,5% d'huiles fixes (Ashraf *et al.*, 2006), 22,7% de protéines (Al-Gaby, 1998) et 23,5 à 33% de glucides (Cheikh-Rouhou *et al.*, 2007) et d'autre composés tels que les alcaloïdes et les saponins (Hosseinzadeh et Parvardeh, 2004) (Tableau II). La teneur des constituants de ces graines varie selon les conditions géographiques et climatiques, ainsi que les méthodes d'études (extraction et détection).

Tableau II: Composition chimique générale de la graine de *Nigella sativa*

Constituants	Poids (%)
Huiles fixes	39,7- 52,5 (Ashraf <i>et al.</i> , 2006)
Protéines	22,7 (Al-Gaby, 1998)
Carbohydrates	33-34 (Cheikh-Rouhou <i>et al.</i> , 2007)
Huiles essentielles	0,4 (Al-Salah <i>et al.</i> , 2006)
Minéraux	5,1 (Ashraf <i>et al.</i> , 2006)

I.3.5.1. Les huiles des graines de *Nigella sativa*

I.3.5.1.1. Les huiles fixes des graines de *Nigella sativa*

Les graines de *Nigella sativa* contiennent 39,7 à 52,5% d'huiles fixes (Ashraf *et al.*, 2006). La séparation par chromatographie sur colonne de ces lipides montre deux types ; des lipides neutres avec un taux de 96 à 97% et des lipides polaires avec un taux de 3 à 4% (Ramadan et Morsel, 2002a).

I.3.5.1.1.1. Composition chimique de l'huile polaire des graines de *Nigella sativa*

L'huile polaire de la graine de *Nigella sativa* est constituée essentiellement de glycolipides et de phospholipides. L'analyse par HPLC des phospholipides des graines de la *Nigella Sativa* montre sept fractions : phosphatidylcholine (46-48% de tous les phospholipides), suivie de : phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, et le phosphatidylinositol, respectivement. Le phosphatidylglycerol, lysophosphatidylethanolamine

et lysophosphatidylcholine ont été isolés à des quantités très faibles. (**Ramadan et Morsel, 2002a**).

L'analyse des glycolipides de la graine de *Nigella Sativa* par HPLC montre qu'il existe 6 sous-classes de glycolipides; séparés selon leurs polarités du plus polaire au moins polaire, en: ASG (glucoside steryl acylé), MGD (monogalactosyldiacylglycerol), SG (steryl glucoside), CER (cérébroside), DGD (digalactosyldiacylglycerol) et SQD (sulfoquinovosyldiacylglycerol). (**Ramadan et Morsel, 2003**).

I.3.5.1.1.2. Composition chimique de l'huile neutre des graines de *Nigella sativa*

L'analyse de l'huile neutre de la graine de la *Nigella sativa* par HPLC, montre qu'elle est constituée de 83,1% de triacylglycerol, 0,65% de diacylglycerol, 0,41% de monoacylglycerol et de 14,3% d'acides gras libres (**Ramadan et Morsel, 2002b**).

I.3.5.1.1.3. Les acides gras de l'huile fixe de la graine de la *Nigella sativa*

Les acides gras qui constituent les huiles fixes des graines de la *Nigella sativa* sont au nombre de huit (**Tableau III**). Les principaux acides gras présents sont: l'acide linoléique (55,6%), l'acide oléique (23,4%) et l'acide palmitique (12,5%) (**Nickavar et al., 2003**).

Tableau III: Composition en acides gras des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* (Nickavar et al., 2003)

Acides gras		Pourcentage (%)
Acide laurique	12 : 0	0,6
Acide myristique	14 : 0	0,5
Acide palmitique	16 : 0	12,5
Acide stéarique	18 : 0	3,4
Acide oléique	18 : 1	23,4
Acide linoléique	18 : 2	55,6
Acide linoléique	18 : 3	0,4
Acide eicosadiénoïque	20 : 2	3,1

I.3.5.1.1.4. Les effets thérapeutiques de l'huile fixe des graines de la *Nigella sativa*

L'huile fixe de la graine de *Nigella sativa* possède plusieurs effets thérapeutiques. Des études très récentes ont montré que cette huile possède une activité antioxydante et antiépileptique (**Ilhan et al., 2005**), anti-inflammatoire (**Mahmood et al., 2003**),

anticoagulante (Al-jishi et Abu Hozafa, 2003), elle réduit la cholestérolémie, améliore la fonction cérébrale, et possède un effet hépatoprotecteur (Ramadan et Morsel, 2002b). Elle induit également une diminution des taux sanguins de cholestérol, de triglycérides et de glucose (Ghedira, 2006).

I.3.5.1.2. L'huile essentielle des graines de *Nigella sativa*

L'huile essentielle de la graine de *Nigella sativa* représente 0,4% du poids de la graine (Al-Salah et al., 2006) et entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe (Benkaci-Ali et al., 2007). Les composés majeurs de ces huiles sont: *p*-cymene (36,2%), la thymoquinone (11,27%), α -thujene (10,03%), longifolene (6,32%), β -pinene (3,78%), α -pinene (3,33%) et le carvacrol (2,12%) (Singh et al., 2005) (Tableau IV).

Tableau IV : Composition chimique en huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* (Singh et al., 2005)

Composés	%	Composés	%
α -Thujene	10,03	<i>p</i> -Cymen-8-ol	0,09
α -Pinene	3,33	α -Terpineol	0,08
2,4(10)-Thujadiene	0,06	4,5-Epoxy-1-isopropyl-4-methyl-1-	0,85
Camphene	0,06	Cyclohexene	
Sabinene	1,34	Carvone	0,16
β -Pinene	3,78	Thymoquinone	11,27
α -Terpinene	0,47	Bornyl acetate	0,44
<i>p</i> -Cymene	36,20	<i>trans</i> -Anethole	0,61
Limonene	1,76	2-Undecanone	0,09
,8-Cineole tr γ -Terpinene	10,16	Thymol	0,13
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	0,22	Carvacrol	2,12
Terpinolene	0,06	α -Longipinene	1,54
Unidentified A	1,61	Longicyclene	0,06
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	0,19	Longifolene	6,32
Linalool	0,10	β -Caryophyllene	0,07
Unidentified B	11,71	2-Tridecanone	0,10
Terpinen-1-ol	0,19	β -Bisabolene	0,07
Camphor	0,11	Epizonaren	0,10
Ethanone-1-(1,4-dimethyl-3-	2,37	Sesquiterpene alcohol acetate	0,19
Terpinen-4-ol)		Pimara-8(14),15-diene	0,20

I.3.5.1.2.1. Effets thérapeutiques des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*

Les huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* possèdent plusieurs effets thérapeutiques. Ce sont des composés analgésiques et anti-inflammatoire (Hajhashemi *et al.*, 2004), elles diminuent la cholestérolémie et la glycémie (Mai Le *et al.*, 2004) et possèdent une activité anti-tumorales (Salem, 2005), et une activité antioxydante et antibactérienne (Ashraf *et al.*, 2006). Elles sont également anti-hypertensives (Aboul-Ela, 2002).

I.3.5.1.2.2. La thymoquinone

La thymoquinone est l'un des composés les plus actifs des huiles volatiles des graines de *Nigella sativa* (Ghedira, 2006).

a) Structure et fonction

La thymoquinone (2-isopropyl-5-methyl-1, 4-benzoquinone), un monoterpène qui représente le composé majeur des huiles volatiles de la graine de *Nigella sativa* L (18,4% à 24%) (Arslan *et al.*, 2005), elle est extraite pour la première fois par El-Dakhakhany en 1963 (Gali-muhtasib *et al.*, 2006). Plusieurs propriétés pharmacologiques des graines de *Nigella sativa* sont attribuées à la thymoquinone, (Michelitsch et Rittmannsberger, 2003). Des études très récentes ont déterminé la structure de la thymoquinone (pagola *et al.*, 2003) et les différents effets thérapeutiques de ce composé (El-Mahmoudy *et al.*, 2002., Badary *et al.*, 2007., El Gazzar *et al.*, 2007.,).

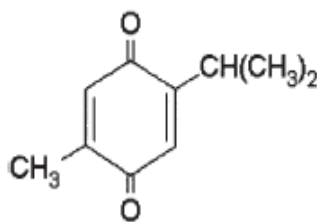


Figure 2 : Structure chimique de la thymoquinone (2-isopropyl-5-méthyl-1, 4-benzoquinone) (El Mahdy *et al.*, 2005).

b) Effet thérapeutique

La thymoquinone est sujette à plusieurs investigations pharmacologiques, dont on a révélé son action antioxydante et gastro-protectrice (El-Abhar *et al.*, 2003) et son effet anti-tumoral (Shoieb *et al.*, 2003) et anti-inflammatoire (Hajhashemi *et al.*, 2004). Des études sur des modèles animaux, ont montré l'effet anti-hypertensif (Khattab et Nagi, 2007), hépatoprotecteur (Al-Jishi et Abuo Hozafa, 2003), antiallergique (El Gazzar *et al.*, 2006),

broncho-dilatateur (Isik *et al.*, 2005) et antidiabétique de la thymoquinone (Hawsawi *et al.*, 2001).

La thymoquinone est un agent anti-néoplasique. Elle inhibe la croissance des cellules du cancer du colon (Gali Muhtassib *et al.*, 2004) et de plusieurs autres lignées de cellules tumorales (Shoieb *et al.*, 2003). Cette action implique l'arrêt du cycle cellulaire ainsi que l'induction de l'apoptose. L'induction de l'apoptose, par la thymoquinone, est associée à une augmentation de l'expression de la P53 et ses gènes cibles. Khan et ses collaborateurs (2003) ont montré que *Nigella sativa* est un agent chimiopréventif puissant. Ils ont suggéré que cette propriété est due à l'action de la thymoquinone, du nigellone et de l' α -limonène, via leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires couplées à l'activation du processus de détoxification.

La thymoquinone protège également contre la protéinurie et l'hyperlipémie associées aux syndromes néphropathiques (Badary *et al.*, 2000).

I.3.5.1.3. Les alcaloïdes des graines de *Nigella sativa*

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés à partir des graines de *Nigella sativa* dont les plus importants; la nigellicine (Atta-Ur-Rahman *et al.*, 1985a) et la nigellidine, ayant un noyau indazol (Atta-Ur-Rahman *et al.*, 1995; El Tahir et Bakeet, 2006), les isoquinones nigellimine (Atta-Ur-Rahman *et al.*, 1992) et les alcaloïdes diterpènes Dollabllane-types nigellamines A1, A2, B1, B2 (Morikawa *et al.*, 2004a), A3, A4, A5, et C (Morikawa *et al.*, 2004b).

I.3.5.1.4. Autres composés des graines de *Nigella sativa*

Les graines de *Nigella sativa* contiennent d'autres constituants notamment des éléments minéraux tels que le Ca, Na, K, Mg, Fe, Zn, Ni, Cu et le Mn (Ashraf *et al.*, 2006) et des composés nutritionnels tels que, les carbohydrates, vitamines, et des protéines avec huit acides aminés essentiels des neuf existants. Les monosaccharides comme le glucose, le rhamnose, le xylose et l'arabinose sont aussi présents dans la graine de *Nigella sativa* (Salem, 2005).

Ramadan et Morsel (2002c) ont analysé les vitamines liposolubles de *Nigella sativa* et ont pu identifier toutes les classes des tocophérols dans l'huile. Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l' α -tocophérol (48%) et du

γ -tocophérol (28%). Ces chercheurs ont pu également identifier d'autres vitamines liposolubles ; la β -carotène (0,05%) et la vitamine K1 (0,1%).

Les graines de *Nigella sativa* contiennent également des flavonoïdes ; la quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside, kaempférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside et quercétine 3- (6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside (Merfort *et al.*, 1997).

L'étude des protéines et acides aminés a révélé que les graines de *Nigella sativa* contiennent environ 16% de protéines avec dominance, dans leur composition, de l'acide glutamique (22,4%), d'acide aspartique (10,05%) et d'arginine (9,18%) (Al-Gaby, 1998).

I.3.6. Effets thérapeutiques des graines de *Nigella sativa*

Récemment, des recherches *in vivo* et *in vitro* ont montré que les extraits des graines de *Nigella sativa* possèdent plusieurs effets thérapeutiques, tels que l'effet immunostimulant, antibactérien, hypotensif, hèpatoprotecteur, antidiabétique (Kanter *et al.*, 2005), antioxydant, bronchodilatateur (Kanter *et al.*, 2006) et antispasmodique (Tacruri et Dameh, 1998). Les graines de *Nigella sativa* sont utilisées dans le traitement de la migraine, le rhumatisme, l'obésité, les problèmes gastro-intestinaux (Khan *et al.*, 2003b) l'asthme et d'autres problèmes respiratoires (Büyükköztürk *et al.* 2005). Les extraits des graines de *Nigella sativa* possèdent d'autres activités telles que : l'activité anti-inflammatoire, diurétique, vermifuge et lactogène (Al-Naggar *et al.* 2003).

I.3.6.1. Activité anti-inflammatoire

Les graines de *Nigella sativa* contiennent la thymoquinone et son polymère carbonyle nigellone. Ces composés inhibent les voies de la cyclooxygénase et de la 5-lipooxygénase (Houghton *et al.*, 1995., El-Dakhahny *et al.*, 2002) qui participent dans le métabolisme de l'acide arachidonique et catalysent la formation des médiateurs inflammatoires. L'activité de l'huile fixe sur ces deux enzymes est plus importante que la thymoquinone elle même ; l'activité anti-inflammatoire n'est pas donc entièrement due à la présence de la thymoquinone ; des acides gras insaturés de type C₂₀:2 semblent être impliqués (Houghton *et al.*, 1995).

La graine de *Nigella sativa* renforce le système immunitaire ; elle stimule la production du TNF- α et la prolifération des lymphocytes en culture (Haq *et al.*, 1999), stimule la production de l'INF- γ et la prolifération des macrophages et des lymphocytes T4 *in*

vivo (Salem et Hussain, 2000). Elle stimule également la production de l'IL-3 par les lymphocytes humaines en culture et la production de l'IL-1 β (Haq *et al.*, 1995) et améliore l'activité phagocytaire des macrophages par action directe ou *via* l'activation des lymphocytes (Fararh *et al.*, 2004).

La graine de *Nigella sativa* a été traditionnellement utilisée dans le traitement des maladies allergiques (Büyüköztürk *et al.*, 2005). Ses extraits peuvent être impliqués dans l'inhibition de la libération d'histamine des mastocytes activés, par diminution du taux du calcium intracellulaire et inhibition de la protéine kinase C (PKC) (Chakravarty, 1993).

I.3.6.2. Activité antibactérienne

L'huile de la graine de *Nigella sativa* possède une activité anti-bactérienne remarquable; son pouvoir inhibiteur sur une vingtaine de souches de *Listeria monocytogenes* était plus efficace que l'antibiotique gentamicine (Nair *et al.*, 2005). L'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* inhibe la croissance du champignon responsable de la candidose chez les souris (Khan *et al.*, 2003a), ceci peut probablement être dû à un effet indirect en stimulant le système immunitaire et en améliorant la défense antibactérienne.

I.3.6.3. Effet gastroprotecteur

L'huile des graines de *Nigella sativa* exerce un effet protecteur contre l'ulcère gastrique induit chez les rats (El-Dakhkhny *et al.*, 2000b). Cette action est couplée à une augmentation du contenu en mucine (agent cytoprotecteur) et/ou à une réduction du facteur agressif (histamine). Cette huile ainsi que la thymoquinone protègent contre les lésions gastriques, induites par le processus d'ischémie-réperfusion, par leur pouvoir anti-radicalaire (El-Abhar, 2003). L'extrait alcoolique des graines de *Nigella sativa* présente également une activité antiulcéreuse qui a été attribuée aux flavonoïdes présents dans cet extrait (Raj Kapoor *et al.*, 2002).

I.3.6.4. Effet broncho-dilatateur

El-Tahir et ses collaborateurs (1993) ont montré que l'huile des graines de *Nigella sativa* augmente le taux respiratoire et que la thymoquinone est responsable de l'augmentation de la pression intra-trachéale. Un effet relâchant puissant sur la chaîne trachéale a été également exercé par les graines de *Nigella sativa* et un effet anti-histaminique a été observé (Boskabady *et al.*, 2004). Gilani et ses collaborateurs (2001) ont montré que l'extrait brut

méthanolique des graines de *Nigella sativa* a un effet spasmolytique et broncho-dilatateur, avec implication probable de bloqueurs des canaux calciques. L'action des graines de *Nigella sativa* sur le système respiratoire est probablement la résultante de plusieurs effets ; cholinergiques (**Boskabady et Shahabi, 1997**), inhibition des récepteur H1 de l'histamine (**Boskabady et Shiravi, 2002**) et antagonisme du calcium (**Gilani et al., 2001, Boskabady et al., 2004**).

I.3.6.5. Action antidiabétique des graines de *Nigella sativa*

La graine de *Nigella sativa*, est utilisée depuis très longtemps dans le traitement du diabète, ses extraits agissent sur différents sites dans l'organisme. Dans le monde arabe elle est préconisée comme un complément antidiabétique, dans le cas du diabète de type 2, (**Houcher et al., 2007**).

Des études sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, ont montré que l'extrait des graines de la *Nigella sativa* réduit la néoglucogenèse et la production hépatique de glucose, la glycolyse au niveau des tissus périphériques, et inhibe la régulation hormonale du métabolisme glucidique par les hormones hyperglycémiantes telles que le glucagon et le cortisol (**Fararh et al. 2004**).

L'administration des huiles volatiles des graines de *Nigella sativa* pour des lapins et des rats diabétiques, induit une diminution significative (23 à 43%) du taux de glucose sanguin, une augmentation du taux de l'insuline dans le sang, et une régénération des cellules β pancréatiques des îlots de Langerhans (**El Tahir et Bakeet, 2006**). La concentration élevée de l'insuline dans le sérum lors d'un traitement avec les extraits des graines de la *Nigella sativa*, résulte d'une stimulation de sa sécrétion (**EL Daly, 1994**).

Au niveau du foie, les extraits des graines de *Nigella sativa* rendent la voie de signalisation intracellulaire plus sensible à l'action de l'insuline (**Mai Le et al., 2004**). Au stade post prandial, l'extrait des graines de *Nigella sativa* diminue le taux de glucose sanguin en inhibant le transport intestinal de glucose (**Meddah et al., 2009**).

De nombreuses études sur l'effet antidiabétique des graines de *Nigella sativa* ont été réalisées. Plusieurs ont prouvé que *Nigella sativa* réduit les taux élevés du glucose chez les animaux normaux (**Hawsawi et al., 2001; Zaoui et al., 2002**) et diabétiques (**Al-Awadi et al., 1991 ; Meral et al., 2001 ; Fararh et al., 2002 ; Kanter et al., 2003a ; Meral et al., 2004**).

Les mécanismes de cette activité ont été investigués par un nombre de chercheurs; l'équipe d'**Al-Awadi (1991)** a testé l'effet d'un mélange de plantes médicinales contenant *Nigella sativa* sur le diabète induit par la streptozotocine chez des rats, et ont suggéré que l'action anti-diabétique (hypoglycémisante) du mélange est extra-pancréatique et qu'elle est, en fait, au moins partiellement due à une diminution de la néoglucogenèse hépatique par diminution de l'activité de la phosphoenolpyruvate carboxykinase et de la pyruvate carboxylase. D'autre part, **Fararh et ses collaborateurs (2002)**, dans leur étude sur l'effet de l'huile de *Nigella sativa* sur le diabète induit par la streptozotocine et nicotinamide chez des hamsters, ont observé une augmentation significative du taux de l'insuline sérique due à l'activation des cellules β du pancréas par l'huile de *Nigella sativa*. Des résultats similaires ont été obtenus par **Kanter et collaborateurs (2003a)** qui ont observé une réduction des taux élevés de glucose, augmentation de l'insuline sérique et une régénération/prolifération partielles des cellules β du pancréas chez des rats diabétiques (diabète induit par la streptozotocine) après traitement par l'huile de *Nigella sativa*. L'effet de *Nigella sativa* sur quelques complications du diabète expérimentalement induit par l'alloxane chez les lapins a été largement investigué par **Meral et son équipe. En 2001**, ils ont étudié l'influence de l'extrait aqueux de la plante sur les peroxydes lipidiques, les antioxydants (glutathion et ceruloplasmine) et le glucose sérique aussi bien que sur l'histologie du foie et du pancréas chez les lapins diabétiques. Ces chercheurs ont trouvé que le traitement pendant deux mois par l'extrait de *Nigella sativa* réduit significativement les concentrations élevées de glucose et des peroxydes lipidiques, améliore la défense antioxydante par augmentation du taux des antioxydants, et protège contre l'endommagement hépatique induit par la peroxydation lipidique (**Meral et al., 2001**).

Chapitre II

Généralités sur le diabète

II.1. Définition

Selon les critères actuels, le diabète sucré est défini par une glycémie plasmatique de 1,26g/l à jeun, ou supérieur à 2g/l quelque soit l'heure du prélèvement en présence de symptômes clinique. Ce diagnostic peut être également posé devant une valeur de 2g/l à la 120^{ème} minute d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) (Rodier, 2001a). La progression du diabète revêt actuellement une allure pandémique, cette évolution accélérée touche les pays industrialisés et les pays en voie du développement, du fait d'une urbanisation croissante, d'une occidentalisation du mode de vie et de vieillissement de la population, surtout pour le diabète de type 2 (Guillausseau *et al.*, 2003). Le diabète sucré conduit à une morbidité et mortalité substantielles sous forme d'atteintes cardiovasculaire, oculaire et rénale, ainsi que d'un risque accru d'amputations (15 fois supérieur à une population non diabétique du même âge). Le diagnostic précoce est d'une importance capitale, puisque environ d'un tiers des patients présentent déjà des complications au moment du diagnostic et ainsi potentiellement des atteintes au niveau des organes cibles (Peter-Riesch *et al.*, 2002).

La prévalence du diabète dans le monde était estimée à 2.8% en 2000, avec un nombre de 171 millions de diabétiques. L'évolution prévue est de 366 millions de diabétiques en 2030, représentant environ 4.4% de la population mondiale (Wild *et al.*, 2004). Jusqu'à présent, les spécialistes ignorent les causes du diabète, ils ne peuvent tirer des conclusions qu'au niveau des facteurs qui jouent un grand rôle dans son apparition, tels que l'hérédité, l'obésité, la grossesse ou encore certaines médicaments.

II.2. Classification étiologique du diabète

La classification du diabète, publiée en 1997 par un groupe d'experts, sous la responsabilité de l'association américaine du diabète (AAD), remplace celle élaborée en 1979 par le 'National Diabètes Data Group'. Cette classification, met en exergue les différences de physiopathologie des diabètes de type 1 et de type 2 (Rodier, 2001a):

II.2.1. Le diabète de type 1, appelé autrefois diabète juvénile, ou encore diabète insulino-dépendant, résulte d'un processus auto-immun sélectif entraînant une inflammation (insulite), puis une destruction des cellules β pancréatiques. Il représente environ 15% de tous les diabètes sucrés (Geenen, 2004).

II.2.2. Le diabète de type 2 correspond à l'ancienne terminologie du diabète non insulino-dépendant; caractérisé par une insulino-résistance dominante associée à une

insulinopénie relative, ou une diminution prédominante de l'insulino-sécrétion associée ou non à une insulino-résistance (**Drouin et al., 1999**).

En plus de ces deux types dominants, il est important de souligner deux autres types de diabètes:

II.2.3. Le diabète spécifique est un ensemble hétérogène d'affections du pancréas, d'endocrinopathies, de diabètes médicamenteux ou chimiques, et d'affections génétiques, en particulier au niveau de la cellule β (**Rodier, 2001a**).

II.2.4. Le diabète gestationnel (DSG), est défini comme une intolérance au glucose de sévérité variable survenant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse (entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine), dont la glycémie ante-gravidique était normale et qui disparaît après l'accouchement. L'incidence du DSG serait de 2.5% des grossesses, avec tendance à l'augmentation (**Trivin et al., 2003**).

II.3. Etiologie du diabète

Les facteurs de risque du diabète sont à la fois intrinsèques et extrinsèques, c'est-à-dire génétique et environnementaux (**Perlemuter et al., 2000**). Des facteurs génétiques, diététiques et environnementaux concourent au développement de cette maladie (**Virally et al., 2007**).

II.3.1. Facteurs génétiques : Le diabète et ses complications ont de puissants déterminants génétiques. Bien que le diabète de type 1 semble être dû à plusieurs facteurs, notamment environnementaux, pratiquement toutes les formes de la condition semblent avoir des influences génétiques. De nombreux gènes sont impliqués, faisant du diabète une condition génétique complexe (**Dubois et Timsit, 2000**). Il existe une prédisposition familiale au diabète de type 1, puisque 6 à 10% des malades ont des antécédents familiaux du diabète au premier degré. La principale région génomique contrôlant cette prédisposition familiale, est celle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), qui joue un rôle central dans les réactions immunes (**Rodier, 2001b**). Pour le diabète de type 2; l'hypothèse de facteurs de susceptibilité génétique repose sur des données épidémiologiques: concordance élevée des paires de jumeaux homozygotes (80 à 90%) contre (40 à 50%) pour les paires hétérozygotes, et une fréquence élevée en présence d'antécédents familiaux (50% si les 2 parents sont atteints ; 25 à 30% pour un parent au premier degré) (**Guillausseau et al., 2003**).

II.3.2. Facteurs diététiques : Chez l'homme, les premiers travaux suggérant l'influence de facteurs nutritionnels sur l'incidence de diabète de type 1, ont montré un lien entre la consommation d'aliments riches en nitrosamines (composé toxique pour les cellules β), en nitrites, ou de nitrates contenus dans l'eau de boisson (**Dubois et Timsit, 2000**). La consommation du lait de vache est également l'un des facteurs nutritionnels contribuant dans l'apparition du diabète de type 1. L'albumine sérique bovine, est considérée comme un facteur déclencheur du mécanisme auto-immun détruisant les cellules β des îlots de Langerhans. En effet, il existe au sein de cette albumine sérique bovine une séquence de 17 acides aminés baptisée ABBOS qui par immunisation, induit la formation d'anticorps capables de se lier à une protéine de surface des cellules β pancréatiques (**Perlemuter et al., 2000**).

II.3.3. Facteurs environnementaux : Il existe un contraste entre les chiffres de prévalence observés au sein d'un même groupe ethnique suivant les conditions de vie. La différence la plus frappante concerne les indiens d'Amérique vivants en Arizona (prévalence supérieure à 50% chez les Pimas) et au Chili (prévalence inférieure à 2%), qu'il s'agit de l'influence de la zone d'habitat à l'intérieur d'un même pays ou des différences entre des migrants et leurs compatriotes demeurés sur la terre natale (**Perlemuter et al., 2000**).

L'environnement *in utero* et durant la première année de la vie semblerait ainsi avoir une certaine influence. Hales et Barker ont montré que les individus qui présentaient un retard de croissance à la naissance évoluaient plus fréquemment vers une intolérance au glucose ou un diabète de type 2 à l'âge adulte. Un apport insuffisant en substrats énergétiques et en acides aminés durant le développement embryonnaire et la première année de la vie altérerait le développement des cellules β et serait responsable d'une réduction de la masse β insulaire et d'un déficit de l'insulino-sécrétion. La dysfonction de la cellule β serait ensuite démasquée à l'âge adulte par l'insulinorésistance liée à l'environnement (excès pondéral, sédentarité, vieillissement) (**Guillausseau et al., 2003**).

II.4. Physiopathologie du diabète

II.4.1. Diabète de type 1 : Le diabète de type 1, qui apparaît le plus souvent chez les personnes jeunes, est la conséquence de la destruction auto-immune progressive des cellules β des Îlots de Langerhans (**Gale, 2001**), il est caractérisé par une carence en insuline qui est le plus souvent totale mais peut être partielle. Cette carence en insuline ne s'exprime cliniquement que quand plus de 90% de l'insulino-sécrétion est abolie (**Perlemuter et al., 2000**). Après plusieurs années d'évolution, et lorsque la masse des cellules β devient insuffisante pour assurer la normoglycémie, les signes cliniques de la maladie apparaissent (polydipsie, polyphagie, polyurie et amaigrissement...).

Les mécanismes moléculaires initiaux qui conduisent à la réaction auto-immune ne sont toujours pas entièrement identifiés (**Giudicelli et Cattan., 2001**). La destruction des cellules β par un processus auto-immun est authentifiée par la présence d'anticorps anticellules d'îlots, anti-insuline, anti-glutamate décarboxylase (GAD) et anti-tyrosine phosphatase IA-2 et IA 2 b (**Drouin et al., 1999**).

II.4.2. Diabète de type 2 : Le diabète de type 2 représente 85 à 90% des diabètes. Il pose un réel problème de santé publique, car sa prévalence augmente parallèlement au vieillissement, à l'urbanisation, à la sédentarisation et au développement de l'obésité dans les populations industrialisées (**Busch-Brafin et Pinget, 2001**).

Le diabète de type 2 dans sa forme commune est une maladie multifactorielle. L'hyperglycémie est due à une réduction du captage du glucose et à une production glucosée hépatique excessive, liées à une diminution de l'insulinosécrétion et de l'insulinosensibilité. Les anomalies de l'insulinosécrétion sont multiples : perte du caractère pulsatile de la sécrétion basale, perte du pic précoce induit par l'administration intraveineuse du glucose, et une réduction progressive de l'insulinosécrétion avec le temps causée par une glucotoxicité et une lipotoxicité. Ce défaut de sécrétion de l'insuline est lié aussi à une mauvaise reconnaissance du glucose comme signal direct et comme agent potentialisateur de l'insulinosécrétion par les cellules β du pancréas (**Virally et al., 2007**).

L'insulinorésistance ou anomalie de l'action de l'insuline en périphérie, est la deuxième anomalie observée dans le diabète. Elle est constante chez le diabétique, indépendamment du statut pondéral du patient. Elle se traduit au niveau hépatique par une

augmentation de la production de glucose et au niveau musculaire, par une diminution de l'utilisation du glucose. Les mécanismes cellulaires de l'insulinorésistance peuvent se situer à différents niveaux : anomalie de liaison de l'insuline à son récepteur, anomalies de la transduction du signal insulinique, anomalies des systèmes effecteurs (transporteurs du glucose, métabolisme intracellulaire du glucose) (**Busch-Brafin et Pinget, 2001**).

80% des diabétiques de type 2 sont obèses ou en surpoids. Une perte ou un gain de poids sont étroitement corrélés à des variations de sensibilité à l'insuline, ce qui constitue un argument fort en faveur d'une relation de cause à effet entre obésité et insulino-résistance. Le tissu adipeux est maintenant considéré comme un organe endocrine, métaboliquement actif, capable de produire des substances modifiant la sensibilité à l'insuline et impliquées dans le syndrome métabolique : acides gras libres, cytokines pro- ou anti-inflammatoires et des adipokines (**Fumeron, 2005**).

II.5. Critères diagnostiques du diabète sucré

Le diagnostic de diabète peut être établi de trois façons différentes :

- 1) Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexpliqué, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure $\geq 2,00\text{g/L}$ ($11,1\text{mmol/l}$).
- 2) Glycémie à jeun $\geq 1,26\text{g/l}$ ($7,00\text{mmol/l}$).
- 3) Glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale $\geq 2,00\text{g/l}$ ($11,1\text{mmol/l}$) (**Drouin et al., 1999**).

II.6. Traitement médicamenteux du diabète sucré

Les progrès en matière de traitement du diabète de type 1 ont été moins spectaculaires ces dernières décennies. Le traitement de ce type du diabète se base essentiellement sur l'insulinothérapie (**Perlemuter et al., 2000**). Les résultats de la transplantation pancréatique chez les patients diabétiques de type 1 sont devenus désormais tout à fait acceptables. Cependant, récemment plus aucun gain en termes de survie du greffon ou du patient n'a été observé. Plusieurs facteurs limitent le succès de la transplantation pancréatique, en particulier la nécessité d'une chirurgie lourde et d'une immunosuppression chronique (**Gillard et al., 2004**).

II.6.1. Insulinothérapie : À chaque repas, le besoin en insuline est multiplié 5 à 10 fois, alors qu'entre les repas et tout particulièrement la nuit, le besoin est faible et régulier. Dans les années 70, les découvertes de la pompe à insuline et du pancréas artificiel permettent de montrer que si on administre l'insuline en quantité régulière entre les repas et la nuit, et en quantité plus importante après chaque repas, on obtient un équilibre glycémique proche de celui d'une personne qui n'a pas de diabète. L'apparition des seringues à insuline jetables, des aiguilles fines et des stylos, des analyseurs glycémiques et des auto-piqueurs, permet de faire les injections beaucoup plus facilement et la surveillance de façon plus efficace (**Robert, 2009**).

II.6.2. Transplantation du pancréas : Bien que le traitement du diabète de type 1 par insulinothérapie permet la diminution de l'incidence de complication tardive, cela se fait au risque d'une augmentation de l'incidence d'hypoglycémie sévère. La seule approche thérapeutique du diabète de type 1 permettant le rétablissement d'un métabolisme insulinique physiologique est la transplantation de cellules productrices d'insuline (cellules β pancréatiques), réalisable actuellement par transplantation soit de pancréas soit d'îlots de Langerhans (**Bucher et al., 2005**). Pour remplacer le pancréas défaillant des diabétiques, la transplantation pancréatique paraît être l'alternative la plus logique. Mais en raison de la lourdeur du geste chirurgical qu'elle représente et de la nécessité d'un traitement immunosuppresseur à long terme, elle ne peut pas être proposée à tous les diabétiques (**Duffas, 2004**).

Le traitement du diabète de type 2 vise à restaurer la sécrétion de l'insuline, ou à diminuer la résistance à son action. Actuellement, on retrouve cinq classes d'agents antidiabétiques oraux que l'on divise en deux groupes : les **hypoglycémifiants** (les sulfonylurées et les analogues des méglitinides) qui agissent en stimulant la libération d'insuline préformée par le pancréas et les **antihyperglycémifiants** (les biguanides, Les thiazolidinediones et les inhibiteurs de l' α glucosidase) qui exercent leur action antidiabétique en empêchant la glycémie d'augmenter sans toutefois la faire chuter (**Scheen, 2007**). L'approche thérapeutique consiste à :

- Stimuler la sécrétion de l'insuline.
- Favoriser l'utilisation périphérique du glucose et diminuer sa production hépatique.
- Réduire la résorption intestinale des hydrates de carbones (**Virally et al., 2007**).

Le GLP-1 (Glucagon-like peptide-1), une hormone peptidique, synthétisée par les cellules de l'intestin grêle et sécrétée juste après le repas (**Kim et al., 2009**) ainsi que ses dérivés (**El-Ouaghli et Nauck 2004**), de même que les inhibiteurs de dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) (**Penforis et al., 2008**) et l'exendin-4, un agoniste du GLP-1, (**Kwak et al., 2009**) sont actuellement utilisés parmi les nouveaux traitements du diabète de type 2.

II.7. Phytothérapie du diabète

Depuis le temps ancien, le remède végétal a été largement utilisé pour aider à soigner le diabète; plus de 1200 plantes différentes, ont été décrites comme un traitement traditionnel du diabète (**Eddouks et al., 2007 ; Tableau II**). Parmi toutes les plantes testées *in vitro*, 80% sont potentiellement antidiabétiques (**Oubré et al., 1997**). De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques, certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments (le biguanide metformine grâce au *Gallega officinalis*).

Dans quelques cas, les plantes médicinales hypoglycémiantes, peuvent stimuler directement la sécrétion de l'insuline, et améliorer son action et sa fixation sur ces récepteurs (**Houcher et al., 2007**). Dans d'autres cas, certaines plantes médicinales hypoglycémiantes induisent la régénération et l'hyperplasie des cellules β pancréatiques (**Kanter et al., 2003**).

Les extraits de quelques plantes, possèdent une action hypoglycémiant soit en imitant l'action de l'insuline, en fournissant des éléments nécessaires au développement de la cellule β pancréatique (Cu^{++} , Mg^{++} , Ca^{++}) ou bien en réduisant l'action de l'insulinase (enzyme qui détruit l'insuline dans le foie) (**Bnouham et al., 2002**). Les études en laboratoire montrent souvent des extraits de plantes agissant sur l'hyperglycémie, ou aussi agissant sur un diabète provoqué chez l'animal par la streptozotocine ou l'alloxane. Il faut aussi rechercher des plantes agissant sur l'hyperglycémie postprandiale.

Des études récentes (**Ali et al., 2006, Meddah et al., 2009**) ont permis de découvrir un certain nombre de plantes qui agissent dès le tube digestif sur l'absorption du sucre au niveau de la barrière intestinale. Parmi les plantes testées, les feuilles de *Tamarindus indica* donnent une inhibition supérieure à 90% de l'absorption intestinale du sucre. Le fruit du pommier, le fruit du poirier, les feuilles de *Vaccinium myrtillus* (myrtille) sont inhibiteurs à plus de 75%. L'extrait de fruit de *Morus rubra*, le péricarpe et l'extrait de péricarpe de *Phaseolus vulgaris* (haricot), la feuille de romarin sont inhibiteurs entre 45 et 75% (**Goetz, 2007**).

L'évaluation de cette source naturelle des composés hypoglycémiant, constitue une voie de recherche pour le développement de nouveaux antidiabétiques (Houcher *et al.*, 2007)

Tableau V: Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète : (Eddouks *et al.*, 2007)

Nom scientifique	Nom commun	Parties utilisées et méthodes de préparation
. <i>Allium cepa</i>	.Oignon cultivé	. Bulbe à l'état cru.
. <i>Allium sativum</i>	.Ail cultivé	. Bulbe à l'état cru.
. <i>Amygdalus communis</i>	.Amandier	.Graines en pâte.
. <i>Brassica oleracea</i>	.Le chou	.Parties aériennes
. <i>Citrus bigardia</i>	.Oranger	. Fruits, fleurs en décoction.
. <i>Citrus limon</i>	.Limettier	. Fruits, fleurs en décoction
. <i>Cucumis sativus</i>	.Concombre	. Fruits.
. <i>Cynara scolymus</i>	.Artichaut	.Racines et capitules en décoction.
. <i>Eucalyptus globulus</i>	.Eucalyptus	.Fleurs, feuilles en décoction.
. <i>Ficus carica</i>	.Figuier	.Fruits en décoction.
. <i>Foeniculum dulce</i>	.Fenouil doux	.Racine, feuilles et fruits en décoction.
. <i>Glycine max</i>	.Soja	.Graine en décoction.
. <i>Morus nigra</i>	.Mûrier noir	.Fruits, feuilles en infusion ou en décoction.
. <i>Nigella sativa</i>	.Graine de nigelle	.Graine en décoction.
. <i>Olea europea</i>	.Olivier	.Feuilles en décoction.
. <i>Olea olearia</i>	.Oléastre	.Feuilles en décoction.
. <i>Opuntia ficus-indica</i>	.Figuier de barbarie	.Fleurs en décoction.
. <i>Punica granatum</i>	.Grenadier.	.Péricarpe en décoction.
. <i>Rubus fruticosus</i>	.Mûrier sauvage (ronce)	.Fleurs, feuilles, fruits en infusion ou en décoction
. <i>Trigonella foenum-graecum</i>	.Fenugrec	.Graine en décoction ou en macération.
. <i>Zingiber officinale</i>	.Gingembre	.Rhizomes en infusion.

Chapitre III

Méthodes d'étude

du diabète expérimental

III.1. Différents modèles animaux disponibles pour la recherche d'antidiabétiques

Souris, rat, cobaye, chien, chat, porc, singes... historiquement, les animaux fournissent depuis très longtemps des modèles d'étude des mécanismes physiologiques mis en jeu dans le développement des diabètes. Aujourd'hui, les expériences menées sur des animaux sont controversées, et sont sujettes à des diverses restrictions légales et éthiques à travers le monde. Des expériences plus objectives sont portées sur les rongeurs, quoique, quelques études restent plus performantes sur d'autres animaux. Des études ont été déjà faites sur des chiens pancréatécotomisés, pour confirmer le rôle central du pancréas dans l'homéostasie de glucose, et qui ont abouti à découvrir et purifier l'insuline (Rees et Alcolado, 2005).

L'installation du diabète chez les modèles animaux peut se faire de différentes façons, soit spontanément, soit par induction chirurgicale, chimique, endocrine, ou par sélection ou génie génétique. Selon la technique employée, on induira un diabète de type 1 ou de type 2 (Masiello, 2006).

III.1.1. Les modèles animaux du diabète spontané

III.1.1.1. Le diabète type 1: La souris *NOD* (non-obèse diabetic) et le rat *BB* (bio breeding) sont les modèles animaux les plus utilisés dans le développement d'un diabète spontané similaire avec le diabète de type 1 humain. Ces animaux ont été développés dans des laboratoires pour de nombreuses générations, puis ils sont sélectionnés par leur hyperglycémie, causée essentiellement par une destruction auto-immune des cellules β pancréatiques (Harada et Makino, 1984).

III.1.1.2. Le diabète type 2 : Le rat *GK* (désigné par les initiales du nom des chercheurs Goto et Kakizaki ayant établi cette lignée), est un exemple du modèle de diabète spontané de type 2, sans obésité associée. Cette lignée de rat a été obtenue par des croisements sélectifs de rats normaux de souche *Wistar*, sélectionnés sur la base d'une légère intolérance au glucose. Ce rongeur reproduit bien les principales caractéristiques du diabète humain de type 2 : hyperproduction de glucose, diminution de la tolérance au glucose, altération de la sécrétion d'insuline, résistance à l'insuline des tissus périphériques (muscles, tissus adipeux...) et perturbation du métabolisme des lipides (Portha, 2003).

Les souris *KK* (kuo kondo), est un modèle animal du diabète de type 2 spontané, avec une obésité associée, produit par élevage sélectif. Ces souris sont caractérisées par leur grande

taille, et présentent une insulino-résistance et une obésité modérée à l'âge de 2 mois, cette obésité atteint son maximum à l'âge de 4 à 5 mois (Srinivasan et Ramarao, 2007).

III.1.2. Diabète induit par pancréatectomie

En 1880, Von Mering et Minkowski ont observé qu'après enlèvement du pancréas du chien, l'animal développe une polyurie et une polydipsie qui sont les principaux symptômes du diabète. Cette expérience a permis de comprendre le rôle central du pancréas, et de découvrir et purifier l'insuline en 1920 (Rees et Alcolado, 2005). Des modèles animaux, pancréatécotomisés partiellement ou totalement, sont utilisés pour l'étude de l'hyperglycémie, et les différentes conséquences qui en résultent, ainsi que le développement des complications du diabète (Harada et Makino, 1984).

III.1.3. Les souris transgéniques

Une amélioration dans le nombre des modèles animaux utilisés pour l'étude de diabète, est réalisée grâce aux techniques de biologie moléculaire. Dans le génome des animaux génétiquement modifiés (transgéniques), certains gènes ont été remplacés ou neutralisés (modèles *knock-out*), cette technique nous permet d'étudier le rôle d'un gène donné durant le développement et la croissance de l'animal (Rees et Alcolado, 2005).

III.1.4. Diabète induit par le régime alimentaire

Il existe d'autres modèles animaux du diabète dont la maladie est induite ni par des substances chimiques, ni par des méthodes génétiques, mais plutôt par la nourriture. La souris *Spiny* (*Acomys cahirinus*) et le rat des sables (*Psammomys obesus*) sont des modèles animaux très importants utilisés dans l'étude d'obésité et de diabète type 2 induit par la nourriture, ils sont normalement des animaux vivants dans des milieux désertiques et ayant un régime alimentaire bien particulier. Un excès de nourriture riche en énergie induit chez la souris *Spiny* une destruction des cellules β pancréatiques (Cefalu, 2006).

III.1.5. Diabète induit par inoculation de virus :

Certaines infections virales peuvent engendrer un diabète, ceci aussi bien chez l'homme que chez l'animal. L'exemple le plus connu est l'infection de la souris par le virus EMC (Encephalomyocarditis), qui entraîne un diabète en pénétrant dans la cellule β pancréatique, l'ADN viral s'intègre dans le génome de la cellule β et provoque une altération des fonctions de ces cellules, notamment au niveau de la synthèse et de la sécrétion d'insuline (Mordes *et al.*, 2004).

III.1.6. Diabète induit par des substances chimiques:

Outre les modèles animaux naturels utilisés dans l'étude de diabète, d'autres naissent de l'application de produits chimiques. L'induction du diabète expérimental chez ces rongeurs, en utilisant des substances chimiques qui détruisent les cellules β pancréatiques, est très pratiquée et simple à réaliser. Les substances chimiques les plus utilisées, pour induire un diabète chez ces rongeurs, sont la streptozotocine et l'alloxane (Szkudelski, 2001).

L'intérêt de ces modèles, est que l'on peut régler le degré d'altération des cellules bêta en fonction de la dose du toxique administrée, tout en reproduisant parfaitement les facteurs pathogènes typiques du diabète, soit le diabète de type 1, lorsque la quasi-totalité des cellules β pancréatiques ont été détruites, ou diabète de type 2, lorsque une petite partie des cellules pancréatiques a été altérée par l'effet du toxique (Arulmozhi *et al.*, 2004).

Récemment, dans les modèles animaux du diabète induit par la streptozotocine, l'injection de cette substance pour l'animal, est précédée par l'injection d'une dose de la nicotinamide, cette dernière protège les cellules β pancréatiques contre l'effet cytotoxique de la streptozotocine, par conséquent les caractéristiques du diabète induit sont similaires à celles du diabète de type 2 humain (Masiello *et al.*, 1998).

III.2. Les substances chimiques utilisées dans l'induction de diabète

Plusieurs toxines, telles que la streptozotocine et l'alloxane, peuvent induire une hyperglycémie chez les animaux. L'utilisation de ces toxines est très séduisante car il est théoriquement possible d'induire un diabète chez n'importe quel modèle animal, quelle que soit sa taille (Srinivasan et Ramarao, 2007).

III.2.1. La Streptozotocine (STZ)

III.2.1.1. Structure: La streptozotocine (STZ) [2-deoxy-2(3-méthyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose ($C_8H_{15}N_3O_7$)], est un antibiotique extrait de *Streptomyces acromogenes*, et antitumoral utilisé dans certains pays en chimiothérapie anti-cancéreuse (adénocarcinome des îlots de Langerhans). Sélectivement toxique pour les cellules β des îlots pancréatiques, la STZ est utilisée dans l'étude du diabète tout en induisant les deux types de la maladie, le diabète de type 1 et le diabète de type 2 (Bennett et Pegg, 1981). La streptozotocine est composée de nitrosamide méthylnitrosourea (MNU) lié au carbone C 2 d'un D-glucose.

Le nitrosamide MNU confère à la streptozotocine la capacité de l'alkylation de l'ADN, tandis que le D-glucose dirige la molécule spécifiquement vers la cellule β pancréatique (Palsamy et Subramanian, 2008).

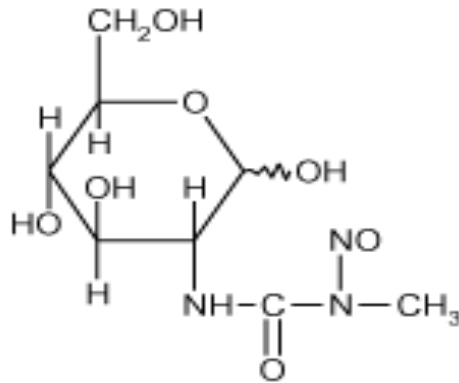


Figure 3 : Structure chimique de la Streptozotocine (Konrad *et al.*, 2001).

III.2.1.2. Action de la streptozotocine sur la cellule β pancréatique : La STZ est captée par la cellule β pancréatique via le transporteur de glucose GLUT2, la réduction de l'expression des transporteurs GLUT2 est un moyen de prévention adopté par la cellule contre l'action diabétogène de la STZ. La STZ détériore l'oxydation de glucose et diminue la biosynthèse et la sécrétion de l'insuline, il est aussi observé que la majeure altération induite par la STZ, est la diminution de la sensibilité de la cellule β au glucose (Szkudelski, 2001).

Parmi les principales actions de ce diabétogène, contribuant dans la destruction de la cellule β pancréatique, est l'alkylation de l'ADN. Cette alkylation est déterminée par la méthylation de la guanine en position O⁶, par conséquent la guanine sera transformée en O⁶ méthylguanine qui s'apparie par erreur avec la thymine (Bolzan et Bianchi, 2002).

La STZ induit également la formation de radicaux libres qui contribuent dans la destruction des cellules β pancréatiques ; après leur formation, ces molécules agissent en synergie avec la STZ pour générer un dommage au niveau de l'ADN (Pavana *et al.*, 2007).

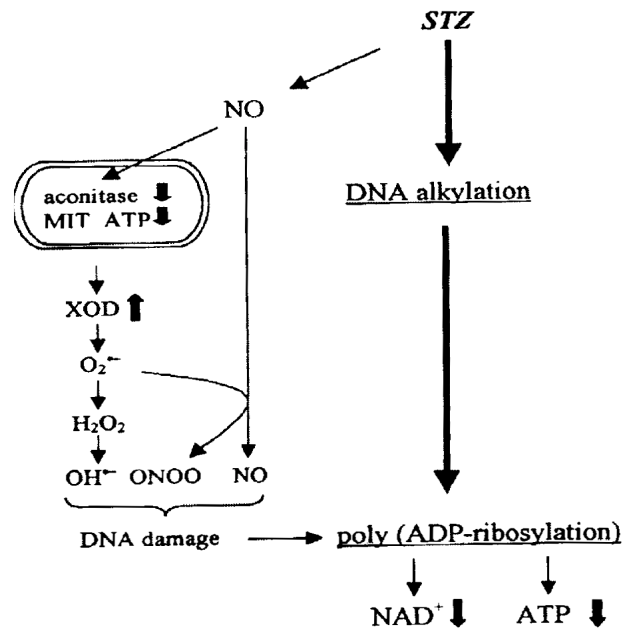


Figure 4 : Mécanisme d'action de la streptozotocine dans la cellule β pancréatique (D'après Szkudelski, 2001).

III.2.2. L'Alloxane

III.2.2.1. Structure : L'alloxane (2,4,5,6 tetraoxypérimidine), est utilisé dans l'induction du diabète de type 1 chez les modèles animaux (souris, rats, ...) (**Sandler et Swenne 1983**).

III.2.2.2. Fonction : L'alloxane exerce une action cytotoxique préférentiellement sur les cellules β pancréatiques, elle s'accumule rapidement dans les cellules hépatiques et pancréatiques, mais très lentement dans les cellules musculaires. La toxicité sélective de l'alloxane pour les cellules β du pancréas, est due à deux facteurs majeurs : la pénétration rapide de l'alloxane dans les cellules β , et la faible activité de la glutathion peroxydase (enzyme qui catalyse la réduction des peroxydes) dans la cellule β pancréatique que dans les autres cellules (**Malaisse et al., 1982**).

Les principales cibles de l'alloxane dans la cellule β pancréatique sont : les transporteurs de glucose (GLUT2) et la glucokinase, empêchant ainsi l'oxydation de glucose et la diminution de la sécrétion de l'insuline ; l'alloxane joue également le rôle d'un puissant générateur de radicaux libres, ces derniers contribuent dans la destruction de la cellule β pancréatique (**Walde et al, 2002**).

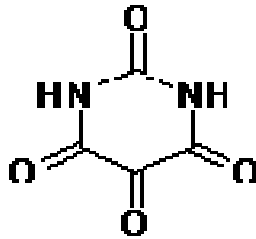


Figure 5 : Structure chimique de l'alloxane (Konrad et al, 2002).

III.2.3. La nicotinamide

III.2.3.1. Structure : La nicotinamide appelée aussi pyridine -3- carboxamide, est un composant de la vitamine B3.

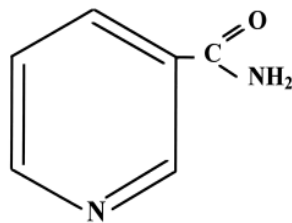


Figure 6 : Structure chimique de la nicotinamide (Rozvadovskaya *et al.*, 2006).

III.2.3.2. Fonction : La nicotinamide offre une certaine protection aux cellules β , contre l'action diabétogène de la streptozotocine et de l'alloxane, et permet de garder l'animal vivant tout en protégeant son pancréas contre une destruction totale (Chang *et al.*, 2002).

Via ces majeures métabolites NAD^+ (Nicotinamide Adenine Dinucleotide), la nicotinamide est impliquée dans différents processus biologiques, tels que la production de l'énergie, synthèse des acides gras (Bhat *et al.*, 1979), transduction du signal (Klein *et al.*, 2009) et le maintien de l'intégrité du génome (Chang *et al.*, 2002).

La nicotinamide prévient le diabète induit par l'alloxane et par la streptozotocine, en augmentant dans la cellule β le taux de NAD^+ qui est diminué de 12% après injection de la streptozotocine.

Plusieurs possibilités ont été proposées pour expliquer l'effet protecteur de nicotinamide dans la cellule β pancréatique :

- Une action antioxydante contre les radicaux libres formés.
- Une action protectrice de la cellule β pancréatique contre les agressions immunitaires (Melo *et al.*, 2000).
- Un effet inhibiteur de la poly-ADP-ribose polymérase (PARP), une enzyme qui intervient dans la réparation de l'ADN tout en consommant le NAD^+ , provoquant ainsi sa déplétion, et une apoptose de la cellule β pancréatique (Olmos *et al.*, 2006).

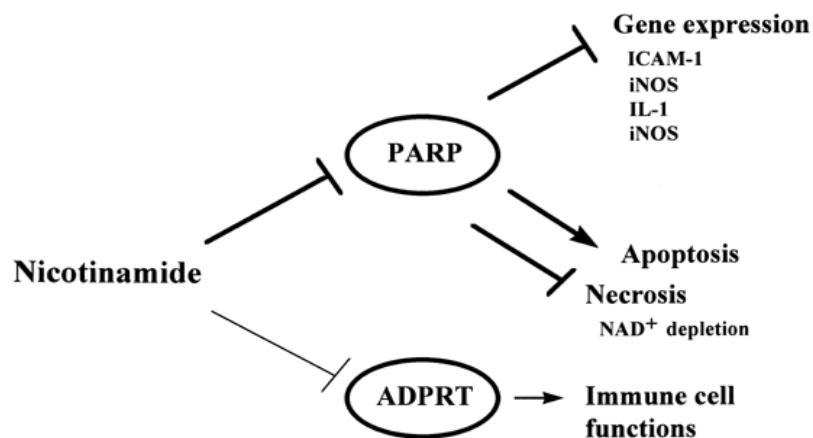


Figure 7 : Les différentes actions possibles de la nicotinamide dans la cellule β pancréatiques

Lorsque l'une des substances (stréptozotocine ou alloxane), est injectée aux rats préalablement traités par la nicotinamide, la poly (ADP ribose) polymérase est inhibée, et presque toutes les voies qui mènent vers la mort cellulaire sont bloquées, et donc l'action diabétogène de la stréptozotocine ou de l'alloxane sera limitée (Yamamoto et Okamoto, 1982).

Partie pratique

Chapitre I

Matériel et méthodes

I. MATERIEL ET METHODES

Notre étude consiste à étudier l'effet antidiabétique de quelques extraits des graines de *Nigella sativa*, testés *in vivo* sur des rats rendus diabétiques par l'effet diabétogène de la streptozotocine, ainsi que leurs actions *in vitro* sur l'enzyme α -glucosidase.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

I.1.1.1. Matériel végétal

Les graines de *Nigella sativa* qui sont d'origine locale et qui sont récoltées en 2007, ont été obtenues à partir d'un centre de vente de semence au niveau de la ville de Bejaia.

I.1.1.2. Réactifs chimiques

Les réactifs et les solvants utilisés dans cette étude sont obtenus au près de Panreac, Chemopharma, et Prolabo. Les autres produits chimiques spécifiques tels que la streptozotocine et la nicotinamide sont de grade recherche et proviennent tous de Sigma. Les antidiabétiques standard (métformine et acarbose) proviennent de Bayer healthCare AG 51368 leverkusen Allemagne, ils ont été procurés d'une pharmacie à la ville de Bejaia. La thymoquinone est obtenue à partir de Acros organics, c'est une fraction de l'huile essentielle (monoterpène) de la graine de *Nigella sativa*.

Les réactifs de dosage des paramètres biochimiques (glucose, cholestérol, triglycérides) provenant de Spinreact, ont été procurés de IDMed (Ifri dent medical), un point de vente des réactifs chimiques à Ighzer Amokrane (Bejaia).

I.1.1.3. Choix des animaux

Cette étude a été réalisée au laboratoire de pharmaco-toxicologie du CRD (centre de recherche et de développement) d'Alger sur des rats femelles *wistar albinos*, ayant un poids variant entre 160 et 225g. Les rats sont reproduits et élevés dans l'animalerie du laboratoire de pharmaco-toxicologie, dans des cages en polypropylène munies d'un porte-étiquette où est mentionné le nom du lot et le traitement subi. Les animaux reçoivent librement de l'aliment standard provenant de l'ONAB de Bejaïa (Office National Des Aliments du Bétail). L'alimentation est constituée d'un mélange de maïs, son, remoulage, soja et CMV (complément minéral vitaminé).

La température de l'animalerie varie entre 25-30°C. Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation n'ont pas été pris en considération. La litière utilisée est la sciure. Elle est renouvelée chaque jour ou chaque deux jour pour tous les groupes de rats.



Figure 8 : Elevage des rats *wistar* albinos au sein de l'animalerie du centre de recherche et développement du Groupe Saidal

I.2. METHODES

I.2.1. Préparation des extraits des graines de *Nigella sativa*

I.2.1.1. Obtention de l'extrait méthanolique par soxhlet

320g de graines de *Nigella sativa* ont été nettoyées, puis broyées par un broyeur électrique. La poudre obtenue, est soumise à une extraction par *soxhlet* (extraction à chaud), en utilisant le méthanol comme solvant. Pour procéder à l'extraction, des cartouches dont chacune contient 40g de poudre de la graine de *Nigella sativa* ont été utilisées, et dans chacune est ajouté 200ml du méthanol, puis la poudre est soumise à une extraction à chaud pendant 4 heures.

A la fin de l'extraction, le méthanol a été éliminé par évaporation à 40°C en utilisant un rotavapor (HB4 BASIC KIKA LABORTECHNIK RV 05-ST). Le composé obtenu après cette procédure est appelé « l'extrait méthanolique » (**Ramadan et Morsel, 2002a**).

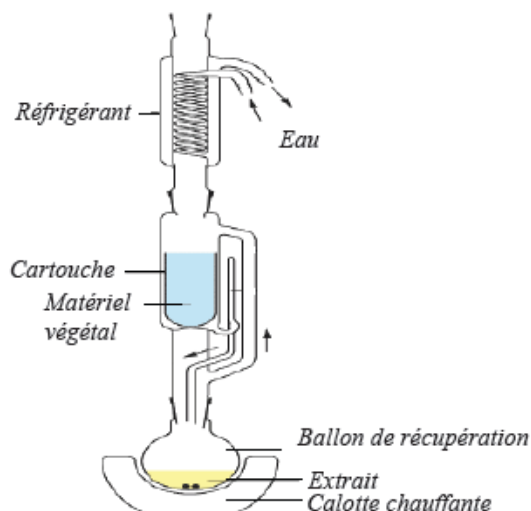


Figure 9 : Système d'extraction au Soxhlet

I.2.1.2. Extraction de l'huile totale à froid

L'extrait méthanolique obtenu, a été mélangé dans une ampoule à décanter avec l'hexane. Après agitation, deux phases ont été obtenues : une phase aqueuse plus dense, et une phase organique, contenant des lipides.

L'extraction des lipides par l'hexane est répétée plusieurs fois, jusqu'à l'épuisement de l'extrait méthanolique. L'hexane est ensuite éliminé par un rotavapor dont la température est réglée à 30°C. L'huile obtenue est de couleur verdâtre, c'est l'huile totale de la graine de *Nigella sativa*.

I.2.1.3. Fractionnement de l'huile totale par chromatographie sur colonne

Le fractionnement de l'huile totale de la graine de *Nigella sativa* obtenue, a été réalisé par chromatographie sur colonne. La colonne utilisée est de 30cm de hauteur et de 30mm de Ø. la phase stationnaire est le gel de silice (60G, 70-230 Mesh, Merck). L'élution des différentes fractions a été faite dans un ordre croissant de polarité grâce à la phase mobile constituée de: chloroforme (300ml), suivi du mélange acétone, méthanol (400ml) (**Ramadan et Morsel, 2002a**).

La colonne de chromatographie a été remplie à moitié de gel de silice solubilisé dans du chloroforme, un petit volume de ce dernier a été ajouté sur la surface du gel afin d'éviter le contact direct du gel avec l'air, l'échantillon est déposé sur la surface du solvant

(chloroforme) qui migre à travers la colonne du gel entraînant avec lui la fraction neutre de l'huile totale.

Après avoir récupéré la fraction neutre de l'huile totale, un mélange de méthanol/acétone (50:50, V/V) a été utilisé pour récupérer la fraction polaire de l'huile totale avec la même procédure. Les composés polaires qui sont restés adsorbés par le gel, ont été récupérés par le mélange méthanol/acide acétique (90 :10, V/V). A la fin de l'élution, deux fractions majeures d'huiles ont été obtenues : une huile neutre de couleur verdâtre et une huile polaire avec une couleur brune. Le protocole d'extraction des huiles fixes des graines de *Nigella sativa* est schématisé sur la **figure 10**.

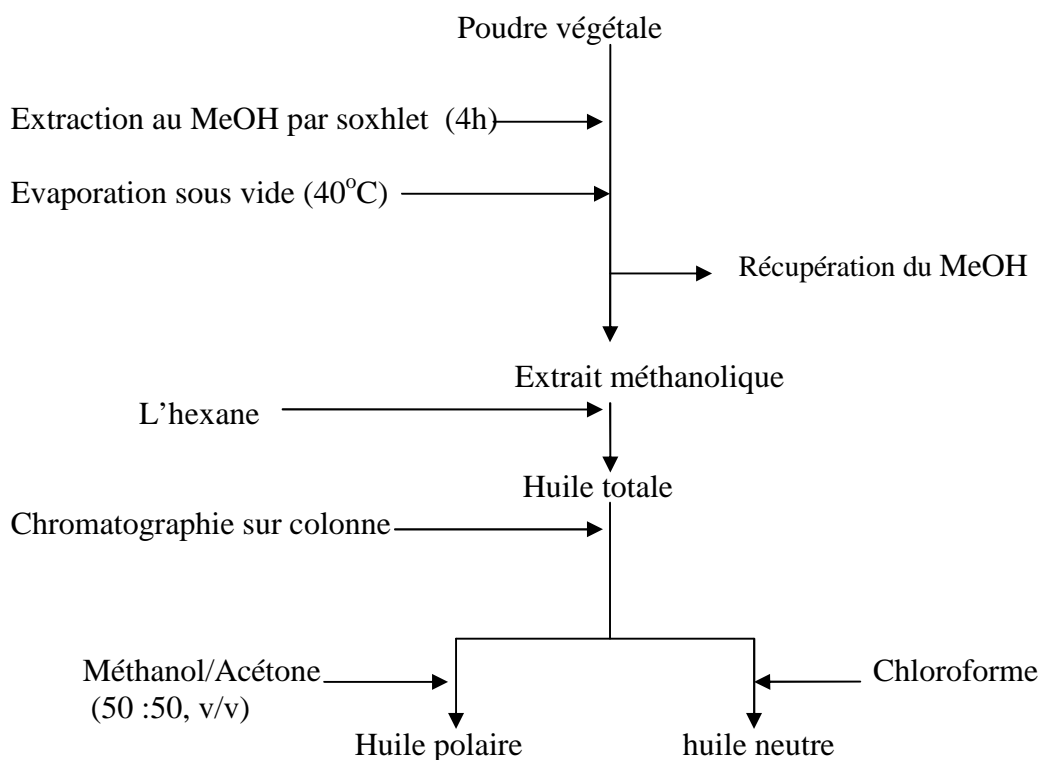


Figure 10 : Différentes étapes d'extraction des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* (Selon un protocole modifié, Ramadan et Morsel, 2002a).

Calcul de rendement : Le rendement de l'extraction de l'huile totale est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$R = \frac{PB}{PA} \times 100$$

R : rendement de l'huile en %.

PB et PA : sont les poids en grammes de l'huile et des graines, respectivement.

I.2.2. Etude de l'effet des extraits de la graine de *Nigella sativa* sur des rats diabétiques

I.2.2.1. Induction du diabète

A fin d'induire un diabète avec une glycémie modérée similaire au diabète de type II, la nicotinamide dissoute dans l'eau physiologique (0.9%), a été administrée par voie intrapéritonéale (230mg/kg) aux rats mis à jeun pendant environ 16 heures. La streptozotocine dissoute dans de l'eau physiologique (0.9%) a été administrée également par voie intrapéritonéale après 15 minutes de l'injection du nicotinamide avec une dose de (65mg/kg) (Masiello *et al*, 1998).

La glycémie des rats a été mesurée après 72 heures de l'injection des deux substances chimiques (streptozotocine et nicotinamide). Les rats ayant une glycémie dépassant 1g/l sont considérés comme étant diabétiques et sont sélectionnés pour la suite de l'étude.



Figure 11 : Injection des substances chimiques par voie intrapéritonéale

I.2.2.2. Répartition des animaux

Les animaux utilisés dans cette étude sont répartis selon l'homogénéité de leur glycémie en 7 lots expérimentaux de 7 animaux chacun : (I) diabétiques non traités (DNT), (II) diabétiques traités par l'huile polaire (DHP), (III) diabétiques traités par l'huile totale (DHT), (IV) diabétiques traités par la métformine (DMET), (V) diabétiques traités par la thymoquinone (DTHY), (VI) diabétiques traités par l'huile neutre (DHN) et lot de rats normaux (NOR).

Le groupe de rats diabétiques non traités (DNT) et le groupe de rats normaux (NOR) constituent les groupes témoins.

I.2.2.3. Administration des extraits

Les extraits testés dans cette étude ont été solubilisés dans de l'eau distillée, une goutte de tween a été ajouté aux extraits insolubles afin de préparer des suspensions plus au moins homogènes. Après solubilisation des échantillons, les rats des lots traités par l'huile totale (DHT), huile polaire (DHP) et huile neutre (DHN), ont reçu quotidiennement un volume de 2ml de la suspension appropriée par voie orale, et avec une dose de 100mg/kg.

Les lots de rats traités par la thymoquinone (DTHY) et par la métformine (DMET) ont reçu quotidiennement le même volume (2ml) de la solution appropriée avec une dose de 25 mg/kg par voie orale.

Les lots de rats non diabétiques, et diabétiques non traités, ont reçu uniquement de l'eau distillée, avec un volume de 2ml. L'administration des traitements a été réalisée quotidiennement pendant trois semaines.



Figure 12 : Administration des extraits par voie orale

I.2.2.4. Prélèvements sanguins

Afin de doser les différents paramètres biochimiques (glycémie, triglycérides, cholestérol), des prélèvements sanguins ont été effectués par le biais de capillaires d'hématocrites, à partir du sinus rétro - orbital des rats. Ces derniers ont été préalablement mis à jeun pendant 16 heures au minimum, et juste avant le prélèvement sanguin, les animaux sont anesthésiés par l'éther diéthylique, sous une cloche en verre.

Ces prélèvements ont été réalisés après 3 jours de l'induction du diabète, et après chaque semaine de traitement pendant toute la durée de l'expérimentation.

Au cours de chaque prélèvement, 2 à 3ml du sang est recueilli dans un tube hépariné, puis centrifugé à 2500 r.p.m pendant 5 minutes. Le plasma obtenu est conservé à 2°C jusqu'à usage.



Figure 13 : Prélèvement du sang par le sinus rétro-orbital

I.2.2.5. Mesure des différents paramètres

I.2.2.5.1. Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été effectué à partir du plasma récupéré.

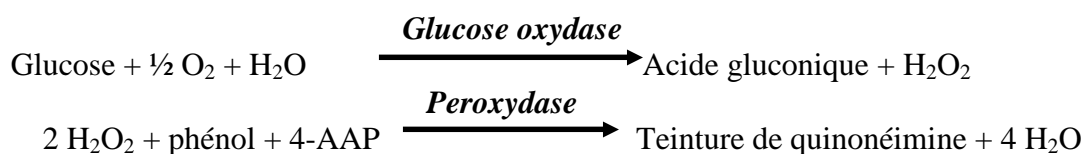
a) Dosage du glucose

La glycémie a été mesurée par une méthode enzymatique (glucose oxydase), pour cela, 10µl du plasma ont été ajoutés à 1ml du réactif de dosage de glucose. Le mélange après une légère agitation a été incubé pendant 10 à 15 minutes à température ambiante (16 à 25°C) avant la lecture de l'absorbance à 505nm par spectrophotomètre. La concentration de l'échantillon en glucose a été calculée selon la formule suivante :

$$(A \text{ échantillon} / A \text{ étalon}) \times C \text{ étalon}$$

A : Absorbance, C : Concentration, C étalon = 1g/l

Le glucose présent dans l'échantillon a été dosé selon les réactions couplées décrites ci-dessous :

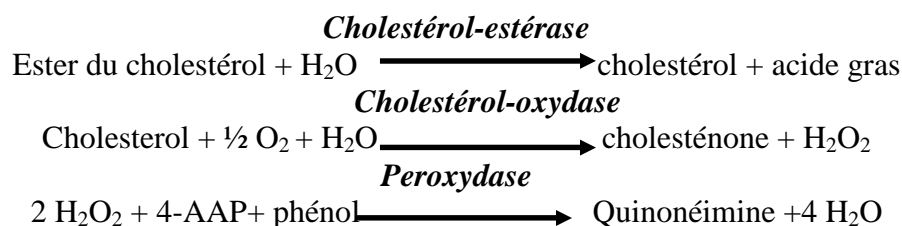


Le glucose est oxydé par la *glucose oxydase* en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Puis le peroxyde d'hydrogène réagit en présence de peroxydase avec le phénol

et la 4-aminoantipyrine (4-AAP) (oxydation), pour former une teinture de quinonéimine rouge. L'intensité de la couleur obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose.

b) Dosage de cholestérol

Le cholestérol plasmatique a été dosé par une méthode enzymatique (cholestérol oxydase). 10µl du plasma ont été ajoutés à 1ml du réactif de dosage de cholestérol, et après agitation et incubation à température ambiante (16 à 25°C) pendant 10 à 15 minutes, l'absorbance a été mesurée à 505nm par spectrophotométrie. Le cholestérol a été dosé selon les réactions suivantes :



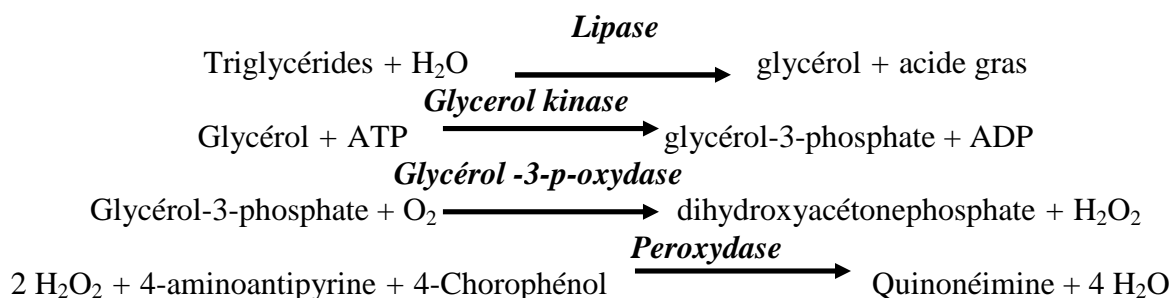
L'intensité de la coloration de la quinonéimine est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon. La concentration de l'échantillon en cholestérol a été calculée selon la formule suivante:

$$(A \text{ échantillon} / A \text{ étalon}) \times C \text{ étalon}$$

A : Absorbance, C : Concentration, C étalon = 2g/l

c) Dosage des triglycérides

Les triglycérides plasmatiques ont été également dosés par une méthode enzymatique (glycérol phosphate oxydase). 10µl du plasma ont été ajoutés à 1ml du réactif de dosage des triglycérides, et après agitation et incubation à température ambiante (16 à 25°C) pendant 10 à 15 minutes, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 505nm. Les triglycérides présents dans l'échantillon ont été dosés selon les réactions couplées décrites ci-dessous :



L'intensité de la coloration de la quinonéimine est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon. La concentration de l'échantillon en triglycérides a été calculée selon la formule suivante : **(A échantillon/A étalon) × C étalon**

A : Absorbance, C : Concentration, C étalon = 2g/l

I.2.2.5.2. Etude de l'évolution pondérale

L'évolution pondérale est l'un des paramètres cruciaux qui détermine l'état d'un diabétique, et en raison d'une perte du poids très considérable qui accompagne l'apparition de la maladie, le suivi de la variation pondérale des malades s'avère très important pour se renseigner de la situation de ces derniers. Pour pouvoir suivre la variation pondérale des animaux pendant l'expérimentation, la moyenne du poids de tous les rats a été mesurée avant l'induction du diabète. L'évolution du poids des rats de chaque lot a été mesurée chaque semaine et cela juste après l'installation du diabète.

I.2.2.5.3. Mesure de la quantité de l'eau et de la nourriture consommées

La quantité de nourriture et le volume de l'eau consommée par les rats s'avèrent deux paramètres essentiels dans l'étude de l'évolution du diabète, pour cela ces deux paramètres ont été mesurés quotidiennement pendant deux semaines (2^{ème} et 3^{ème} semaine de l'expérimentation) chez tous les lots de rats. Une quantité de nourriture a été pesée puis offerte aux rats de chaque lot, et après 24 heures, la quantité de nourriture restante a été estimée afin de déduire la quantité consommée. Le volume de l'eau consommé par chaque lot a été mesuré avec la même méthode.

I.2.3. Etude de l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post prandiale

Cette expérience a été réalisée afin de tester l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post-prandiale (après prise de l'aliment). Pour cela deux tests ont été réalisés ; un test avec solution amidon comme alimentation, afin de déterminer l'action de nos échantillons sur les glycosidases intestinales, et un autre test avec solution glucose comme nourriture, pour tester l'action des extraits sur le transport intestinal du glucose (**Li et al., 2005**).

I.2.3.1. Préparation des extraits

Les extraits ont été solubilisés dans de l'eau distillée, afin de préparer des doses de 100mg/kg et de 200mg/kg de chaque extrait. Les solutions de l'amidon et du glucose ont été préparées avec des doses respectivement de 1g/kg et 0.5g/kg (Li et al., 2005).

I.2.3.2. Répartition des animaux

Lors de cette étude, les rats ont été mis à jeun pendant au minimum 18 heures, puis répartis sur 6 groupes de 3 rats chacun :

Groupe 1 : rats traités par une dose de 100mg/kg de l'huile polaire (HPOL 100mg/kg)

Groupe 2 : rats traités par une dose de 200mg/kg de l'huile polaire (HPOL 200mg/kg)

Groupe 3 : rats traités par une dose de 100mg/kg de l'huile neutre (HNEU 100mg/kg)

Groupe 4 : rats traités par une dose de 200mg/kg de l'huile neutre (HNEU 200mg/kg)

Groupe 5 : rats traités par une dose de 100mg/kg de l'acarbose (standard) (aca 100mg/kg).

Groupe 6 : rats non traités (NT).

I.2.3.3. Procédé expérimental**a) Etude de l'effet des extraits sur les glycosidases intestinales**

Ce test nous a permis de déterminer l'action inhibitrice des extraits testés sur les glycosidases intestinales. Un prélèvement sanguin a été effectué chez tous les groupes de rats mis à jeun pendant 18 heures (premier prélèvement), à fin de mesurer leurs glycémies initiales (G_0).

Après le dosage de glucose à jeun, chaque groupe de rats a reçu un volume de 2ml de solution de l'extrait approprié par voie orale. Le lot de rats traités par un traitement standard (acarbose) a reçu une dose de (100mg/kg).

Après 40 minutes de l'administration des extraits, un volume de 2ml de solution amidon (1g/kg) a été administré par voie orale aux rats, et 30 minutes après, un deuxième prélèvement sanguin a été effectué afin de déterminer la glycémie finale (G_1) (Li et al., 2005). Le groupe des rats non traité a reçu uniquement 2ml de solution amidon.

b) Etude de l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur le transport intestinal du glucose

Ce test a été réalisé selon la même méthode que le test précédent, en utilisant la solution glucose comme alimentation. Il nous a permis d'étudier l'effet de ces extraits sur le transport intestinal de glucose.

I.2.4. Etude de l'effet des extraits étudiés sur l' α glucosidase in vitro

I.2.4.1. Préparation des solutions

La solution de l' α glucosidase a été préparée en solubilisant cette dernière dans du tampon phosphate (pH 6,9) et une concentration de 130 μ g/ml a été préparée. Le substrat de l'enzyme (p-nitrophényl α -D-glucopyranoside) a été solubilisé dans le même tampon, de sorte à obtenir une solution d'une concentration de 1.9mg/ml. Les extraits ont été solubilisés dans de l'eau distillée, et une série de concentration a été préparée par dilutions convenables avec de l'eau distillée (1.56mg/ml, 781 μ g/ml, 390 μ g/ml, 195 μ g/ml, 97 μ g/ml).

I.2.4.2. Procédé expérimental

Une série de tube à essai a été préparée, contenant des concentrations différentes des extraits étudiés (1.56mg/ml, 781 μ g/ml, 390 μ g/ml, 195 μ g/ml, 97 μ g/ml). Un volume de 0.250ml de chaque tube a été prélevé et ajouté à 1ml d'enzyme dans un autre tube à essai, et les mélanges d'enzyme et d'extrait ont été ensuite homogénéisés et incubés à 37°C pendant 15 minutes. Après incubation, un volume de 0.250ml de substrat a été ajouté au mélange précédent, et une lecture de l'absorbance à 420nm par spectrophotomètre a été effectuée directement après l'addition de substrat. Le témoin utilisé dans cette expérience est la solution de substrat avec l'enzyme sans extrait. La lecture effectuée par spectrophotomètre consiste à suivre la cinétique de l'activité enzymatique pendant 5 minutes. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la loi suivante :

$$(\text{DO control} - \text{DO échantillon}) / \text{DO control} \times 100.$$

I.3. Analyse statistique

L'analyse statistique de nos résultats a été réalisée par le logiciel Statistica 5.5.

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écartypes.

La comparaison des résultats a été effectuée par l'analyse de la variance (ANOVA) en se basant sur le test LSD.

Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Chapitre II

Résultats et discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 Rendement de l'extraction des huiles des graines de *Nigella sativa*

II.1.1 Rendement des graines en huile fixe

Les graines de *Nigella sativa* contiennent un taux très important en huile fixe, compris entre 39.7% et 52.5%, cela signifie que presque la moitié du poids des graines est constituée en huile (Ashraf et al, 2006). L'analyse de notre échantillon a révélé un taux d'huile fixe relativement faible (Figure 14a), compris entre 13% et 20%, contrairement à celui décrit dans la littérature, et cela revient probablement à la qualité des graines et la région de la récolte, ainsi que la méthode utilisée pour l'extraction (Benkaci–Ali et al., 2007).

Durant notre étude nous avons utilisé le méthanol comme solvant pour l'extraction à chaud par *soxhlet*, l'extrait obtenu est l'extrait méthanolique. Par contre l'extraction à chaud par *soxhlet* citée dans la littérature est réalisée par l'hexane, un solvant apolaire qui possède un puissant pouvoir d'extraction des lipides (Al-Gaby 1998; Ramadan et Morsel, 2002a; Ashraf et al., 2006).

II.1.2. Teneur en huiles polaires et neutres de l'huile des graines de *Nigella sativa*

L'huile fixe des graines de *Nigella sativa*, comme il a été cité dans la partie bibliographique, est constituée de deux fractions majeures; les huiles polaires et les huiles neutres. Les pourcentages de ces deux fractions varient entre 3% à 4% de lipides polaires et 96% à 97% de lipides neutres (Ramadan et Morsel, 2002a).

L'analyse de notre huile totale, obtenue après extraction a révélé 4% à 9% de l'huile polaire et 90% à 96% de l'huile neutre (Figure 14b). Malgré cette différence en pourcentages par rapport à ce qui est rapporté dans les bibliographies, l'huile neutre est toujours dominante avec un taux très élevé, ce qui montre que l'huile totale des graines de *Nigella sativa* est composée majoritairement de lipides neutres (Ramadan et Morsel, 2002b).

Pendant notre travail, et lors de l'extraction de l'huile par *soxhlet*, l'utilisation du méthanol (solvant polaire), permet d'extraire un taux relativement élevé de l'huile polaire par rapport à ce qui a été rapporté par Ramadan et Morsel (2002a), Ashraf et al., (2006); dont le solvant utilisé est l'hexane.

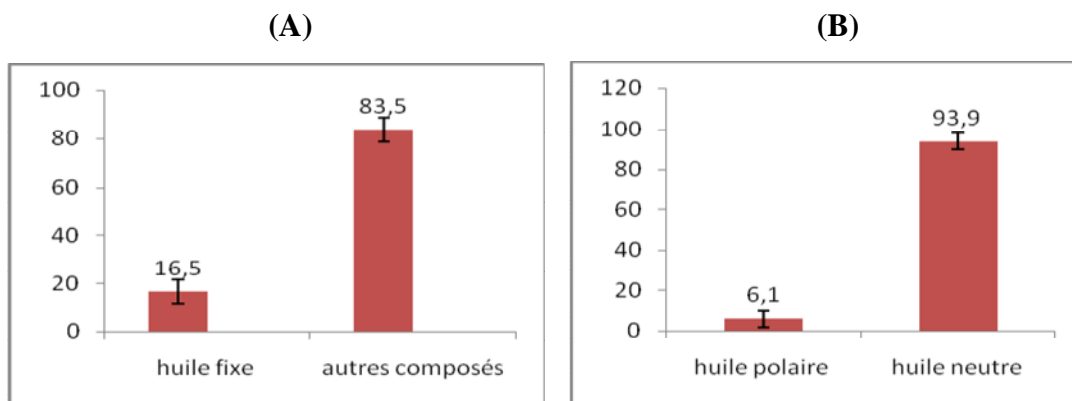


Figure 14 : Rendement des graines de *Nigella sativa* en huile fixe (A) et leur teneur en huile polaire et neutre (B)

II.2. Dosage des paramètres biochimiques des animaux

II.2.1. Evolution de la glycémie

La glycémie, est le paramètre primordial qui nous renseigne sur l'évolution de l'état d'un sujet diabétique ainsi que l'efficacité des produits thérapeutiques préconisés. Pour cela le dosage de la concentration de glucose chez les rats étudiés s'avère crucial et incontournable. Les graphes ci-dessous présentent les résultats de l'évolution de la glycémie dosée à jeun chez des rats diabétiques traités pendant trois semaines par quelques extraits des graines de *Nigella sativa*.

Sur chaque graphique, elles sont représentées les valeurs de la glycémie des rats des groupes témoins (diabétiques non traités et rats normaux) afin de pouvoir suivre l'évolution de la glycémie du groupe de rats traités par l'échantillon et estimer l'efficacité de l'extrait étudié. Les fluctuations observées dans l'évolution des glycémies des groupes témoins sur chaque graphe sont dues à plusieurs causes telles que la durée du jeûne des rats qui varie d'un dosage à l'autre, la différence dans les durées qui séparent les prélèvements du sang et les centrifugations, et la physiologie des animaux étudiés qui varie par l'intervention de quelques facteurs externes.

II.2.1.1. Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile totale

La **figure 15** illustre l'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par l'huile totale (100mg/kg/jour) des graines de *Nigella sativa*. Nous remarquons que la glycémie des rats traités par l'huile totale diminue après une semaine de traitement (de 1.24g/l à 0.83g/l), une diminution de 33%, mais elle reste relativement élevée par rapport aux glycémies des rats des groupes témoins (0.83g/l contre 0.93g/l des rats DNT) ce qui nous laisse penser que la réduction de la glycémie durant cette semaine n'est pas significative. Vers

la fin de la deuxième semaine, la glycémie des rats soumis à ce traitement reste toujours diminuée, elle est proche de celle des rats normaux (0.89g/l contre 0.86g/l des rats NOR) et largement faible de celle des rats diabétiques non traités (1.16g/l), ce qui signifie que cette diminution de glycémie (31%) est significative. La glycémie de ce groupe de rats (DHT), reste stable et réduite jusqu'à la fin du traitement (0.92g/l).

La diminution de la glycémie chez ce groupe de rats après une semaine du traitement par l'huile totale des graines de *Nigella sativa* est du probablement à la régénération des cellules β pancréatiques (**Kanter et al., 2003**). L'huile totale peut agir également par son action inhibitrice de la néoglucogenèse hépatique, ce qui produit une diminution de la libération du glucose par les hépatocytes (**Fararh et al., 2004**) et/ou à son action stimulatrice de la sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques (**El daly 1994; Fararh et al., 2002**).

Cette huile peut également agir en fournissant des éléments nécessaires au développement de la cellule β pancréatique (Cu^{++} , Mg^{++} , Ca^{++}) ou bien en réduisant l'action de l'insulinase (enzyme qui détruit l'insuline dans le foie) (**Bnouham et al., 2002**).

Malgré la dose de l'extrait administrée aux rats dans cette étude (100mg/kg/jour), qui est plus faible que celle citée dans la bibliographie (400mg/kg/jour) (**Fararh et al., 2002, 2004**), la glycémie des rats traités reste significativement diminuée pendant les deux dernières semaines de traitement. Ce résultat montre que l'huile totale, des graines de *Nigella sativa*, est l'une des substances qui sont à l'origine de l'effet antidiabétique de l'extrait brute de ces graines rapporté par plusieurs auteurs (**Hawsawi et al., 2001; Mai Le et al., 2004 ; Houcher et al., 2007**).

Notre résultat est confirmé par l'étude réalisée par **Zaoui et ces collaborateurs (2002)**, où ils ont montré que les huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* réduisent significativement la glycémie des rats normaux.

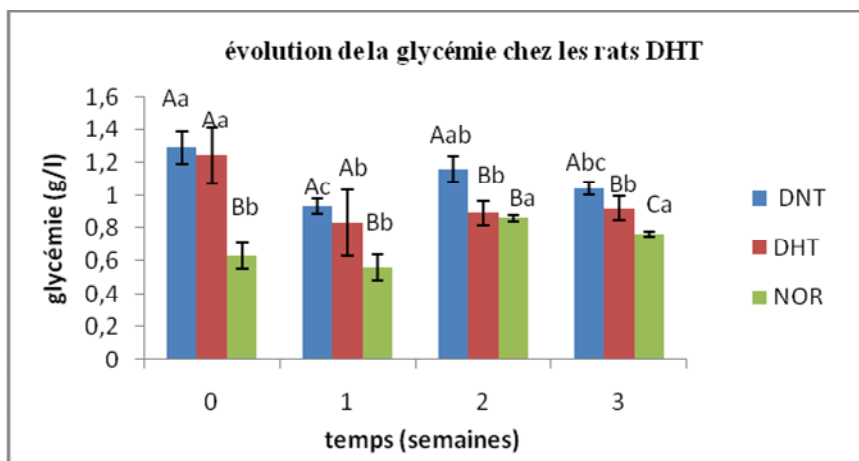


Figure 15 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'huile totale (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par l'huile totale)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de glycémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la glycémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de glycémie significativement différentes.

II.2.1.2. Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile polaire

L'évolution de la glycémie, chez les rats diabétiques traités pendant 3 semaines par l'huile polaire (100mg/kg/jour) des graines de la *Nigella sativa*, est représentée par la **figure 16**. En comparant l'évolution de la glycémie de ce groupe de rats avec celles des rats des groupes témoins, nous remarquons que la glycémie des rats traités par l'huile polaire diminue après une semaine de traitement (de 1.26g/l à 0.84g/l), mais reste relativement élevée (0.84g/l contre 0.93g/l pour les rats DNT). Vers la fin de la deuxième semaine du traitement, la glycémie diminue significativement (33%), et atteint une valeur de (0.79g/l) contre (1.16g/l) chez les rats DNT.

A la fin de la période du traitement (3^{ème} semaine), l'extrait étudié s'avère inefficace, et la glycémie des rats traités augmente à nouveau pour atteindre une valeur relativement importante, dépassant celle des rats diabétiques non traités (1.14g/l contre 1.04g/l chez les rats DNT) (**Figure 16**).

Pendant les deux premières semaines du traitement, l'huile polaire a montré un certain effet antidiabétique (**Figure 16**). Ceci nous laisse penser que cette fraction est probablement constituée de molécules qui pourraient participer dans la diminution du taux de glucose sanguin causée par l'huile totale, en agissant probablement sur le pancréas comme sécrétagogue, ou sur les tissus périphériques en augmentant la sensibilité de ces derniers à

l'action de l'insuline. Les hépatocytes seraient également une cible à cet extrait; en faisant réduire la néoglucogenèse et la libération de glucose dans le sang.

L'augmentation de la glycémie à la fin de la troisième semaine, signifie l'inefficacité du traitement pendant cette période. Cela s'explique probablement par la faible concentration utilisée (100mg/kg/jour), ou bien par le stress des animaux qui fait augmenter leur glycémie (Houcher *et al.*, 2007).

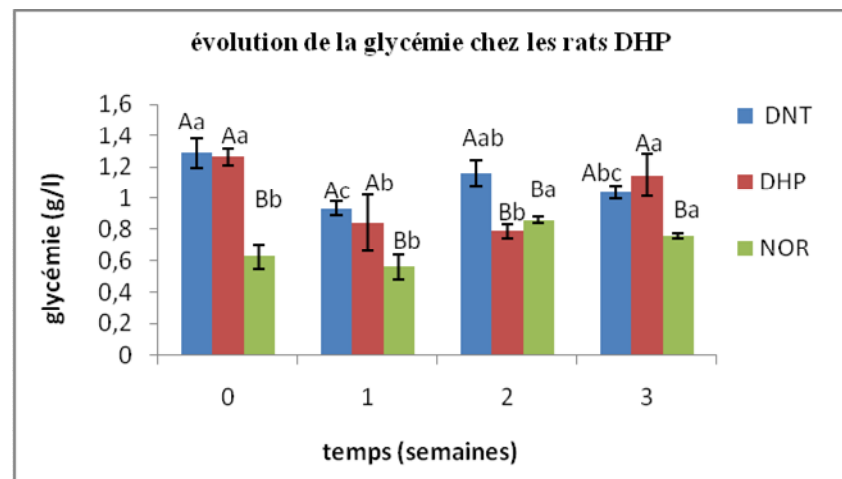


Figure 16 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'huile polaire (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de glycémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la glycémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de glycémie significativement différentes.

II.2.1.3. Evolution de la glycémie chez le groupe de rats traités par l'huile neutre

Nous avons constaté que la glycémie des rats diabétiques traités par l'huile neutre, avec une dose de 100mg/kg/jour, diminue après une semaine du traitement (de 1.03g/l à 0.87g/l) mais reste relativement élevée (0.87g/l contre 0.93g/l chez les rats DNT), et devient relativement faible (0.82g/l contre 1.16g/l chez les DNT et 0.86g/l pour les rats NOR) après la deuxième semaine du traitement, avec une réduction significative de 20%. La glycémie de ce groupe de rats, remonte à nouveau vers la fin de traitement (0.90g/l contre 1.04g/l chez les rats DNT).

Cette huile apparaît plus active que l'huile polaire, en raison de la stabilité de la glycémie observée durant le traitement, ce qui signifie que cette fraction de l'huile totale, est l'une des fractions de l'extrait brute de la graine de *Nigella sativa* impliquée dans la diminution du taux de glucose sanguin, et cela peut se produire par plusieurs actions telles que

l'inhibition de la néoglucogenèse hépatique, sensibilisation des tissus périphériques à l'action de l'insuline, stimulation de la sécrétion de l'insuline et la régénération des cellules β pancréatiques. L'effet hypoglycémiant de l'extrait brute de la graine de *Nigella sativa*, démontré par plusieurs chercheurs (Hawsawi *et al.*, 2001 ; Mai Le *et al.*, 2004) peut être du à ces deux fractions de l'huile totale (neutre et polaire).

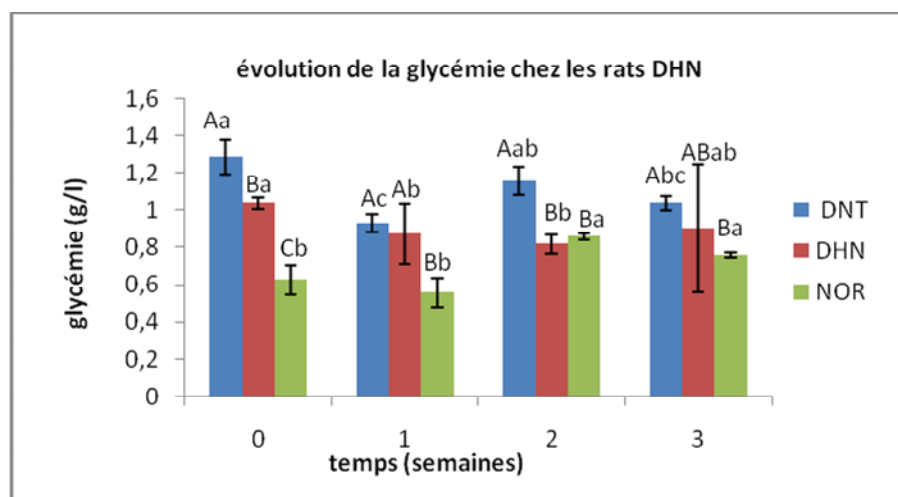


Figure 17 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'huile neutre (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHN= diabétiques traités par l'huile neutre)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de glycémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la glycémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de glycémie significativement différentes.

II.2.1.4. Evolution de la glycémie chez les rats traités par la métformine

Dans ce groupe et par homogénéité glycémique, nous avons regroupé les rats ayant des glycémies importantes, qui varient entre 2g/l à 3g/l, suite à l'induction du diabète par la STZ. La métformine est un antidiabétique oral, de la classe des biguanides, préconisé dans le traitement du diabète de type 2 comme un anti-hyperglycémiant, il agit en diminuant la néoglucogenèse hépatique et en augmentant la sensibilité des tissus périphériques à l'action de l'insuline (Scheen, 2007).

Pendant notre expérimentation, le traitement des rats diabétiques par la métformine (25mg/kg/J, pendant trois semaines) n'a montré aucun effet significatif sur la glycémie des rats, qui reste élevée durant toute la durée du traitement, en atteignant son maximum vers la fin de la période du traitement (3.06g/l) (Figure 18), cela s'explique par l'état physiologique des rats, dont la quasi-totalité de leurs pancréas est détruite par la streptozotocine, induisant

ainsi une hypo insulinémie sévère et un très faible contrôle glycémique. Suite à ce déficit absolu en insuline, la métformine demeure inefficace, malgré son action inhibitrice sur la néoglucogenèse hépatique, c'est le cas du diabète de type 1.

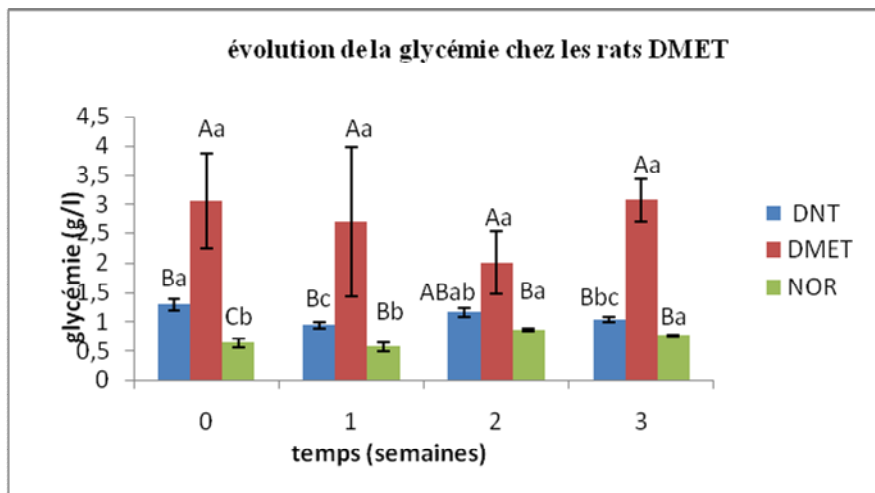


Figure 18 : Evolution de la glycémie chez des rats traités par la métformine (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET= diabétiques traités par la métformine)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de glycémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la glycémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de glycémie significativement différentes.

II.2.1.5. Evolution de la glycémie chez les rats traités par la thymoquinone

La thymoquinone est l'une des molécules les plus actives de la graine de *Nigella sativa*, elle possède plusieurs effets thérapeutiques tels que l'effet anti-inflammatoire (Hajhashemi *et al*, 2004), anticancéreux (Gali-muhtasib *et al*, 2006) et l'effet antiallergique (El Gazzar *et al*, 2006).

Ici nous nous sommes intéressés à l'effet antidiabétique de cette molécule, les résultats obtenus sont représentés par la **Figure 19**. Nous constatons d'après cette figure, que la glycémie des rats traités par la thymoquinone, dose de 25mg/kg, atteint son maximum vers la fin de la première semaine du traitement avec une valeur de 1.85g/l, dépassant largement celle des rats DNT (0.93g/l), ensuite elle diminue vers la fin de la deuxième semaine pour prendre une valeur de 1.21g/l, et continue à diminuer jusqu'à la fin de la période du traitement, mais reste relativement élevée (1.03g/l contre 1.04g/l pour DNT et 0.76g/l pour NOR).

Au cours des deux dernières semaines du traitement, la glycémie des rats traités par la thymoquinone reste moins importante par rapport à la première semaine, mais relativement élevée, en comparant celle-ci avec la glycémie des rats diabétiques non traités. Il a été rapporté par **Fararh et ses collaborateurs (2005)**, qu'une administration quotidienne de 50mg/kg de thymoquinone par voie orale aux rats diabétiques, réduit significativement la néoglucogénèse et la production hépatique de glucose, ce qui provoque une diminution du taux de glucose plasmatique. Ils ont ajouté que cette action peut être due à la suppression de la synthèse des enzymes intervenant dans la néoglucogénèse telles que la phospho-enol-pyruvate carboxykinase, glucose-6-phosphatase et la fructose-1,6-bisphosphatase.

La protection des cellules β pancréatiques contre le stress oxydatif et le maintien de son fonctionnement par la thymoquinone peut être la cause de l'effet antidiabétique de cette dernière (**El-Mahmoudy et al., 2005**).

Durant notre étude, le traitement des rats diabétiques par la thymoquinone n'a pas réduit leur glycémie, cela revient probablement à la dose administrée (25mg/kg/J, pendant 3 semaines), qui est largement faible par rapport à celle citée dans les références (50mg/kg/J) (**Fararh et al., 2005**).

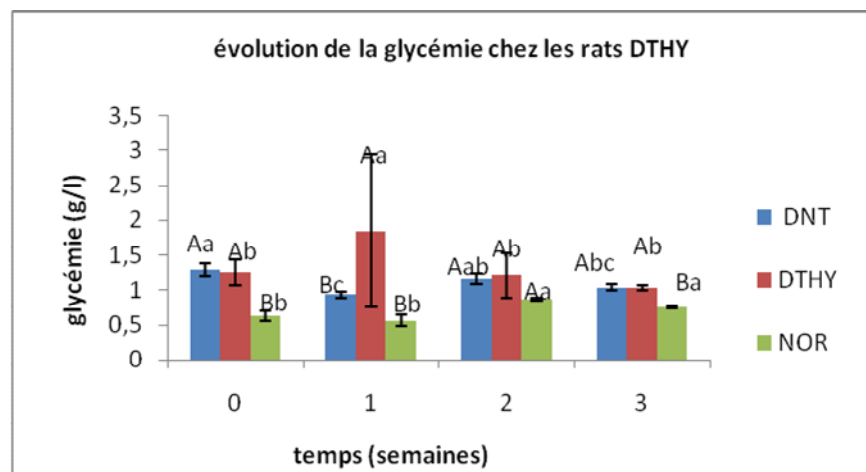


Figure 19 : Effet de la thymoquinone (25 mg/kg) sur la glycémie des rats diabétiques. (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DTHY= diabétiques traités par la thymoquinone) Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A,B,C représentent les valeurs de glycémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la glycémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de glycémie significativement différentes.

II.2.2. Evolution de la concentration du cholestérol plasmatique

La cholestérolémie est l'un des paramètres biochimique qui varie en fonction de l'état physiologique de l'individu (obésité, diabète, syndromes métabolique...), dans le cas du diabète, la mesure du taux de cholestérol sanguin peut nous renseigner de l'état de malade, car sa concentration augmente avec la diminution de l'insulinémie (**Hennen, 2001**). Les **figures 20 à 24** illustrent la variation de la concentration du cholestérol dosée à jeun, pendant 3 semaines chez les rats diabétiques traités, par rapport à la cholestérolémie des rats des groupes témoins (non diabétiques et diabétiques non traités).

II.2.2.1. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l'huile totale

En comparant avec les groupes témoins (DNT, NOR), dont leurs cholestérolémie est relativement stable et élevée pendant les deux dernières semaines de traitement, le groupe de rats traités par l'huile totale (DHT), présente une augmentation significative dans la concentration de cholestérol plasmatique entre la première et la deuxième semaine de traitement (de 0.67g/l à 0.91g/l), comme il est élucidé sur la **figure 20**, puis elle diminue significativement vers la fin de l'expérimentation (0.75g/l).

L'effet de l'huile totale sur la diminution du taux de cholestérol plasmatique, revient peut être à sa stimulation de la sécrétion de l'insuline (**figure 20**), qui favorise le catabolisme des LDL (low density lipoprotein) en augmentant l'activité des LDL récepteurs localisés sur les hépatocytes (70%) et sur les autres cellules de l'organisme (30%), diminuant ainsi la libération du cholestérol libre dans le sang (**Vergès, 2007**) ; l'insuline agit également en activant la LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase), une enzyme responsable du transfert de cholestérol libre en cholestérol estérifié qui migre au centre de la lipoprotéine (HDL), ce qui favorise la diminution de sa concentration plasmatique (**Arii et al., 1997**).

L'huile totale, peut également activer certaines enzymes qui interviennent dans la diminution de taux de cholestérol plasmatique, telles que : la LCAT, LPL (lipoprotéine lipase) et la LP (lipase pancréatique). Il a été rapporté que l'extrait brut des graines de *Nigella sativa* contient des composés réduisant le cholestérol plasmatique (**Mai Le et al., 2004**). De même l'huile fixe de ses graines réduit significativement la concentration de cholestérol plasmatique chez les rats normaux (**Zaoui et al., 2002**). L'action de l'huile totale sur la réduction de la cholestérolémie, peut être attribuée aux acides gras mono-insaturés, qui constituent en

majorité cette huile ; ces acides gras inhibent la synthèse de cholestérol par les hépatocytes (AL-Beitawi *et al.*, 2009).

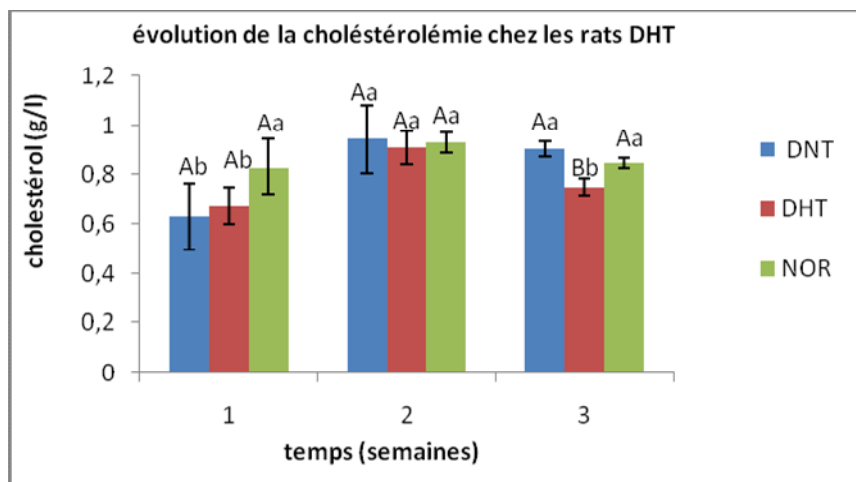


Figure 20 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'huile totale (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par l'huile totale)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de cholestérolémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la cholestérolémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes.

II.2.2.2. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l'huile polaire

La **figure 21** montre que la cholestérolémie des rats diabétiques traités par l'huile polaire (DHP) augmente significativement entre la première et la deuxième semaine de traitement (de 0.75g/l à 0.99g/l), et reste presque stable jusqu'à la fin de l'expérience. Cette fraction de l'huile totale, n'a pas d'effet sur la réduction du taux de cholestérol plasmatique.

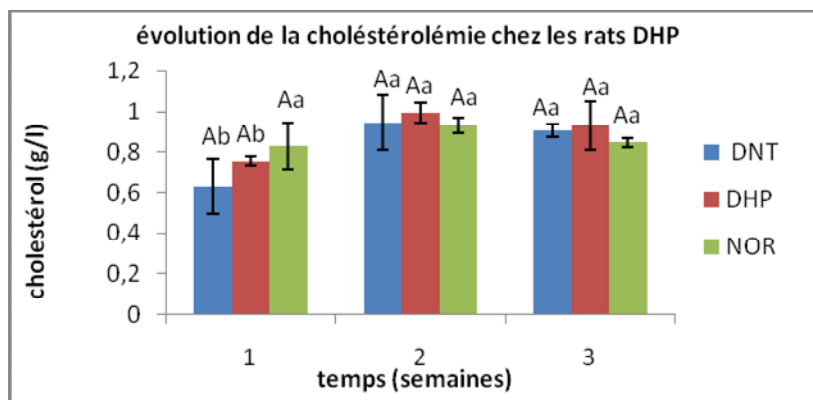


Figure 21 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'huile polaire (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de cholestérolémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la cholestérolémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes.

II.2.2.3. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par l'huile neutre

L'effet de l'huile neutre sur la concentration de cholestérol plasmatique des rats diabétiques est représenté sur la **figure 22**. Nous constatons d'après cette figure que cette fraction diminue significativement la cholestérolémie vers la fin du traitement (de 0.97g/l à 0.81g/l), ce qui nous laisse penser que cette fraction contribue dans la réduction de taux de cholestérol observée avec l'huile totale (**Figure 20**). Cette huile neutre peut diminuer la cholestérolémie, en exerçant probablement les mêmes actions que l'huile totale (origine de l'action de l'huile totale). L'effet synergique de l'huile polaire et de l'huile neutre peut être également à l'origine de l'action de l'huile totale.

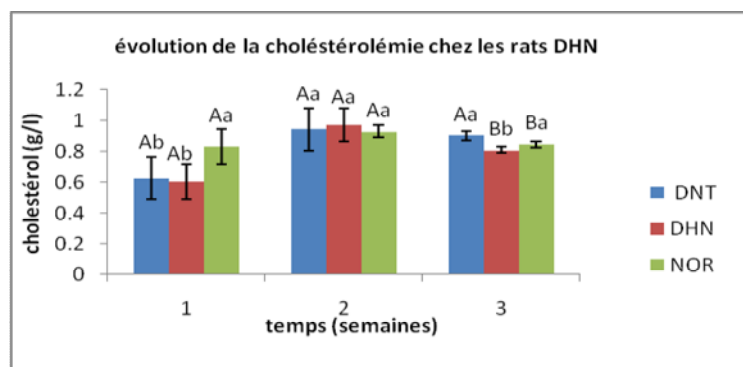


Figure 22 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par l'huile neutre (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHN= diabétiques traités par l'huile neutre)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de cholestérolémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la cholestérolémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes.

II.2.2.4. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par la métformine

Sur la **figure 23**, nous remarquons que le groupe de rats traité par la métformine (DMET) présente une augmentation significative dans la concentration de cholestérol entre la première et la deuxième semaine de traitement (de 0.63g/l à 0.85g/l), puis diminue légèrement à la fin de l'expérience. Ce groupe de rats ne présente pas de diminution significative dans la cholestérolémie, en raison de sa glycémie franche observée pendant cette période, et qui est induite par une carence sévère en insuline (**figure 18**).

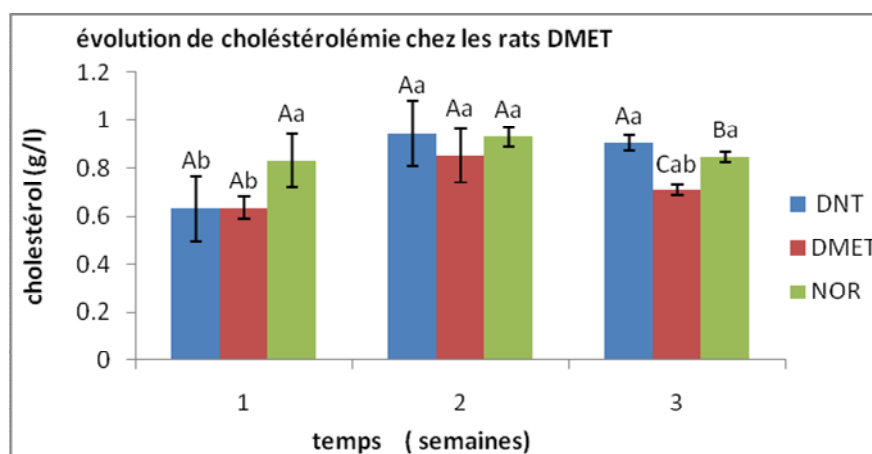


Figure 23 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par la métformine (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par la métformine)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de cholestérolémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la cholestérolémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes.

II.2.2.5. Evolution de la cholestérolémie des rats traités par la thymoquinone

Le groupe de rats diabétiques traités par la thymoquinone (**figure 20**) présente une concentration faible en cholestérol plasmatique après une semaine de traitement (0.57g/l), une augmentation significative de la cholestérolémie est notée après deux semaines (0.92g/l), puis diminue significativement vers la fin de traitement (0.76g/l). La thymoquinone n'a pas montré d'effet significatif sur la réduction de la cholestérolémie, probablement en raison du déficit insulinaire présenté par ce groupe de rats (**figure 19**).

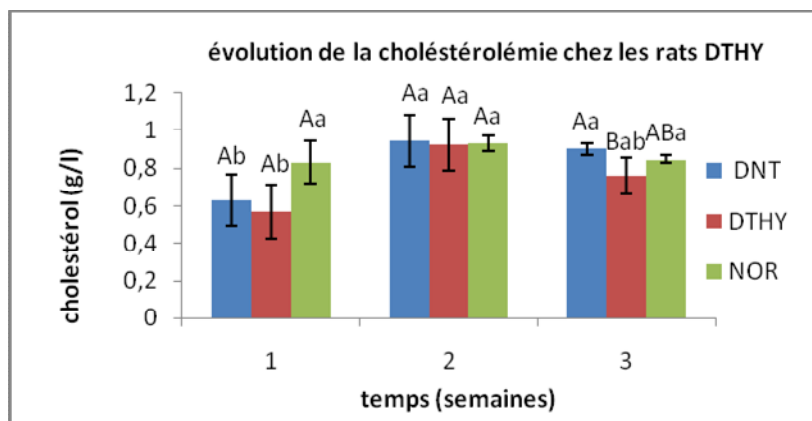


Figure 24 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats traités par la thymoquinone (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DTHY= diabétiques traités par la thymoquinone)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A,B,C représentent les valeurs de cholestérolémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la cholestérolémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de cholestérolémie significativement différentes.

II.2.3. Evolution de la concentration des triglycérides

La concentration des triglycérides plasmatiques, est l'un des paramètres biochimiques étudiés au cours de notre travail. Ce paramètre qui corrèle négativement avec la concentration de l'insuline plasmatique (Devos, 2008), nous permet de suivre l'évolution de l'état physiologique des rats diabétiques étudiés, ainsi que l'effet thérapeutique de l'extrait administré. Les figures 25 à 29 ci-dessous, montrent l'effet des différents extraits testés sur l'évolution de la concentration des triglycérides plasmatiques pendant la période de traitement.

II.2.3.1. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l'huile totale

Nous constatons d'après la figure 25, que les rats diabétiques traités par l'huile totale ne présente pas de variation significative dans leur triglyceridemie, et cela durant toute la période de traitement, de même pour les groupes témoins (diabétiques non traités et non diabétiques). Cette huile n'a pas montré d'effet significatif sur la réduction des triglycérides plasmatiques.

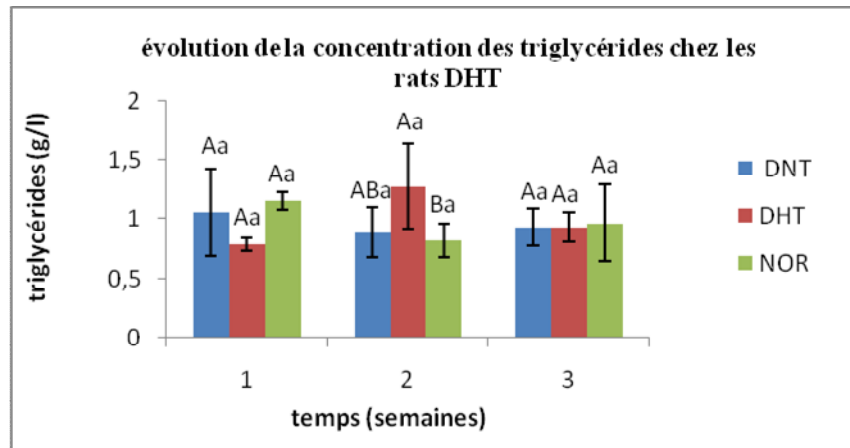


Figure 25 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile totale (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par l'huile totale)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de triglycéridémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la triglycéridémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes.

II.2.3.2. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l'huile polaire

Le groupe de rats diabétiques traités par l'huile polaire (**figure 26**), présente une concentration importante de triglycérides plasmatique après une semaine de traitement (1.25g/l), cette concentration diminue significativement à la fin de la deuxième semaine (0.86g/l) avec une réduction de 31%, et présente une légère augmentation vers la fin de traitement. En comparant la concentration des triglycérides plasmatiques de ce groupe de rats avec celle des groupes témoins, nous constatons que cette fraction n'agit pas sur le taux des triglycérides plasmatiques.

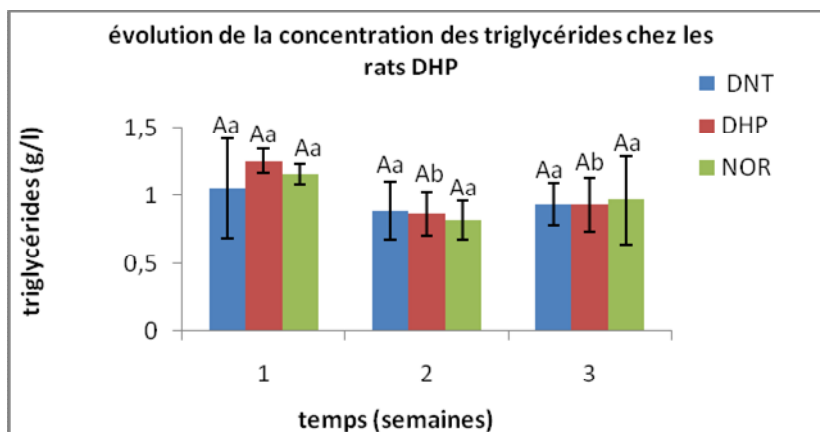


Figure 26 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile polaire (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de triglycéridémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la triglycéridémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes.

II.2.3.3. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par l'huile neutre

L'évolution de la triglycéridémie des rats traités par l'huile neutre est représentée sur la **figure 27**. Nous constatons d'après cette figure que cette fraction de l'huile de la graine de *Nigella sativa* ne réduit pas ce paramètre.

Nous pouvons conclure que les huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* que nous avons testé durant notre étude (huile totale, huile neutre, huile polaire), n'ont pas montré d'effet significatif sur la triglycéridémie des rats diabétiques, à la différence de ce qui est rapporté par certains chercheurs (Zaoui et al., 2002, Mai Le et al., 2004, AL-Beitawi et al., 2009), où ils ont montré que les huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* réduisent significativement le taux des triglycérides plasmatiques.

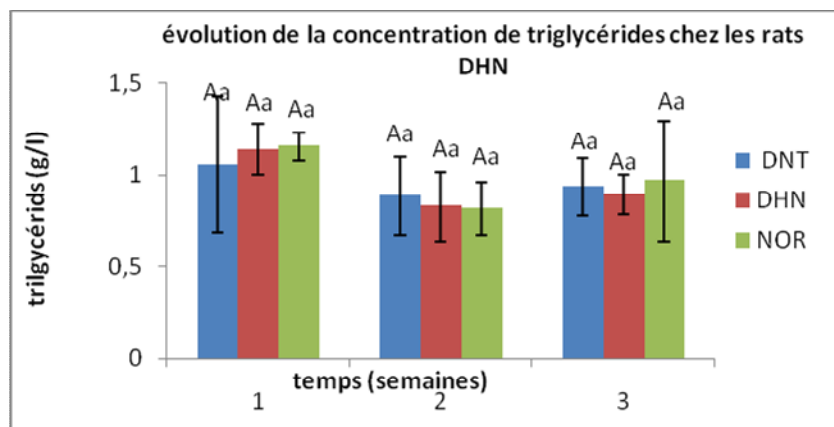


Figure 27 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par l'huile neutre (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHN= diabétiques traités par l'huile neutre)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de triglycéridémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la triglycéridémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes.

II.2.3.4. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par la métformine

L'augmentation du taux des triglycérides plasmatiques apparaît très significative chez le groupe de rats traités par la métformine (**figure 28**), et cela durant toute la période de traitement ; (0.6g/l) après une semaine, (1.15g/l) après 2 semaines et (1.48g/l) après 3 semaines de traitement.

L'importante augmentation de la triglycéridémie chez le groupe de rats traité par la métformine, s'explique par le déficit quasi-absolu en insuline chez ce groupe (**figure 18**). Le rôle de l'insuline dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines est crucial, elle favorise le stockage des lipides dans les cellules et empêche la libération des triglycérides et des acides gras libres dans le plasma, en inhibant les lipases hormonosensibles ; elle active également les lipoprotéines lipases dont le rôle est l'hydrolyse des triglycérides liés aux lipoprotéines (Vergès, 2007).

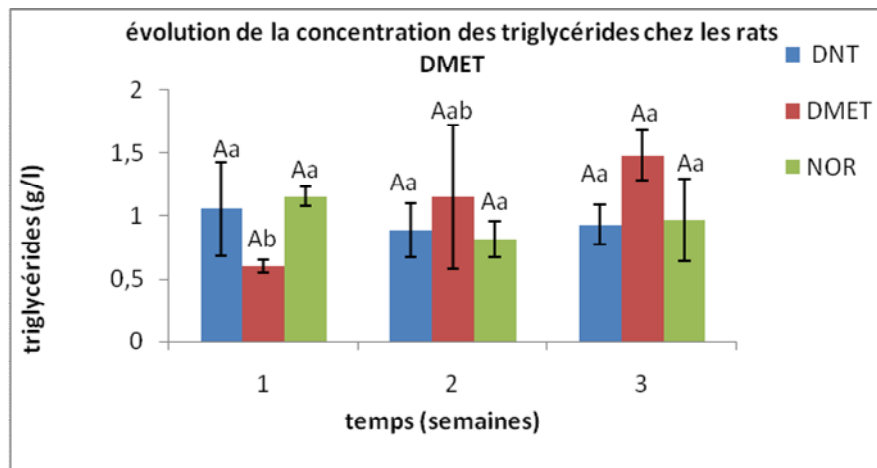


Figure 28 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par la métformine(25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET: diabétiques traités par la métformine)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de triglycéridémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la triglycéridémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes.

II.2.3.5. Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques des rats traités par la thymoquinone

La **figure 29** montre l'effet de la thymoquinone sur la triglycéridémie des rats diabétiques. Nous remarquons que la concentration des triglycérides plasmatiques diminue significativement après 2 semaines de traitement sous l'effet de la thymoquinone (0.99g/l à 0.63g/l), une réduction de 34%, et augmente légèrement pendant la 3^{ème} semaine.

AL-Beitawi et ses collaborateurs (2009) ont rapporté que l'effet de l'extrait brut des graines de *Nigella sativa* sur la réduction de la triglycéridémie peut être attribué à la thymoquinone. Durant notre étude, cet effet est observé uniquement après la deuxième semaine de traitement, puis disparaît à la fin de l'expérimentation.

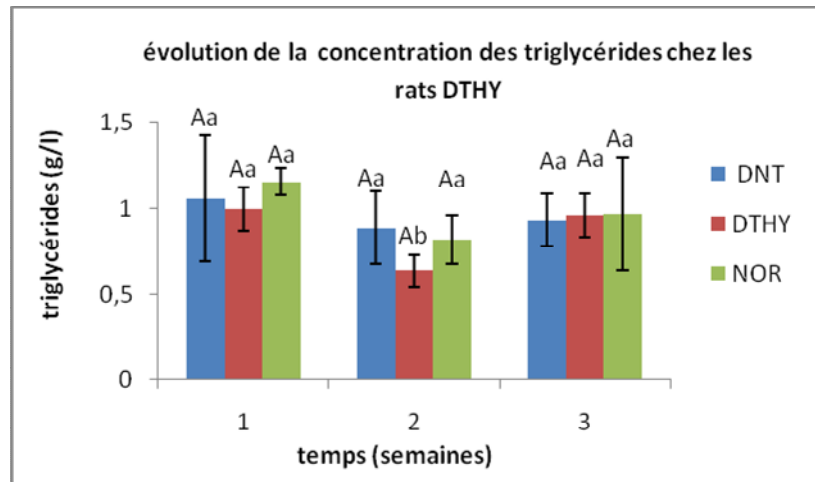


Figure 29 : Evolution de la concentration des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques traités par la thymoquinone (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DTHY= diabétiques traités par la thymoquinone)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs de triglycéridémie du même dosage pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution de la triglycéridémie du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs de triglycéridémie significativement différentes.

II.3. Evolution pondérale

L'un des paramètres auquel nous nous sommes intéressés durant notre travail, est l'évolution pondérale des rats étudiés. Ce paramètre est en relation directe avec l'hyperglycémie. En fait l'apparition du diabète s'accompagne souvent d'un amaigrissement et perte considérable du poids, notamment dans le cas du diabète de type 1 (Hennen, 2001). Le déficit en insuline est la cause principale de cette perte du poids, en raison des actions qu'elle exerce sur le métabolisme lipidique (activation de la lipogenèse et inhibition de la lipolyse) et glucidique (activation de la glycolyse et inhibition de la néoglucogenèse) (Bouglé et Annane, 2009). Les figures 30 à 34 élucident l'évolution pondérale des rats étudiés pendant toute la période de traitement. Nous constatons que le poids du groupe des rats non diabétiques (NOR), reste presque stable durant toute la période du traitement (191 ± 10 g, 195 ± 15 g, 197 ± 11 g, 192 ± 9 g), tandis que celui du groupe des rats diabétiques non traités (DNT), augmente légèrement après une semaine de l'induction de diabète (201 ± 7 g, 209 ± 11 g), une diminution non significative de poids est observée après la deuxième semaine de traitement (209 ± 11 g à 203 ± 13 g), puis il diminue significativement vers la fin de la troisième semaine (de 209 ± 15 g à 186 ± 12 g).

II.3.1. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l'huile totale

La **figure 30** montre que les rats diabétiques traités par l'huile totale (DHT), présentent une stabilité dans leurs poids durant les 3 semaines du traitement (191±10g, 192±10g, 201±13g, 204±17g).

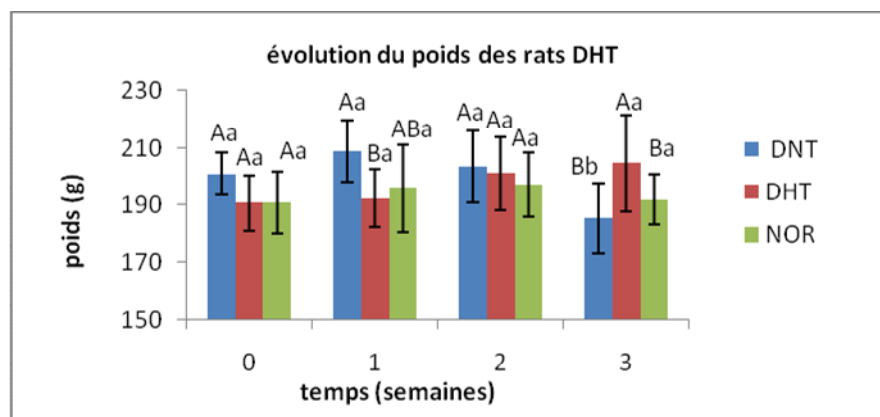


Figure 30 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile totale (100mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs du poids de la même mesure pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs du poids significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution du poids du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs du poids significativement différentes.

II.3.2. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l'huile polaire

Les rats traités par l'huile polaire (DHP), montrent presque la même évolution pondérale (**figure 31**) que celle des rats traités par l'huile totale, (198±10g, 195±19g, 203±20g, 210±19g).

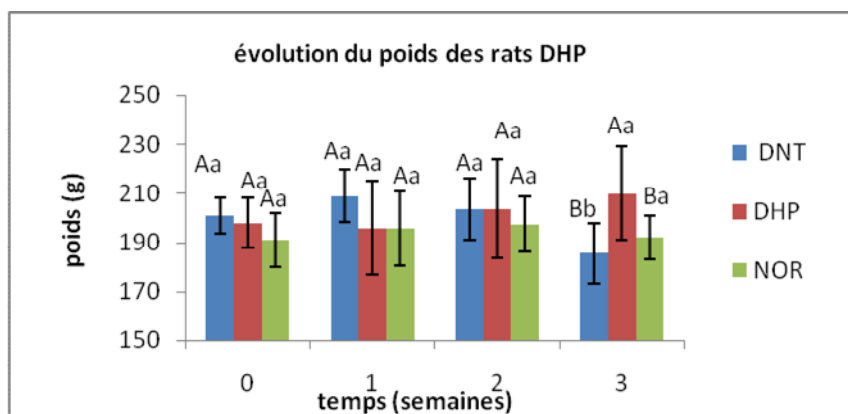


Figure 31 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile polaire (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs du poids de la même mesure pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs du poids significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution du poids du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs du poids significativement différentes.

II.3.3. Evolution du poids des rats diabétiques traités par l'huile neutre

Les rats diabétiques soumis à un traitement par l'huile neutre (DHN), montrent une évolution pondérale similaire à celle observée chez les groupes traités par l'huile totale et polaire (191±10g, 189±15g, 201±16g, 207±17g) (**Figure 32**).

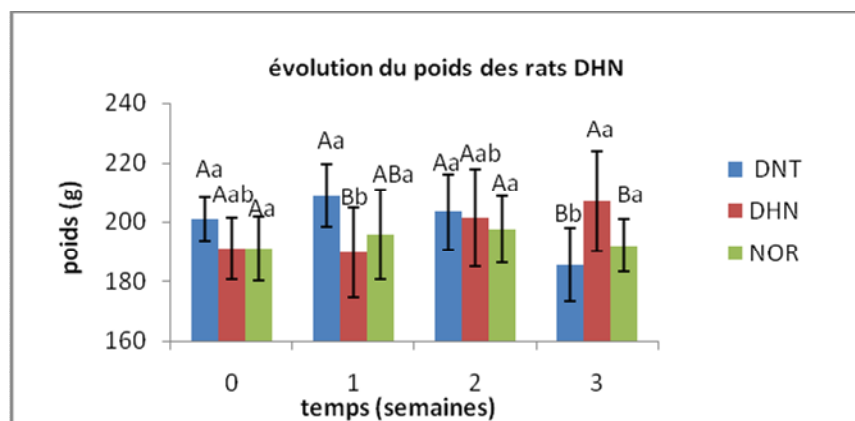


Figure 32 : Evolution pondérale des rats diabétiques traités par l'huile neutre (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHN= diabétiques traités par l'huile neutre)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs du poids de la même mesure pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs du poids significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution du poids du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs du poids significativement différentes.

Tous les groupes de rats soumis à un traitement par les huiles fixes des graines de *Nigella sativa* (huile totale, huile polaire et l'huile neutre), présentent une stabilité, voire une légère diminution, du poids pendant la première semaine du traitement, puis le poids augmente légèrement pendant les deux dernières semaines. Cela peut être dû au rétablissement des activités métaboliques (métabolisme lipidique et glucidique) des rats, et/ou à la richesse de ces huiles fixes en acides gras qui servent de substrats pour la lipogenèse. Notons que l'huile fixe de ces graines est utilisée dans certains pays comme complément alimentaire (**Ghedira, 2006**).

Certains chercheurs (**Zaoui et al., 2002 ; Mai Le et al., 2004,**) ont montré que l'huile fixe de la graine de *Nigella sativa* normalise le poids des rats normaux (non diabétiques), qui ont tendance à devenir obèses. Il a été également rapporté que l'extrait brut de la graine de *Nigella sativa* réduit le poids des rats obèses non diabétiques (**Labhal et al., 1999**).

Contrairement à ce qui est rapporté par ces auteurs, l'huile fixe de la graine de *Nigella sativa* testée durant notre étude a amélioré le poids des rats diabétiques, cela revient

probablement à la différence des états physiologiques des animaux étudiés, dont les rats diabétiques perdent constamment leurs poids en réponse à la diminution de l'oxydation de glucose, ce qui fait que l'huile administrée aux rats diabétiques compense les pertes énergétiques (lipolyse) et les rats retrouvent plus au moins leurs poids. L'amélioration de la sécrétion de l'insuline par ces huiles, ainsi que ces actions, peuvent être également des arguments explicatifs de nos résultats.

II.3.4. Evolution du poids des rats diabétiques traités par la thymoquinone

Le poids des rats diabétiques traités par la thymoquinone (DTHY), présenté sur la **figure 33**, reste relativement stable après une semaine du traitement ($197\pm 9g$ à $203\pm 17g$), et diminue significativement durant les deux dernières semaines du traitement ($203\pm 17g$, $191\pm 19g$, $173\pm 24g$). La diminution du poids des rats traités par la thymoquinone, marquée durant les deux dernières semaines du traitement, est probablement le résultat d'une prise alimentaire plus au moins réduite (**Figure 39**) associée à une hyperglycémie relativement sévère (**Figure 19**) observées chez ce groupe de rats.

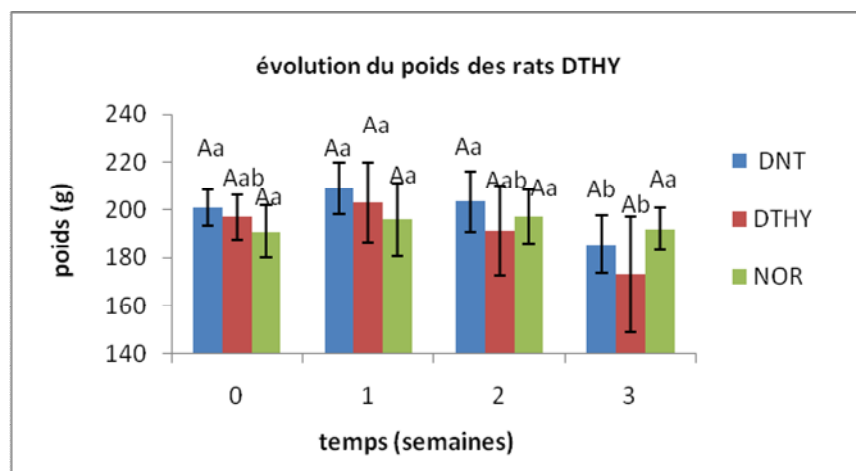


Figure 33: Evolution pondérale des rats diabétiques traités par la thymoquinone (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DTHY= diabétiques traités par la thymoquinone)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A, B, C représentent les valeurs du poids de la même mesure pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs du poids significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution du poids du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs du poids significativement différentes.

II.3.5. Evolution du poids des rats diabétiques traités par la métformine

La **figure 34** représente l'évolution pondérale des rats diabétiques traités par la métformine (DMET). Nous remarquons que le poids de ce groupe est le plus faible par rapport aux autres groupes, et reste constant durant toute la période du traitement malgré la prise alimentaire importante observée chez ce groupe ($172\pm 13\text{g}$, $154\pm 26\text{g}$, $167\pm 36\text{g}$, $158\pm 7\text{g}$). La destruction quasi-totale du pancréas, qui provoque une hypo-insulinémie sévère, est la cause principale de cette perte du poids. En fait, la lipolyse s'accélère pour compenser le besoin des cellules en énergie, qui est assurée en partie par l'oxydation de glucose (**Bouglé et Annane, 2009**).

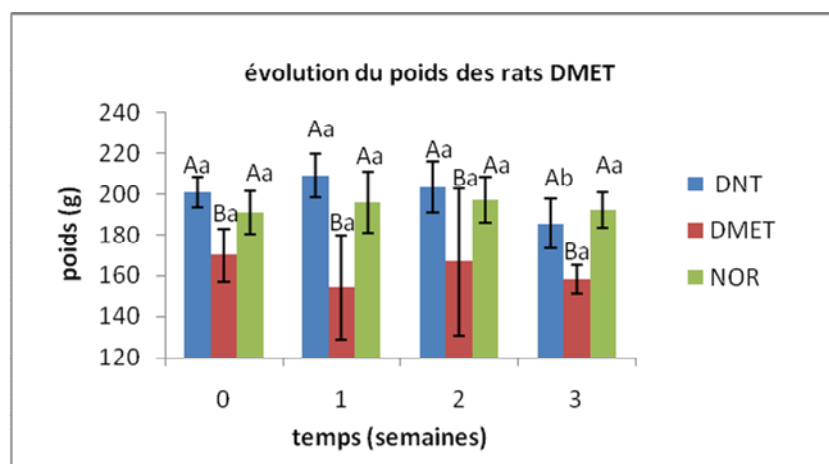


Figure 34: Evolution pondérale des rats diabétiques traités par la métformine (25mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET= diabétiques traités par la metformine)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). A,B,C représentent les valeurs du poids de la même mesure pour des groupes différents. Les lettres en majuscule différentes indiquent des valeurs du poids significativement différentes. Les lettres a, b, c représentent l'évolution du poids du même groupe dans le temps. Deux lettres en minuscule différentes désignent des valeurs du poids significativement différentes.

II.4. Quantité de la nourriture consommée par les rats

La quantité de la nourriture consommée par les rats étudiés est l'un des paramètres mesurés durant notre travail, en fait la polyphagie constitue un symptôme majeur du diabète. Ce paramètre nous renseigne essentiellement sur le rétablissement de la sécrétion de l'insuline ainsi que le degré de l'utilisation de glucose par les cellules. En raison d'une utilisation réduite de glucose par les cellules, lors d'une carence aigue en insuline, ainsi que son élimination *via* les tubules rénaux, l'apport d'alimentation augmente pour compenser le manque d'énergie (**Bouglé et Annane, 2009**). Les graphes des **figures 35 à 39** représentent la

quantité de la nourriture consommée chaque deux jour par les rats étudiés au cours de la deuxième et la troisième semaine de l'expérimentation.

II.4.1. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par les huiles fixes des graines de la *Nigella sativa*

Les trois figures ci-après, représentent l'évolution quotidienne de la quantité de nourriture consommée par les rats traités par l'huile totale (**Figure 35**), l'huile polaire (**Figure 36**) et l'huile neutre (**Figure 37**) de la graine de la *Nigella sativa*. Nous constatons d'après ces figures, qu'il n'existe pas de différence prononcée dans la quantité de nourriture consommée entre les rats des groupes témoins, et les rats des groupes traités par les fractions de l'huile fixe des graines de *Nigella sativa*.

Ces résultats montrent que les rats témoins et les rats diabétiques, traités par les huiles fixes des graines de *Nigella sativa*, ne présentent pas de polyphagie durant cette période du traitement. Cela s'explique probablement par l'hyperglycémie modérée observée chez ces rats. Le glucose est maintenu dans le sang jusqu'à son utilisation, malgré son oxydation lente par les cellules, et cela, en raison de sa concentration plasmatique qui n'a pas encore atteint le seuil rénal, où il sera éliminé dans les urines. L'élimination de glucose *via* les tubules rénaux, provoque un gaspillage d'énergie, ce qui se traduit par un besoin excessif de l'apport de nourriture (polyphagie) (**Perlemuter et al., 2000**).

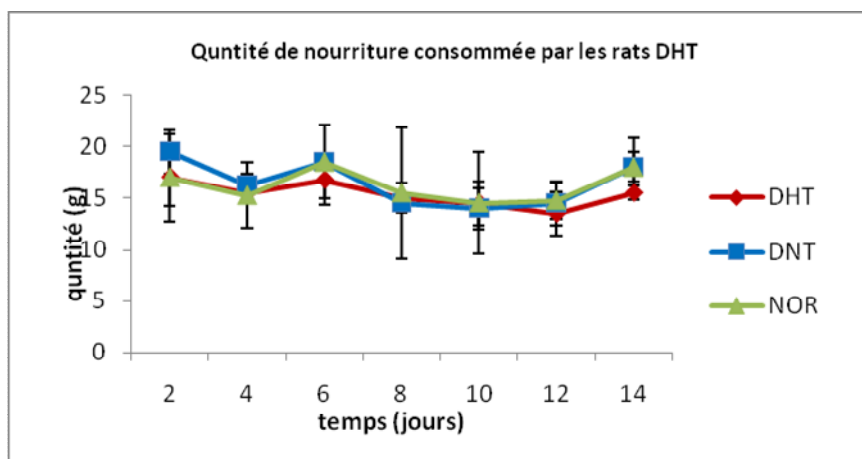


Figure 35 : Quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par l'huile totale (100mg/kg).

(NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par l'huile totale)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

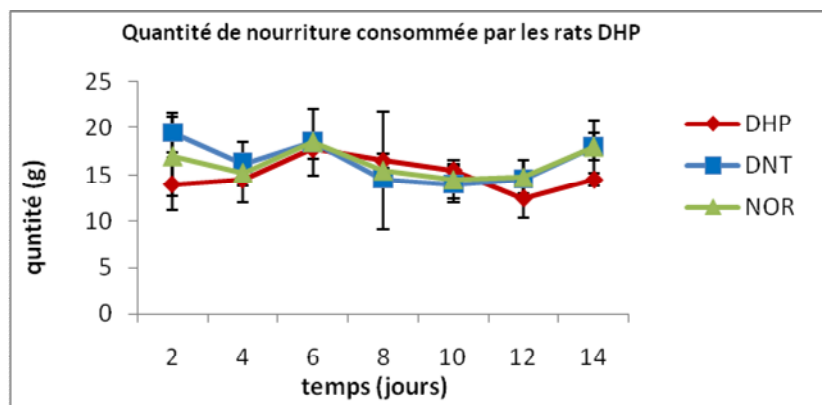


Figure 36 : Quantité de nourriture consommée par les rats traités par l'huile polaire (100mg/kg).
 (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

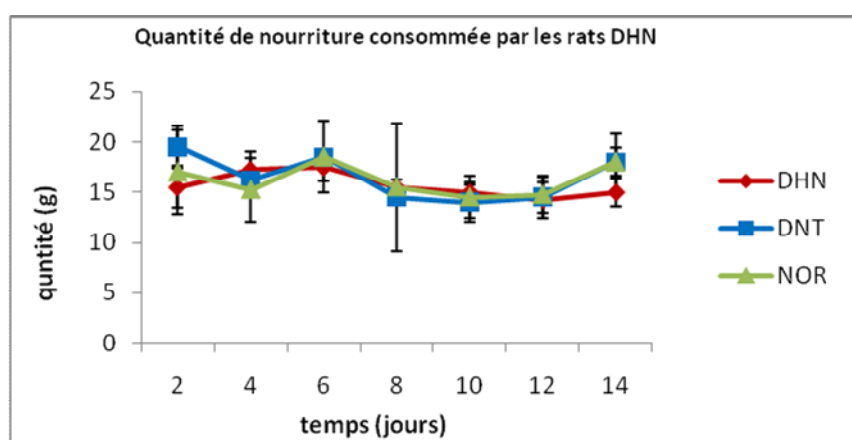


Figure 37 : Quantité de nourriture consommée par les rats traités par l'huile neutre (100mg/kg).
 (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHN= diabétiques traités par l'huile neutre)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

II.4.2. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la métformine

Selon la figure ci-dessous, la quantité de nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la métformine durant la deuxième et la troisième semaine du traitement, est largement supérieure à celle consommée par les rats témoins. Nous remarquons également, que ce groupe de rats a gardé le même comportement alimentaire pendant ces deux semaines, dont la valeur de la quantité de l'aliment prise varie entre $20.5 \pm 2g$ et $23 \pm 2g$ (Figure 38).

La polyphagie observée chez ce groupe de rats, est le résultat d'un déficit quasi-total en insuline, dont le rôle est primordial dans la capture et l'utilisation de glucose par les cellules de l'organisme. Le manque de l'utilisation de glucose par les cellules, ainsi que son

échappement au niveau des tubules rénaux, sont les deux facteurs qui laissent l'organisme en manque intense en énergie (Perlemuter *et al.*, 2000).

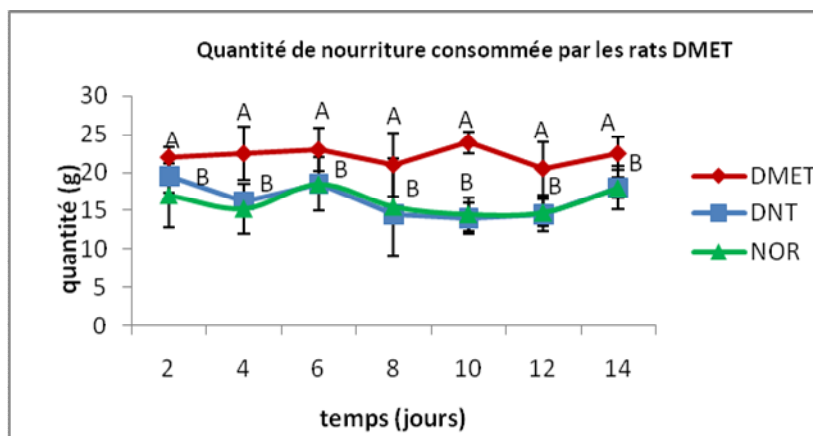


Figure 38: Quantité de la nourriture consommée par les rats traités par la métformine (25mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET= diabétiques traités par la metformine)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.
 Deux lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes.

II.4.3. Quantité de la nourriture consommée par les rats diabétiques traités par la thymoquinone

Les rats traités par la thymoquinone, comme il est élucidé sur la **figure 39**, présentent une prise alimentaire presque similaire à celle des groupes témoins, et à celle des autres groupes de rats, quoiqu'une légère diminution dans la quantité de nourriture consommée par ce groupe est observée pendant la première semaine.

Mai Le et ses collaborateurs (2004), ont rapporté que l'extrait de la *Nigella sativa* possède un effet anorexique sur des rats normaux. Cependant, aucun de nos extraits n'a montré un effet prononcé sur le comportement alimentaire des rats étudiés.

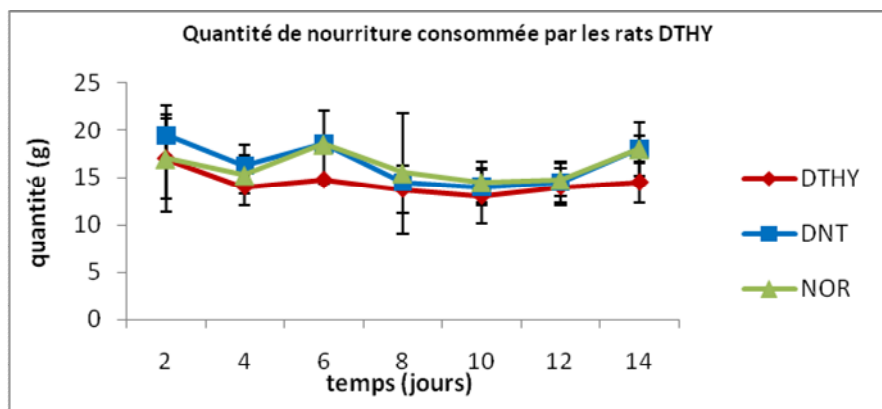


Figure 39 : Quantité de nourriture consommée par les rats traités par la thymoquinone (25mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET= diabétiques traités par la metformine)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

II.5. Volume d'eau consommée par les rats

La polydipsie, ou la consommation excessive d'eau, est l'un des symptômes du diabète sucré. Pour cela, nous avons procédé à l'étude de ce paramètre, qui est le résultat d'une hyperglycémie causée essentiellement par un déficit en insuline (**Silbernagl et Lang, 2002**). La polydipsie résulte de deux mécanismes; (i) une baisse de la pénétration cellulaire de glucose, et (ii) en même temps que cette barrière apparaît, la production de glucose par le foie est augmentée (accroissement de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse). La glycosurie est conséquence de l'hyperglycémie dès lorsque le seuil rénal du glucose est dépassé. Une molécule de glucose entraîne avec elle plusieurs molécules d'eau, ce qui explique la polyurie et la polydipsie compensatrice qu'elle entraîne (**Silbernagl et Lang, 2002**).

Le volume d'eau consommé par les rats, reflète l'efficacité des extraits testés, en effet la polydipsie disparaît lorsque le taux normal de glucose plasmatique est rétabli, et augmente davantage avec la diminution de l'insulinémie. Les graphes des **figures 40 à 44** représentent le volume d'eau consommé chaque deux jour par les rats étudiés durant la deuxième et la troisième semaine de l'expérimentation.

II.5.1. Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par les extraits des graines de *Nigella sativa*

Les figures ci-dessous montrent que le volume d'eau consommé par les rats diabétiques non traités (DNT) apparaît plus élevé que celui consommé par les rats normaux, et cela durant toute la période d'étude, quoique la différence dans la consommation d'eau n'est pas significative entre ces deux groupes de rats.

Il n'existe pas de différence significative dans le volume d'eau consommé par les rats des groupes témoins et les rats des groupes traités par les extraits de la graine de *Nigella sativa* (**figure 40,44, 42, 46**) pendant cette période de traitement, et cela revient à la glycémie modérée induite chez ces groupes de rats dont le seuil rénal du glucose n'est pas encore dépassé.

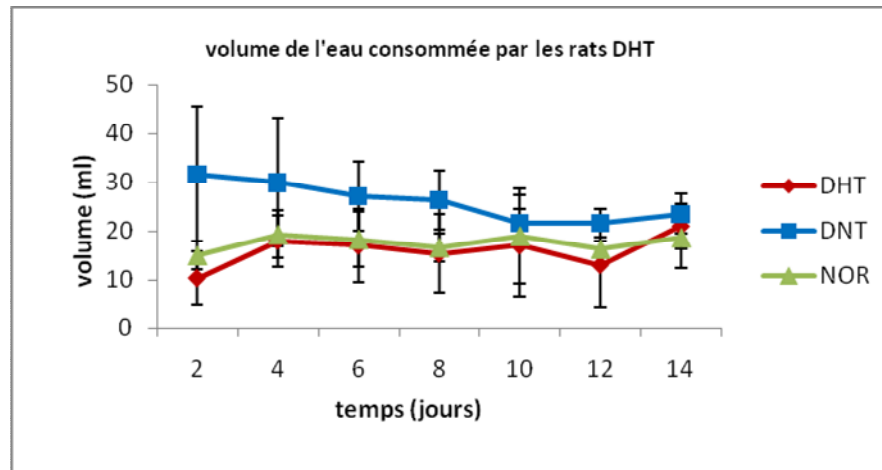


Figure 40: Volume d'eau consommée par les rats traités par l'huile totale (100mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHT= diabétiques traités par l'huile totale)
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

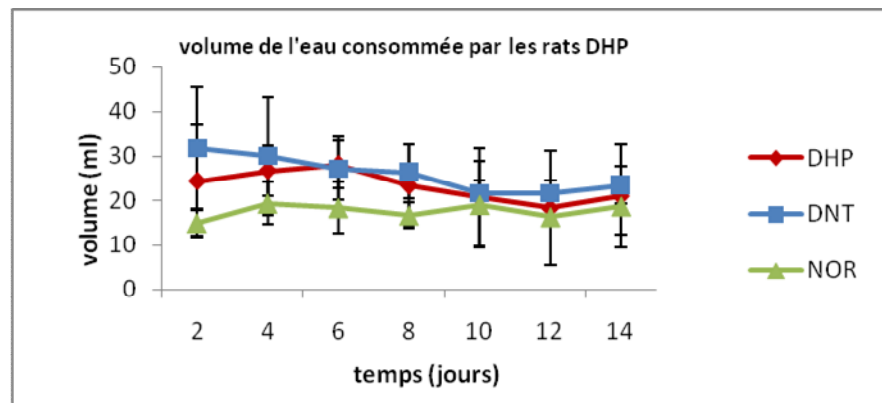


Figure 41: Volume d'eau consommée par les rats traités par l'huile polaire (100mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DHP= diabétiques traités par l'huile polaire)
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

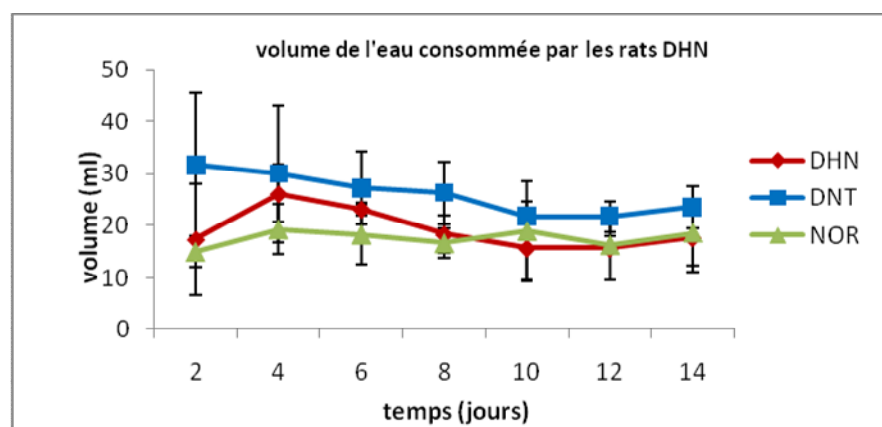


Figure 42: Volume d'eau consommée par les rats traités par l'huile neutre (100mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DNT= diabétiques traités par l'huile neutre)
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

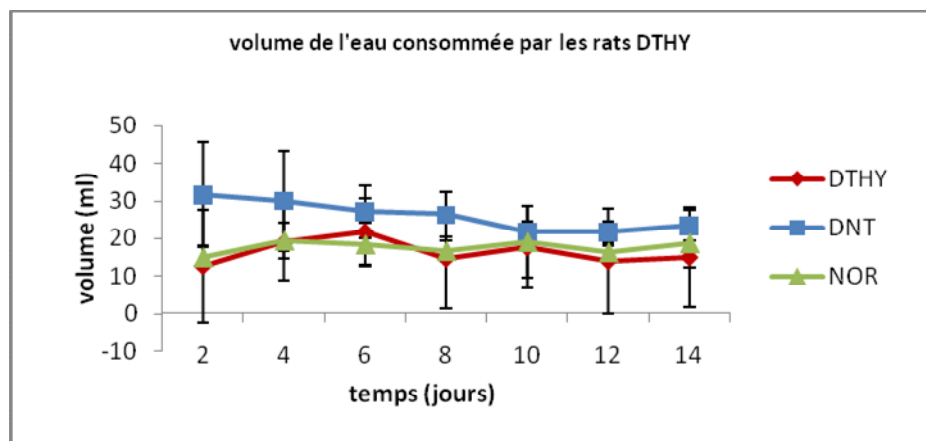


Figure 43: Volume d'eau consommée par les rats traités par la thymoquinone(25mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DTHY= diabétiques traités par la thymoquinone)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.

II.5.2. Volume d'eau consommée par les rats diabétiques traités par la métformine

Les rats traités par la métformine, montrent une polydipsie importante dépasse largement celle présentée par les rats diabétiques non traités, dont la consommation d'eau augmente considérablement durant cette période (**Figure 44**). Cette prise excessive d'eau, montrée par ce groupe de rats, s'explique par l'hyperglycémie franche durant toute la période du traitement (**Figure 18**). Suite à cette concentration élevée de glucose plasmatique, la glycosurie sera importante d'où la sortie massive d'eau *via* les tubules rénaux, qui mène vers une polydipsie compensatrice.

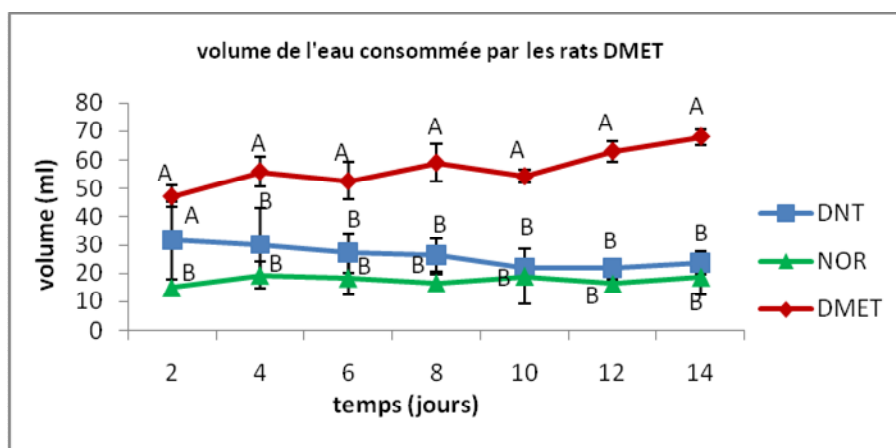


Figure 44 : Volume d'eau consommée par les rats traités par la métformine (25mg/kg). (NOR= rats normaux; DNT=diabétiques non traités; DMET= diabétiques traités par la metformine)
 Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD.
 Deux lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes.

II.6. Etude de la glycémie post-prandiale

L'un des aspects auxquels nous nous sommes intéressés durant notre travail, est la glycémie post-prandiale, ce paramètre s'avère important, car l'augmentation du taux de glucose après les repas, est l'une des causes principales des complications associées à la maladie. La recherche d'inhibiteurs des glycosidases intestinales, et des transporteurs de glucose est une approche incontournable pour le control de la glycémie post-prandiale et les complications qu'elle entraîne.

II.6.1. Effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur la glycémie post-prandiale

A) Effet de l'huile neutre et polaire sur les glycosidases intestinales

Les résultats montrent que l'huile polaire et l'huile neutre ont un effet inhibiteur sur la glycémie post-prandiale des rats, ayant reçu une solution d'amidon avec une dose de 1g/kg. Le groupe des rats non traités et le groupe des rats traités par l'acarbose constituent les groupes témoins. L'acarbose ($C_{25}H_{43}NO_{18}$), triholoside, est un antidiabétique utilisé pour traiter le diabète de type 2. C'est un inhibiteur des enzymes glycosides hydrolases nécessaires à la digestion des carbohydrates (sucres), surtout l'alpha glucosidase intestinale et alpha amylase pancréatique. Ces enzymes hydrolysent les oligosaccharides, trisaccharides et disaccharides en glucose et autres monosaccharides au niveau des intestins grêles. L'inhibition de ces systèmes enzymatiques réduit la digestion des carbohydrates complexes.

Nous constatons que la glycémie post-prandiale diminue légèrement tout en augmentant la dose administrée de l'extrait, aussi bien pour l'huile polaire que pour l'huile neutre (**Figure 45**). Le meilleur effet hypoglycémiant est observé avec la dose de 100mg /kg de l'acarbose.

Cette faible réduction de la glycémie post-prandiale induite par l'huile polaire et l'huile neutre, reviendrait à l'inhibition de l'activité des glycosidases intestinales (α -amylase et α -glucosidase), ce qui provoque une faible libération de glucose à partir de l'amidon ingéré. Le transport intestinal de glucose, serait également une cible des extraits testés, son inhibition empêche le passage de glucose dans le sang, donc une réduction de la glycémie post-prandiale.

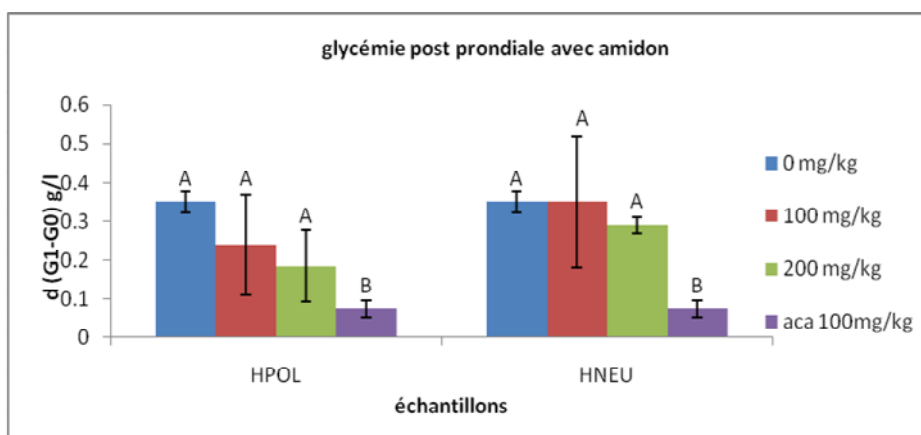


Figure 45: Effet de l'huile polaire et de l'huile neutre sur les glycosidases intestinales (α -amylase et α -glucosidase)

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). Deux lettres différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. HNEU : huile neutre, HPOL : huile polaire.

B) Etude de l'effet inhibiteur des extraits sur le transport intestinal de glucose

L'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre de la graine de *Nigella sativa* est apparent sur la glycémie post-prandiale des rats ayant reçu une solution de glucose (dose 0.5g/kg) comme nourriture (**Figure 46**).

Nous constatons que sous l'effet de l'huile polaire, la glycémie post-prandiale apparaît plus réduite avec une dose de 100mg/kg qu'avec une dose de 200mg/kg, tandis que l'effet de l'huile neutre sur la réduction de la glycémie post-prandiale, augmente avec l'augmentation de la dose administrée.

L'efficacité de l'huile polaire à réduire la glycémie post-prandiale avec une dose de 100 mg/kg qu'avec une dose de 200mg/kg, peut revenir à une erreur lors de la manipulation (les intervalles du temps ne sont pas parfaitement respectés).

Les résultats suggèrent que cette fraction ne possède pas d'effet significatif sur l'inhibition du transport intestinal de glucose, mais plutôt sur l'inhibition de l'action des glycosidases intestinales.

L'inhibition des glycosidases intestinales par l'huile polaire, serait le résultat de l'occupation du site actif de l'enzyme par l'un des composés de l'huile, conduisant ainsi à une dégradation très réduite de l'amidon, et une faible libération de glucose dans la lumière intestinale, dont son passage dans le sang sera forcément diminué.

La réduction de la glycémie post-prandiale par l'huile neutre, observée dans les deux tests (test A et test B), nous laisse penser que cet extrait empêche l'absorption de glucose par les entérocytes. En fait, la dégradation de l'amidon lors du premier test (test A) par les glycosidases intestinales (α -amylase et α -glucosidases), qui restent actives en présence de l'huile neutre, conduit à une forte libération de glucose, ce qui implique l'élévation de sa concentration dans la lumière intestinale, et en raison d'un faible passage des molécules de glucose dans le sang, causé par l'huile neutre, la glycémie post-prandiale apparaît légèrement réduite.

En utilisant une solution de glucose, le test B (**Figure 46**) confirme que l'huile neutre n'a pas d'effet inhibiteur sur les glycosidases intestinales, mais elle ralentit le passage de glucose dans le sang. La réduction de la glycémie post-prandiale dans ce cas, peut résulter du blocage des transporteurs de glucose sodium dépendant (SGLUT 1), qui se situent sur la face apicale de la membrane des entérocytes.

La formation de complexes de l'huile avec le glucose, ce qui empêche la pénétration de ce dernier dans le sang, peut être également une cause de la réduction de la glycémie post-prandiale. Il a été rapporté que l'extrait aqueux de la graine de *Nigella sativa* inhibe le transport intestinal de glucose (**Meddah et al., 2009**). L'huile neutre des graines de *Nigella sativa*, peut être l'un des composés de cet extrait, contribuant dans cette action.

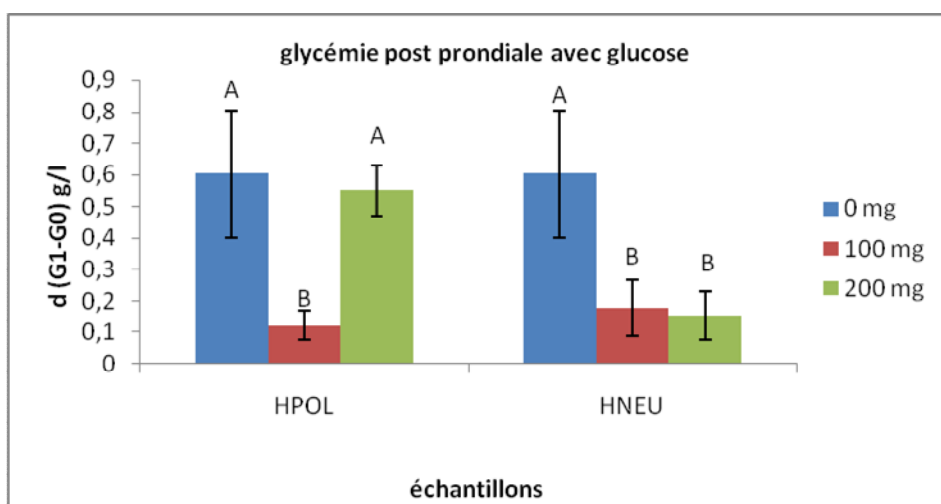


Figure 46 : Effet de l'huile neutre et de l'huile polaire sur le transport intestinal de glucose

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). Deux lettres différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. HNEU : huile neutre, HPOL : huile polaire.

C) Action de l'huile neutre et de l'huile polaire sur l'activité de l'alpha glucosidase

La **figure 47** représente le pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α glucosidase *in vitro*, par l'huile polaire et par l'huile neutre des graines de *Nigella sativa*, ou le pourcentage d'inhibition de l' α glucosidase par l'huile neutre, diminue avec la diminution de la concentration de cet extrait, et atteint son minimum (27%) à une concentration de 0.195 mg/ml, puis augmente à une concentration inférieure (0.097mg/ml) à 39%. Le pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α glucosidase par l'huile polaire, est nettement plus important que celui observé avec l'huile neutre, le maximum d'inhibition apparaît avec une concentration de 0.39mg/ml. Avec les concentrations les plus élevées (1.56mg/ml et 0.781 mg/ml) dans notre expérimentation, l'huile neutre présente un effet inhibiteur moins important.

L'inhibition de l'activité de l' α glucosidase par l'huile polaire, qui apparaît plus importante que celle montrée par l'huile neutre, est due probablement à un blocage meilleur du site actif de l'enzyme par l'huile polaire. Ce résultat est en agrément avec la glycémie post-prandiale, où il est montré que l'huile polaire inhibe l'action de l' α glucosidase intestinale. De même élucide également que l'huile neutre ne réduit pas uniquement le transport intestinal de glucose mais elle agit aussi en inhibant légèrement l'action des glycosidases intestinales.

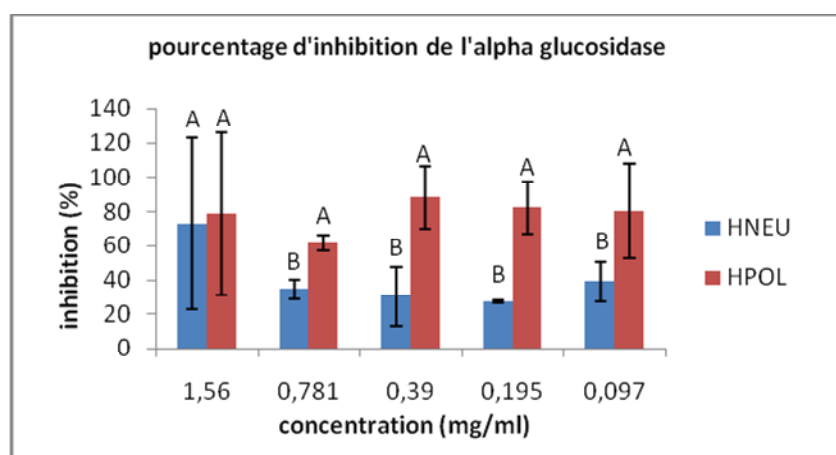


Figure 47 : Inhibition de l'alpha glucosidase par l'huile neutre et polaire.

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD ($p \leq 0.05$). Deux lettres différentes indiquent des valeurs de glycémies significativement différentes. HNEU : huile neutre, HPOL : huile polaire.

II.7. Discussion générale

Durant ce travail, nous avons procédé à étudier l'effet hypoglycémiant de quelques extraits de la graine de *Nigella sativa* sur des rats diabétiques. Après extraction des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* par soxhlet selon un protocole modifié de **Ramadan et Morsel, 2002a**, les résultats obtenus montrent que les graines contiennent 13 % à 20 % d'huiles fixes, un taux relativement faible à celui cité par plusieurs auteurs, cela revient probablement à la qualité des graines et la région de la récolte, ainsi que la méthode utilisée pour l'extraction (**Benkaci–Ali et al., 2007**).

L'huile fixe des graines de *Nigella sativa*, comme il a été cité dans la partie bibliographique, est constituée de deux fractions majeures; les huiles polaires et les huiles neutres. Les pourcentages de ces deux fractions varient entre 3 % à 4 % de lipides polaires et 96 % à 97 % de lipides neutres (**Ramadan et Morsel, 2002a**). L'analyse de l'huile totale obtenue après extraction a révélé 4 % à 9 % de l'huile polaire et 90 % à 96 % de l'huile neutre.

Pour pouvoir confirmer l'effet de nos échantillons sur la glycémie à jeun, nous avons mesuré différents paramètres qui sont en relation avec la sécrétion et l'action de l'insuline, tels que : la glycémie, la cholestérolémie, la triglycéridémie, l'évolution pondérale, la quantité de nourriture et de l'eau consommée.

- **Effet des extraits testés sur l'évolution de la glycémie**

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent qu'avec une dose de 100 mg/kg/jour, l'huile totale et l'huile neutre des graines de *Nigella sativa* agissent en diminuant la glycémie des rats diabétiques durant toute la période de traitement (3 semaines). Cette action peut être due à; (i) l'inhibition de la néoglucogénèse hépatique, (ii) sensibilisation des tissus périphériques à l'action de l'insuline, (iii) stimulation de la sécrétion de l'insuline et (iv) la régénération des cellules β pancréatiques (**Hawsawi et al., 2001; Mai Le et al., 2004; Houcher et al., 2007**). Quant à l'huile polaire, son action apparaît très efficace pendant les deux premières semaines du traitement, puis cette action diminue durant la dernière semaine. Le traitement par la thymoquinone n'a pas réduit la glycémie, cela revient probablement à la dose administrée (25 mg/kg/J, pendant 3 semaines), qui est faible par rapport à celle citée

dans les références (50 mg/kg/J) dont l'effet hypoglycémiant est très significatif (**Fararh et al., 2005**).

- **Effet des extraits testés sur l'évolution de la cholestérolémie**

L'huile totale et l'huile neutre des graines de la plante *Nigella sativa* réduisent significativement le taux de cholestérol plasmatique vers la fin du traitement. Cela revient probablement à la stimulation de la sécrétion de l'insuline qui favorise le catabolisme des LDL (low density lipoprotein) en augmentant l'activité des LDL récepteurs localisés sur les hépatocytes (70 %) et sur les autres cellules de l'organisme (30 %), diminuant ainsi la libération du cholestérol libre dans le sang (**Vergès, 2007**). L'insuline agit également en activant la LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase), une enzyme responsable du transfert de cholestérol libre en cholestérol estérifié qui migre au centre de la lipoprotéine (HDL), ce qui favorise la diminution de sa concentration plasmatique (**Arii et al., 1997**).

Ces huiles peuvent également activer certaines enzymes qui interviennent dans la diminution de taux de cholestérol plasmatique, telles que : la LCAT, LPL (lipoprotéine lipase) et la LP (lipase hépatique). Il a été rapporté que l'extrait brut des graines de *Nigella sativa* contient des composés réduisant le cholestérol plasmatique (**Mai Le et al., 2004**). De même l'huile fixe de ses graines réduit significativement la concentration de cholestérol plasmatique chez les rats normaux (**Zaoui et al., 2002**). L'action de ces fractions lipidiques, sur la réduction de la cholestérolémie, peut être attribuée aux acides gras mono-insaturés, qui constituent en majorité ces huiles. Les acides gras des huiles inhibent la synthèse du cholestérol par les hépatocytes (**AL-Beitawi et al., 2009**). A la différence de l'huile totale et de l'huile neutre, la réduction du taux de cholestérol plasmatique par l'huile polaire et par la thymoquinone n'est pas significative.

- **Effet des extraits testés sur l'évolution de la triglyceridemie**

Le dosage du taux des triglycérides plasmatiques nous permet de suivre l'évolution de l'état physiologique des rats diabétiques étudiés, ainsi que l'effet thérapeutique de l'extrait administré. Les huiles fixes des graines de *Nigella sativa* que nous avons testé durant notre étude (huile totale, huile neutre, huile polaire), n'ont pas montré d'effet significatif sur la triglyceridemie des rats diabétiques, à la différence de ce qui est rapporté par certains chercheurs (**Zaoui et al., 2002, Mai Le et al., 2004, AL-Beitawi et al., 2009**), où ils ont

montré que les huiles fixes de ces graines réduisent significativement le taux des triglycérides plasmatiques.

AL-Beitawi et ses collaborateurs (2009) ont rapporté que l'effet de l'extrait brut des graines de *Nigella sativa* sur la réduction de la triglyceridemie peut être attribué à la thymoquinone. Durant notre étude, cet effet est observé uniquement après la deuxième semaine de traitement et puis disparaît à la fin de l'expérimentation.

- **Evolution pondérale**

Tous les groupes de rats soumis à un traitement par les huiles fixes des graines de *Nigella sativa* (huile totale, huile polaire et l'huile neutre), présentent une stabilité, voire une légère diminution, du poids pendant la première semaine du traitement, puis le poids augmente légèrement pendant les deux dernières semaines. Cela peut être dû au rétablissement des activités métaboliques (métabolisme lipidique et glucidique) des rats, et/ou à la richesse de ces huiles fixes en acides gras qui servent de substrats pour la lipogenèse. Notons que l'huile fixe de ces graines est utilisée dans certains pays comme complément alimentaire (**Ghedira, 2006**). Certains chercheurs (**Mai Le et al., 2004, Zaoui et al., 2002**) ont montré que l'huile fixe des graines de *Nigella sativa* normalise le poids des rats normaux (non diabétiques) qui ont tendance à devenir obèses. Il a été également rapporté que l'extrait brut de ces graines réduit le poids des rats obèses non diabétiques (**Labhal et al., 1999**). Les rats traités par la thymoquinone ont présentés une diminution dans leurs poids, marquée surtout durant les deux dernières semaines du traitement. Cette action est probablement le résultat d'une prise alimentaire plus au moins réduite associée à une hyperglycémie relativement sévère observée chez ce groupe de rats.

- **Glycémie post-prandiale**

Après les tests effectués *in vivo* et *in vitro* à fin de montrer l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre, des graines de *Nigella sativa* sur la glycémie post-prandiale, il s'est avéré que l'huile polaire réduit la glycémie post-prandiale en inhibant l' α glucosidase intestinale, par contre l'huile neutre agit surtout en diminuant le transport intestinal de glucose.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus après extraction des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa* par *soxhlet* selon un protocole modifié de **Ramadan et Morsel, 2002a**, montrent que les graines contiennent 13% à 20% d'huiles fixes, un taux relativement faible à celui cité par plusieurs auteurs.

L'analyse de l'huile totale obtenue après extraction a révélé 4% à 9% de l'huile polaire et 90% à 96% de l'huile neutre.

L'étude de l'effet hypoglycémiant de nos extraits a révélée qu'avec une dose de 100 mg/kg/jour, l'huile totale et l'huile neutre des graines de *Nigella sativa* agissent en diminuant la glycémie des rats diabétiques durant toute la période de traitement (3 semaines).

Quant à l'huile polaire, son action apparaît très efficace pendant les deux premières semaines du traitement, puis cette action diminue durant la dernière semaine.

Le traitement par la thymoquinone avec une dose de 25 mg/kg/jour n'a pas réduit la glycémie.

Le dosage de la cholestérolémie des rats étudiés montre que, l'huile totale et l'huile neutre des graines de *Nigella sativa* réduisent significativement le taux de cholestérol plasmatique vers la fin du traitement.

A la différence de l'huile totale et de l'huile neutre, la réduction du taux de cholestérol plasmatique par l'huile polaire et par la thymoquinone n'est pas significative.

Les huiles fixes des graines de *Nigella sativa* que nous avons testé durant notre étude (huile totale, huile neutre, huile polaire), n'ont pas montré d'effet significatif sur la triglycéridémie des rats diabétiques.

L'effet de la thymoquinone sur la réduction de triglycérides plasmatiques, est observé uniquement après la deuxième semaine de traitement et puis disparaît à la fin de l'expérimentation.

Tous les groupes de rats soumis à un traitement par les huiles fixes des graines de *Nigella sativa* (huile totale, huile polaire et l'huile neutre), présentent une stabilité, voire une légère diminution, du poids pendant la première semaine du traitement, puis le poids augmente légèrement pendant les deux dernières semaines.

Les rats traités par la thymoquinone ont présentés une diminution dans leurs poids, marquée surtout durant les deux dernières semaines du traitement.

Après les tests effectués *in vivo* et *in vitro* à fin de montrer l'effet de l'huile polaire et de l'huile neutre, des graines de *Nigella sativa* sur la glycémie post prandiale, il s'est avéré que l'huile polaire réduit la glycémie post prandiale en inhibant l' α glucosidase intestinale, tandis que l'huile neutre agit surtout en diminuant le transport intestinal de glucose.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances antidiabétiques d'origine végétale. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les actions mises en évidences.

Il serait intéressant d'approfondir l'étude de l'activité antidiabétique des huiles fixes de la graine de *Nigella sativa*. Le fractionnement de l'huile polaire et de l'huile neutre par des techniques de séparation plus poussées, ainsi que le suivi de l'action antidiabétique de ces fractions *in vivo* et *in vitro*, permettrait de déterminer plus précisément le mécanisme d'action exercée ainsi que la fraction la plus active de l'huile fixe de la graine de *Nigella sativa*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aboul-Ela E.** Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutation Research* 2002; 516: 11–17.
- **Al-Awadi F, Fatania H, Shamte U.** The effect of a plants mixture extract on liver gluconeogenesis in streptozotocin induced diabetic rats. *Diabetes Research* 1991; 18(4):163-168.
- **AL-Beitawi N.A, EL-Ghousein S.S, Nofal A.H.** Replacing bacitracin methylene disalicylate by crushed *Nigella sativa* seeds in broiler rations and its effects on growth, blood constituents and immunity. *Livestock Science* 2009 ; 125 : 304–307.
- **Al-Gaby A. M. A.** Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Nahrung* 1998; 42:290– 294.
- **Ali H, Houghton P.J, Soumyanath A.** Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology* 2006; 107: 449–455.
- **Al-Jishi S.A, Abuo Hozaifa B.** Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 85:7–14.
- **Al-Naggar T.B, Gómez-Serranillos M.P, Carretero M.E,Villar A.M.** Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 88:63–68.
- **Al-Saleh I, Billedo G, El-Doush I.** Levels of selenium, DL-a-tocopherol, DL-g-tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006; 19:167–175.

- **Arii K, Suehiro T, Yamamoto M, Ito H, Hashimoto K.** Suppression of plasma cholesteryl ester transfer protein activity in acute hyperinsulinemia and effect of plasma nonesterified fatty acid. *Metabolism* 1997 ; 46(10):1166-1170.
- **Arslan S. O, Gelir E, Armutcu F, Coskun O, Gurel A, Sayan H, Celik I. L.** The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutrition Research* 2005; 25: 673–680.
- **Arulmozhi D K, Veeranjanyulu A, Bodhankar S L.** Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology* 2004; 36 (4): 217-221.
- **Ashraf M, Ali Q, Iqbal Z.** Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2006; 86:871–876.
- **Atta M.B.** Some characteristics of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* 2003; 83: 63–68.
- **Atta-ur-Rahman, Malik S, Cun-heng H, Clardy J.** Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters* 1985a; 26: 2759-2762.
- **Atta-ur-Rahman, Malik S, Hasan S.S, Choudhary M.I, Ni C-Z, Clardy J.** Nigellidine, a new indazol alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Letters* 1995; 36:1993-1996.
- **Atta-ur-Rahman, Malik S, Zaman K.** Nigellimine, a new isoquinoline from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal of natural products* 1992; 55: 676-678.

- **Badary O.A, Abd-Ellah M.F, El-Mahdy M.A, Salama S.A, Hamada F.M.** Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45:88–92.
- **Badary O.A, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FMA.** The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology* 2000;143:219–26.
- **Benkaci-Ali F, Baaliouamer A, Meklati B and Chemat F.** Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal* 2007; 22:148-153.
- **Bennett R, Pegg A.** Alkylation of DMA in Rat Tissues following Administration of Streptozotocin. Alkylation of DNA in Rat Tissues following Administration of Streptozotocin. *Cancer Research* 1981; 41: 2786-2790.
- **Bhat N.R, Kulkarni G.R, Madhava R.A, Murthy S. K.** Studies on the inhibition a fatty acid synthesis in the chicken liver by adenine compounds *in vitro*. *Journal of Bioscience* 1979; 1(4): 369–375.
- **Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A.** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *International Journal of Diabetes & Metabolism* 2002; 10:33-50.
- **Bolzan A D, Bianchi M S.** Genotoxicity of Streptozotocin. *Mutation Research* 2002; 512: 121–134.
- **Bonnier G.** La grande flore en couleur. *Ed Belin, Paris*1990; Tome 1. pp: 17.
- **Boskabady M.H, Shahabi M.** Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Nigella sativa* on isolates guinea-pig tracheal chains. *Iranian Journal of Medical Sciences* 1997; 22: 127-133.

- **Boskabady, M.H., Shiravi, N.** Inhibitory effect of *Nigella sativa* on histamine (H1) receptors of isolated guinea pig tracheal chains. *Pharmaceutical biology* 2002; 40: 596 – 602.
- **Boskabady M.H, Shirmohammadi B, Kiani S, Jandaghi P.** Stimulatory effect of *Nigella sativa* on β_2 -adrenoceptors of guinea pig tracheal chains. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 2004; 18(2) 153-158.
- **Boudiaf K.** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère 2006. Département de biologie. Université Ferhat Abbas (Sétif) Algérie.
- **Bouglé A, Annane D.** Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 2009; 28 :193–199.
- **Bucher P, Mathe Z, Buhler L.H, Andres A, Bosco D, Berney T, Morel P.** Le traitement du diabète de type I par transplantation. *Annales de chirurgie* 2005 ; 130 : 374–383.
- **Busch-Brafin M.S, Pinget M.** Le diabète de type 2. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 2001 ; 2 :103-114.
- **Büyüköztürk S, Gelincik A, özseker F, Genc S, öguz Savran F, Kıran B, Yıllar G, Erden S, Aydın F, Colakoglu B, Dal M, özer H, Bilir A.** *Nigella sativa* (black seed) oil does not affect the T-helper 1 and T-helper 2 type cytokine production from splenic mononuclear cells in allergen sensitized mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 100: 295–298.
- **Cefalu W T.** Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. *ILAR Journal* 2006; 47(3): 186-198.

- **Chakravarty N.** Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Annals of allergy* 1993; 70: 237-242.
- **Chang M.L, Yang J, Kem S, Klaidman L, Sugawara T, Chan P.H, Adams J.** Nicotinamide and ketamine reduce infarct volume and DNA fragmentation in rats after brain ischemia and reperfusion. *Neuroscience Letters* 2002; 322:137–140.
- **Cheikh-Rouhou S , Besbes S , Hentati B , Blecker C, Deroanne C, Attia H.** *Nigella sativa L*: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry* 2007; 101:673–681.
- **Devos P.** Effets propres de l’insuline par rapport au contrôle glycémique. *Réanimation* 2008 ; 2:8-11.
- **Drouin P, Blickle J.F, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau P.J, Plouin P.F, Daninos J.M, Balarac N, Sauvanet J.P.** Diagnostic et classification du diabète sucré. les nouveaux critères ; *Diabetes & Metabolism* 1999 ; 25 :72-83.
- **Dubois D, Timsit L.J.** Diabète de type 1 et environnement. *Médecine science* 2000 ; 16 (10) : 1045-1050.
- **Duffas D.P.** La transplantation pancréatique. *Journal de Chirurgie* 2004 ; 141 (3) : 142-149.
- **Eddouks M, Ouahidi M. L, Farid O, A. Moufid, Khalidi A et Lemhadri A.** Utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 2007; 5:194–203.
- **El-Abhar H.S, Abdallah D.M, Saleh S.** Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 84:251-258.

- **El-Dakhakhny M, Barakat M, Abd El-Halim M, Aly S.M.** Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000b; 72: 299-304.
- **El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lembert N, Ammon HP.** *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 81:161-164.
- **EL-Daly E.S.** The effect of *Nigella sativa* L. seeds on certain aspects of carbohydrates and key hepatic enzymes in serum of rat. *Journal of Islamic Academy of Sciences* 1994; 7:93-99.
- **El-Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls M R, Dreskin S C.** Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007; 1770: 556–564.
- **El-Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls M.R, Marecki J.C, Dreskin S.C.** Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta* 2006; 1760:1088–1095.
- **El-Mahdy M.A, Zhu Q, Wang Q, Wani G, Wani A.A.** Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *International Journal of Cancer* 2005; 117:409–417.
- **El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan M.A, Shimizu Y, El-Sayed M.G, Minamoto N, Takewaki T.** Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International Immunopharmacology* 2002; 2:1603–1611.

- **El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiin T, Matsuyam H, El-Sayed M, Takewak T.** Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *International Immunopharmacology* 2005; 5:195–207.
- **El-Ouaghlidi A, Nauck M A.** GLP-1 : de nouveaux traitements pour le diabète de type 2, *diabetes voice* 2004 ; 49 (2) :24-26.
- **El-Tahir K. E, Ashour M.M, AI-Harbi M.M.** The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *General pharmacology* 1993; 24: 1115-1122.
- **El-Tahir K.H, Bakeet M.D.** The black seed *Nigella sativa* Linnaeus- A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil. *Medical Science* 2006; 1:1-19.
- **Fararh K.M, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T.** Isulinotropic properties of *Nigella sativa* oil in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamster. *Research in Veterinary Science* 2002; 73:279–282.
- **Fararh K.M, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T.** Mechanismes of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Research in veterinary science* 2004; 77:123-129.
- **Fararh K.M, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem M.M, Takewaki T.** Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science* 2005; 79: 219–223.
- **Fumeron F.** De l'obésité au diabète de type 2 : épidémiologie et physiopathologie. *Cholé-doc* 2005 ; 88.
- **Gale E.A.M.** The Discovery of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2001; 50: 217-226.

- **Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R.** Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *International Journal of Oncology* 2004; 25 (4): 857–866.
- **Gali-Muhtasib H, Roessner A, Schneider-Stock R.** Thymoquinone: A promising anti-cancer drug from natural sources. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2006; 38: 1249–1253.
- **Geenen.V.** Nouvelles approches du diagnostic et de la pathogénie du diabète de type 1. *Louvain Médical* 2004 ; 123 :260-266.
- **Ghedira K.** La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 2006 ; 5: 220–226.
- **Gilani A.H, Aziz N, Khurram I.M, Chaudary K.S, Iqbal A.** Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji). *Journal of the Pakistan Medical Association* 2001; 51: 115-120.
- **Gillard P, Lannoo M, Keymeulen B, Mathieu C.** Traitement du diabète par la greffe d'îlots. *Flammarion Médecine-Sciences-Actualités Néphrologiques* 2004 ; 159-165.
- **Giudicelli J, Cattan N.** Données immunologiques du diabète de type 1. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 2001 ; 25(2):85-90.
- **Goetz P.** Phytothérapie du diabète .*Phytothérapie* 2007; 5:212–217.
- **Guillausseau P-J, Laloi-Michelin M.** Physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne* 2003 ; 24: 730–737.
- **Gurib-Fakim A.** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 2006; 27: 1–93.

- **Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H.** Black Cumin Seed Essential Oil, as a Potent Analgesic and Antiinflammatory Drug. *Phytotherapy Research* 2004; 18:195–199.
- **Haq A, Lobo P.I, Al-Tufail M, Rama N, Al-Sedairy S.T.** Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *International Journal of Immunopharmacology* 1999; 21: 283-295.
- **Harada M, Makino S.** Promotion of spontaneous diabetes in non-obese diabetes-prone mice by cyclophosphamide. *Diabetologia* 1984; 27:604-606.
- **Hawsawi Z.A, Ali B.A, Bamosa A.O.** Effect of *Nigella sativa* (black seed) and Thymoquinone on Blood Glucose in Albino rats. *Annals of Saudi Medicine* 2001; 21:242-244.
- **Hennen G.** *Endocrinologie*. DeBoeck 2001; 94-95.
- **Hosseinzadeh H, Parvardeh S.** Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 2004; 11: 56–64.
- **Houcher Z, Boudiaf K , Benboubetra M , Houcher B.** Effects of Methanolic Extract and Commercial Oil of *Nigella sativa* L. on Blood Glucose and Antioxidant Capacity in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Pteridines* 2007; 18:8-18.
- **Houghton P.J, Zarka R, De la Heras B, Hoult J.R.S.** Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leucocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Medica* 1995; 61: 33-36.
- **Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M.** Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Neuropharmacology* 2005; 49:456-464.

- **Isik A.F, Kati I, Bayram I, Ozbek H.** A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2005; 28:301–305.
- **Kanter M, Coskun O, Uysal H.** The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Archives of Toxicology* 2006; 80: 217–224.
- **Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H.** Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterol* 2005; 42:6662-6666.
- **Kanter M, Meral I, Yener Z, Ozbek H, Demir H.** Partial regeneration/Proliferation of the β cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoko Journal of Experimental Medicine.* 2003; 201:213-219.
- **Khan M, Ashfaq M, Zuberi H, Mahmood M and Gilani A.** The *In Vivo* Antifungal Activity of the Aqueous Extract from *Nigella sativa* Seeds. *Phytotherapy Research* 2003a; 17:183–186.
- **Khan N, Sharma S, Sultana S.** *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. *Human and Experimental Toxicology.* 2003b; 22(4):193-203.
- **Khatab M.M, Nagi M.N.** Thymoquinone Supplementation attenuates Hypertension and Renal Damage in Nitric Oxide deficient Hypertensive Rats. *Phytotherapy Research* 2007; 21:410–414.
- **Kim D.H, D'Alessio D.A, Woods S.C, Seeley R.J.** The effects of GLP-1 infusion in the hepatic portal region on food intake. *Regulatory Peptides* 2009; 155:110–114.

- **Klein C, Grahner A, Abdelrahman A, Müller C.E, Hauschildt S.** Extracellular NAD⁺ induces a rise in [Ca²⁺] in activated human monocytes via engagement of P2Y₁ and P2Y₁₁ receptors. *Cell Calcium* 2009; 46:263–272.
- **Kokdil G, Tamer L, Ercan B, Ilcim A, Aras N, Atik U.** Effects of *Nigella unguicularis* fixed oil on blood biochemistry and oxidant/antioxidant balance in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 99:131–135.
- **Konrad R J, Zhang F, Hale J E, Knierman MD, Becker G W, Kudlow J E.** Alloxan is an inhibitor of the enzyme O-linked N-acetylglucosamine transferase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 293:207–212.
- **Konrad R, Mikolaenko I, Tolar J, Liu K, Kudlow J.** The potential mechanism of the diabetogenic action of streptozotocin inhibition of pancreatic b-cell O-GlcNAc-selective N-acetyl-b-D-glucosaminidase. *Biochemical Journal* 2001; 356: 34-41.
- **Kwak H.H, Shim W.S, Hwang S, Son M.K, Kim Y.J, Kim T.H, Yoon Z.H, Youn H.J, Lee G.I, Kang S.H, Shim C.K.** Pharmacokinetics and Efficacy of a Biweekly Dosage Formulation of Exenatide in Zucker Diabetic Fatty (ZDF) Rats. *Pharmaceutical Research* 2009; 26(11): 2504-2512.
- **Labhal A, Settaf A, Zalagh F, Cherrah Y, Hassar M, Slaoui A.** Propriétés anti-diabétiques des graines de *Nigella sativa* chez le *Meriones shawi* obèse et diabétique. *Espérance Médicale* 1999; 47 :72–74.
- **Li Y, Wen S, Kota B.P, Peng G, Li G.Q, Yamahara J, Roufogalis B.D.** *Punica granatum* flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 99: 239-244.
- **Mahmood M. S, Gilani A. H., Khwaja A, Rashid A and. Ashfaq M. K.** The *In Vitro* Effect of Aqueous Extract of *Nigella sativa* Seeds on Nitric Oxide Production. *Phytotherapy Research* 2003; 17:921–924.

- **Mai Le P, Benhaddou-Andaloussi A, Elimadi A, Settaf A, Cherrah Y, Haddad P. S.** The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 94:251–259.
- **Malaisse W J, Malaisse-Lagae F, Sener A, Pipeleers D G.** Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1982; 79: 927-930.
- **Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-buys D, Novelli M, Ribes G.** Development Of a New Model in Adult Rats Administered Streptozotocin and Nicotinamide. *Diabetes* 1998; 47: 224-229.
- **Masiello P.** Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic β cell mass. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2006; 38: 873–893.
- **Meddah B, Ducroc R, Faouzi M, Eto B, Mahraoui L, Benhaddou-Andaloussi A, Martineau L.C, Cherrah Y, Haddad P.S.** *Nigella sativa* inhibits glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2009; 121:419-424.
- **Melo S.S, Arantes M.R, Meirelles M.S, Jordão A.A, Vannucchi H.** Lipid peroxidation in nicotinamide-deficient and nicotinamidesupplemented rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetologica* 2000; 37:33-39.
- **Meral I, Donmez N, Baydas B, Belge F, Kanter M.** Effect of *Nigella sativa* L. on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 2004; 31: 49-53.
- **Meral I, Yener Z, Kahraman T.** Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *Journal of Veterinary Medical A* 2001; 48: 593-599.

- **Merfort I, Wray V, Barakat H, Hussein S.A.M, Nawwar M.A.M, Willuhn G.** Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry* 1997; 46: 359-363.
- **Michelitsch A, Rittmannsberger A.** A Simple Differential Pulse Polarographic Method for the Determination of Thymoquinone in Black Seed Oil. *Phytochemistry Analysis* 2003; 14: 224–227.
- **Michelitsch A, Rittmannsberger A, Hüfner A, Rückert U and Likussar W.** Determination of Isopropylmethylphenols in Black Seed Oil by Differential Pulse Voltammetry. *Phytochemistry Analysis* 2004; 15:320–324.
- **Mordes J P, Bortell R, Blankenhorn E P, Rossini A A, Greiner D L.** Rat Models of Type 1 Diabetes: Genetics, Environment, and Autoimmunity. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 2004; 45 (3): 278-291.
- **Morikawa T, Xu F, Kashima Y, Matsuda H, Ninomiya K, Yoshikawa M.** Novel dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of *Nigella sativa*. *Organic letters* 2004a; 6: 869-872.
- **Morikawa T, Xu F, Ninomiya K, Matsuda H, Yoshikawa M.** Nigellamines A3, A4, A5 and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 2004b; 52: 494-497.
- **Musa D, Dilsiz N, Gumushan H, Ulakoglu G, Bitiren M.** Antitumor activity of an ethanol extract of *Nigella sativa* seeds. *Biologia, Bratislava* 2004; 59:735-740.
- **Nair M.K.M, Vasudevan P, Venkitanarayanan K.** Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 2005; 16: 395-398.
- **Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, and Amoli M.A.** Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z. Naturforsch* 2003; 58:629-631.

- **Olmos P.R, Hodgson M.I, Maiz A, Manrique M, De Valdés M.D, Foncea R, Acosta A.M, Emmerich M.V, Velasco S, Muniz O.P, Oyarzun C.A, Claro J.C, Bastias M.J, Toro L.A.** Nicotinamide protected first-phase insulin response (FPIR) and prevented clinical disease in first-degree relatives of type-1 diabetics. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2006; 71:320–333.
- **Oubré A.Y, Carlson T.J, King S.R, Reaven G.M.** From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40: 614–617.
- **Pagola S, Benavente A, Raschi A, Romano E, Molina M.A.A, Stephens P.W.** Crystal Structure Determination of Thymoquinone by High-Resolution X-Ray Powder Diffraction. *AAPS Pharmacological Science Techniques* 2003; 5:1-8.
- **Palsamy P, Subramanian S.** Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2008; 62:598-605.
- **Pavana P, Sethupathy S, Manoharan S.** Antihyperglycemic and antilipidperoxidative effects of *tephrosia purpurea* seed extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2007; 22(1):77-83.
- **Penfornis A, Borot S, Raccah D.** Therapeutic approach of type 2 diabetes mellitus with GLP-1 based therapies. *Diabetes & Metabolism* 2008; 34: S78-S90.
- **Perlemuter L, De l'Hortet G.c, sélam J.L.** diabète et maladies métaboliques. *Masson* 2000 ; 3 :89, 90, 101,150.
- **Peter-Riesch B, Philippe J, Stalder H.** Découverte d'un diabète sucré. *PrimaryCare* 2002; 2:284–290.
- **Portha B.** Anomalies programmées de la sécrétion d'insuline dans le diabète de type 2: le paradigme du rat GK. *Médecine sciences* 2003 ; 8-9 : 847-853.

- **Raj Kapoor B, Anandan A, Jayakar B.** Anti-ulcer effect of *Nigella sativa* Linn. against gastric ulcers in rats. *Current Science* 2002; 82: 177-179.
- **Ramadan M. F, Morsel J.T.** Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oilseeds. *Food Chemistry* 2003; 80:197–204.
- **Ramadan M. F, Morsel J.T.** Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. *Nahrung/Food* 2002 a; 46:240–244.
- **Ramadan M. F, Mörsel J.T.** Direct isocratic normal-phase HPLC assay for fat soluble vitamins and β -carotene in oil seeds. *European food research and technology* 2002c; 214: 521-527.
- **Ramadan M. F, Morsel J.T.** Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. *European Food Research and Technology* 2002b; 214:202–206.
- **Rees DA, Alcolado JC.** Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2005; 22:359-70.
- **Robert J-J.** Diabète de type 1 : diagnostic, traitement par l'insuline, équilibre glycémique et complications. *Revue Francophone De Laboratoire* 2009 ; 409 : 19-21.
- **Rodier M.** Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 2001a ; 25 (2) : 91-93.
- **Rodier M.** Diabète de type 1. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 2001b ; 25 (2) :95-101.
- **Rozvadovskaya A.O, Evstigneev V. P, Davies D. B, Evstigneev M. P.** Interaction between Aromatic Antibiotics and Vitamins: H NMR Study of Heteroassociation of Nicotinamide and Anthracycline Antitumor Antibiotics. *Biophysics* 2006; 51 (2):176–185.

- **Salem M.** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International immunopharmacology*. 2005; 5:1749-1770.
- **Salem M.L, Hossain M.S.** Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *International journal of immunopharmacology* 2000; 22: 729-740.
- **Sandler S, Swenne I.** Streptozotocin, but Not Alloxan, Induces DNA Repair Synthesis in Mouse Pancreatic Islets in Vitro. *Diabetologia* 1983; 25:444-447.
- **Scheen A.J.** Antidiabetic agents in subjects with mild dysglycaemia: prevention or early treatment of type 2 diabetes? *Diabetes & Metabolism* 2007; 33: 3–12.
- **Shoieb A M, Elgayyar M, Dudrick P S, Bell J L, Tithof P K.** *In vitro* inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *International Journal of Oncology* 2003; 22: 107-113.
- **Silbernagl S, Lang F.** Atlas de poche de physiopathologie. Médecine-sciences Flammarion 2002 ; pp: 288.
- **Singh G, Marimuthu P, Heluani C, Catalan C.** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Science of Food and Agriculture* 2005; 85:2297–2306.
- **Srinivasan K, Ramarao P.** Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medical Research* 2007; 125:451-472.
- **Szkudelski T.** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research* 2001; 50: 536-546.
- **Takruri H.R.H, Dameh M.A.F.** Study of the Nutritional Value of Black Cumin Seeds (*Nigella sativa* L). *Journal of Science of Food and Agriculture* 1998; 76: 404-410.

- **Trivin F, Chevenne D, Hautecouverture M.** Bioclinique et biopathologie du diabète sucré gestationnel. *Revue Française des Laboratoires* 2003 ; 357 : 25-29.
- **Vergés B.** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition clinique et métabolisme* 2007 ; 21 : 9–16.
- **Virally M, Blicklé J.F, Girard J, Halimi S, Simon D, Guillausseau P J.** Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes & Metabolism* 2007; 33: 231–244.
- **Walde S S, Dohle C, Schott-Ohly P, Gleichmann H.** Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. *Life Sciences* 2002; 71:1681–1694.
- **Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H.** Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047–1053.
- **Yamamoto H, Okamoto H.** Poly (ADP-ribose) synthetase inhibitors enhance streptozotocin-induced killing of insulinoma cells by inhibiting the repair of DNA strand breaks. *Febs Letters* 1982; 145 (2): 298-302.
- **Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H and Hassar M.** Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 2002; 9: 69–74.
- **Zohary D, Hopf M.** Domestication of plants in the Old World. Third edition Oxford: University Press, 2000; 206.

Annexes

Glossaire médical

- **Analgésique** : variété de médicaments qui permettent d'atténuer, voire de supprimer la douleur.
- **Anesthésique** : toute substance capable d'entraîner la suspension plus ou moins complète non seulement de la sensibilité générale mais aussi de celle d'un organe ou seulement d'une partie du corps.
- **Antiallergique** substance qui s'oppose à la réaction excessive de l'organisme à un agent étranger auquel il est sensibilisé.
- **Anticancéreux** : se dit d'un procédé, d'un médicament, voire d'un produit alimentaire utilisé pour la prévention ou le traitement du cancer.
- **Anticoagulant** : médicament qui empêche la coagulation de sang et donc la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins.
- **Antiépileptique** : médicament destiné à lutter contre l'épilepsie.
- **Antifongique** : médicament actif contre les champignons.
- **Anti-hypertensifs** : substances ou médicaments utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle.
- **Anti-inflammatoire** : il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales.
- **Antimicrobiens** : médicament utilisé pour traiter des maladies microbiennes.
- **Antioxydant** : sont des substances qui empêchent les radicaux libres d'oxyder les protéines, acides gras et autres molécules du corps.

- **Antispasmodique** : synonyme de **Spasmolytique**, médicament possédant la capacité de combattre les spasmes (contractures, crampes, convulsions).
- **Anti-tumorale** : qui permet de lutter contre les tumeurs.
- **Antivirale** : médicament utilisé pour lutter contre les maladies dus au virus comme la grippe.
- **Bronchodilatateur** : est une substance destinée à dilater les bronches pour améliorer la ventilation pulmonaire.
- **Chimio-préventif** : substance naturelle ou synthétique utilisée dans la prévention des cancers.
- **Diurétique** : terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.
- **Gastro-protecteur** : médicaments qui protègent contre les lésions gastriques.
- **Hépatoprotecteur** : substance ou médicament qui protège le foie contre les différentes lésions.
- **Immunomodulateur** : qualifie un traitement qui stimule ou freine les réactions du système immunitaire du corps (« modulation »).
- **Lactogène** : se dit d'une substance qui stimule la sécrétion du lait.
- **Vasodilatateur** : médicament utilisé pour augmenter le diamètre des vaisseaux sanguins.
- **Vermifuge** : se dit d'un remède qui a la propriété d'expulser les vers intestinaux tels que le ténia et l'ascaris.

Glossaire botanique

- **Annuelle** : plante vivant une seule année, celle de son semis. Elle grandit, fleurit, fructifie et meurt en l'espace d'un an.
- **Dicotylédone** : qualifie un végétal dont la plantule a deux cotylédons.
- **Étamine** : un des organes sexuels mâles de la fleur qui contient le pollen
- **Lancéolé** : Une feuille lancéolée est de quatre à neuf fois plus longue que large et sa plus grande largeur se situe vers le milieu ou légèrement en dessous.
- **Nectarifères** : qui sécrète une liqueur sucrée (nectar).
- **Pénnatiséquées** : possèdent une nervation de type penné.
- **Pétale** : élément de la corolle d'une fleur, en général très voyant et très coloré, situé entre les sépales et les organes reproducteurs.
- **Pétiolée** : prolongation étroite de la tige portant la feuille ou les folioles, le rachis.
- **Réceptacle** : prolongement élargi du pédoncule d'une *fleur*, qui supporte le calice
- **Stipule** : du latin *stipula*, petite tige, appendice membraneux ou foliacé, ou écaille situé à la base du pétiole foliaire et en général présent par paire.

RESUME

L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. Actuellement, selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels. Dans le diabète, l'insuline est insuffisante ou elle ne remplit pas ses fonctions de répartition du glucose de façon adéquate dans le sang. Ceci crée un déséquilibre dans l'organisme et le glucose ne sert plus de carburant aux cellules. Le glucose s'accumule alors dans le sang avant d'être acheminé dans l'urine. Cette dysfonction conduit inévitablement à l'hyperglycémie et à de nombreuses complications de santé et problèmes pouvant être graves.

Les graines *Nigella sativa* L. sont utilisées depuis plusieurs siècles contre diverses pathologies humaines. Dans ce travail nous avons développé un modèle animal de diabète induit par la nicotinamide/streptozotocine à fin d'étudier les effets de l'huile totale et les huiles neutres et polaires (fractions de l'huile totale) des graines de *Nigella sativa* sur les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol, triglycérides), sur la glycémie post-prandiale (sur l'activité des glycosidases intestinales et sur le transport intestinal du glucose). L'action, in vitro, des huiles sur l'alpha glucosidase a été également étudiée.

SUMMARY

The use of medicinal plants therapeutical purposes is as old as the human history itself. According to the World Health Organization (WHO), more than 80% of human population, especially in developing countries, uses traditional medicine. In diabetes, insulin is either insufficient or not fulfilling its full function in adjusting blood sugar. This abnormalities lead to cellular dysfunction as sugar is not used efficiently as full by cells leading to its elimination in urines. Glucose accumulation in blood give a pathological situation known as hyperglycemia leading to a number of pathological complications which could be life threatening.

Seeds of *Nigella sativa* L. are widely used for centuries against various human pathologies. In this study we developed an animal model for diabetes induced by nicotinamide/streptozotocin to investigate the effects of total oil, polar and neutral oils (fractions of total oil) from *Nigella sativa* seeds on a number of biochemical parameters (glucose, cholesterol, triglycerides), on post-prandial glycaemia (on the activity of intestinal glycosidases as well as intestinal glucose transport). The in vitro action of these oils on the activity of alpha glucosidase has been carried out.

ملخص

يعود التداوي بالأعشاب الطبية الى الزمن القديم، حاليا و حسب تقارير المنظمة العالمية للصحة (م ع ص)، ازيد من 80% من سكان العالم يعتمدون على هذا النوع من التداوي و خاصة في البلدان المتخلفة. نقص افراز الانسولين من طرف الخلايا البنكرياسية في حالة الداء السكري، او نقص فعاليتها يؤدي الى انتشار غير متوازن للسكر في الدم، ما ينتج عنه نقص في استهلاكه من طرف خلايا الجسم. ارتفاع نسبة السكر في الدم الناتج عن هذا الاضطراب يؤدي الى ظهور مضاعفات عديدة و مشاكل صحية خطيرة. استعمال الحبة السوداء ضد امراض مختلفة عرف منذ قرون عدة. خلال عملنا هذا قمنا بتطوير نموذج حيواني لمرض السكري الناتج عن فعل النيكوتيناميد/ستريبتوزوتوسين لدراسة فعالية الزيوت المحايدة و القطبية على المعلمات البيوكيميائية (الجلوكوز، الكوليسترول و الدهون الثلاثية) و على نسبة السكر في الدم بعد الأكل (الانزيمات المعوية المحللة للسكر و نقل السكر عبر الجدار المعوي). تأثير هذه الزيوت على ألفا جلوكوزيداز درس أيضا.