

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

**Du diplôme de Master Académique**

Par : AZOUZ SOMIA

GHERIBI BOCHRA

MYAH CHAHRAZED

**Intitulé**

**Analyse phytochimique et activités biologiques des  
extraits bruts de l'écorce de la *cucurbita maxima*  
(Citrouille)**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. BELBAHI Amine	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Dr. FREIDJA Mohamed Lamine	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Dr. KHERBACHE Abdallah	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

## Remercîment

En premier lieu nous tenons à dire « *El-Hamdouli'ALLAH* ». Merci à **الله** le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour mener à bien cet humble travail, merci à **الله** de nous orienter vers le droit chemin de la connaissance.

À nos **chères parentes**, nous vous remercions d'avoir toujours été à notre côté, que **الله** vous protège toujours.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, Dr. **FREIDJA Mohamed Lamine** pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du stage.

Nos sincères gratitudes à Dr. **Harrar ABDENASSAR** ET Dr. **Abdallah KHERBACHE** pour leurs conseils et l'intérêt incontestable qu'ils portent à tous les étudiants.

Mes sincères remerciements vont au Mme. **Amina BOUHEDA** et Mme. **Khadija DHIMI** pour leurs conseils et leurs orientations.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à Dr. **Amine BELBAHI** pour ses conseils et ses orientations.

Nous remercions également à tous les membres des laboratoires de microbiologie et biochimie pour leur disponibilité et leurs conseils.

Nous remercions les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

**Je remercie toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à**

**La réalisation de ce travail.**

**Un grand merci à tous.**

## Dédicace

En premier lieu nous tenons à dire « *El-Hamdouli'ALLAH* ». Merci à *ALLAH* le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour mener à bien cet humble travail, merci à *ALLAH* de nous orienter vers le droit chemin de la connaissance.

Je dédie ce travail à : Ma très chère et tendre maman, *SAADIA* La lumière de mon cœur et de ma vie et la source de tendresse, de patience et de sacrifice. Vos prières et vos bénédictions m'ont beaucoup aidé.

A l'âme de mon cher grand-père, que Dieu lui fasse miséricorde et A ma chère grand-mère, que Dieu prolonge sa vie

À ma très chère sœur unique, *SIHAM* Merci d'être là pour moi, merci de me prêter ton épaule quand j'en ai de besoin. Que *ALLAH* vous protégé.

À mon cher frère, *Hamza* Puisse *ALLAH* Que donne la santé, le bonheur et surtout la réussite.

À tous les membres de ma famille, *GREIN* et *AZOUZ*.

À mes chères amies : *SOUHIR*, *BOCHRA* et *AYA* pour tous les bons moments que nous avons partagés ensemble.

À mes chouchou neveux *KOSAY*, et *BAARA*.

À ma chère nièce *HANADI*

À Dr. *Abdenassar Harrar* et Dr *Abdallah KHERBACHE* pour leurs conseils et leurs efforts pour nous aider. Que *ALLAH* les protège.

À tous mes amies de la promotion de Master de Biochimie appliquée (2022/2023).

À la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

**SOMIA**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes parents*

**REZKI**

**BEN ZIA MEBARAKA**

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de  
me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet*

*Mes sœurs*

**SOUMIA**

**AICHA**

**CHAIMA**

*À tous les collègues*

*À tout **ma famille***

*A toute la promotion biochimie appliqué.*

**CHAHRAZED**

*Je dédie ce travail à mes parents **Elhadj** et **Fatiha** qu'ils trouvent ici toute  
ma gratitude pour leur soutien tout le long de mes études*

*A ma chère sœur **karima** et mes chers frères **mouhamed, housseem, et djamel***

*A mes belles sœurs*

*A mes chouchou neveux **Ahmed, Amin, yaman, Jawad** et **Laith***

*A mes chères nièces **Fatima Zahra, et tassnim.***

*A mes copines **somia, wiam** et **hadil.***

**BOCHRA**

# Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction ..... 1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée ..... 1

I. Origine et présentation générale ..... 2

I.1. Description botanique de la famille Cucurbitaceae ..... 2

I.2. Classification..... 3

II. L'espèce de *Cucurbita maxima* ..... 4

II.1. Description botanique de L'espèce *Cucurbita maxima*..... 4

II.2. Classification de la plante *Cucurbita maxima*. ..... 7

II.3. Composition et valeur nutritionnelle ..... 7

II.4. Utilisation de la plante *C maxima*..... 8

Chapitre II : Les métabolites Secondaires ..... 9

I. Généralité ..... 9

II. Classification des métabolites secondaires ..... 9

II.1. Les composés phénoliques ..... 9

II.2. Les alcaloïdes et composés azote ..... 15

II.3. Les composés terpéniques ..... 15

Chapitre III : les activités biologiques..... 16

I. Activité antioxydante ..... 16

I.1. Stress oxydatif..... 16

I.2. Les Radicaux libres..... 16

I.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) ..... 17

I.3. Stress oxydatif et pathologies .....	19
I.4. Antioxydants et systèmes de défense.....	19
I.4.1. Systèmes de défense enzymatique .....	20
I.4.2. Système de défense non enzymatique.....	20
I.5. Evaluation de l'activité antioxydant <i>in vitro</i> .....	21
II. Activité antibactérienne .....	22

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

<b>Chapitre I : Matériel et méthodes.....</b>	<b>.....</b>
I. Matériel .....	24
I.1. Matériel végétale.....	24
I.2. Les souches bactériennes .....	24
II. Méthodes d'analyses.....	24
II.1. Préparation des extraits.....	25
II.2. Tests phytochimiques .....	27
II.3. Dosages chimiques .....	28
II.4. L'activité antioxydante .....	29
II.5. Activités antibactériennes.....	30
II.6. Analyse statistique .....	32
<b>Chapitre II : Résultats .....</b>	<b>.....</b>
I. Rendement de l'extraction de l'écorce de <i>Cucurbita maxima</i> .....	33
II. Caractérisation phytochimique .....	33
III. Dosages chimiques .....	35
IV. L'activité antioxydante.....	37
V. L'activité antibactérienne .....	38
<b>Chapitre III : Discussion .....</b>	<b>42</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>47</b>



## ملخص

*Cucurbita maxima* هي نبات تنتمي إلى عائلة *cucurbitaceae* تستخدم على نطاق واسع في مجالات الأغذية الزراعية والعلاجية. تم تحضير مستخلصات لحاء النبتة بطريقتي النقع في الإيثانول والغلي في الماء، كانت العائدات كالتالي: منقوع الإيثانول (EMHE) 23,45% ومغلي مائي (EDA) 23,17% و أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية المطبقة على مستخلصات لحاء القرع الكبير وجود العديد من عائلات المركبات الكيميائية النشطة بيولوجيًا بما في ذلك الدباغ والكينون والتربينويدات. تم تحديد محتوى البوليفينول بواسطة كاشف Folin-Ciocalteu ويقدر المحتوى بـ : 8,14 لمستخلص (EMHE)، و 10,29 لمستخلص (EDA) ملغ مكافئ لحمض الغاليك/ملغ من المستخلص. ثم تم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام كلورايد الألومنيوم  $AlCl_3$  ويقدر المحتوى بـ : 1,58 (EMHE)، 0,87 (EDA) ملغ مكافئ للكيرسيتين/ملغ من المستخلص . تم إجراء اختبار نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار مضاد الجذور الحرة (DPPH) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) وتقدر التركيزات المثبطة (IC50) بـ : (BHT) 25,33، 126,45 (EMHE)، 234,14 (EDA) ميكروغرام مكافئ لحمض الأسكوربيك /ملغ من المستخلص، تم تحديد النشاطية المضادة للبكتيريا ضد اثنين من السلالات البكتيرية *Escherichia coli* سالبة الغرام و *staphylococcus aureus* موجبة الغرام وفقا لطريقة النشر في الآبار، حيث أظهرت النتائج ان كلا المستخلصين ليس لهما تأثير على السلالتين *E. coli* و *staphylococcus aureus*.

**الكلمات المفتاحية :** القرعيات الكبيرة، الفينولات الكلية، الفلافونويد، النشاطية المضادة للأكسدة

، DPPH، النشاطية المضادة للبكتيريا.

## Abstract

*Cucurbita maxima* is a plant belonging to the *cucurbitaceae* family. It is a plant widely used in the agri-food industry and therapeutic fields. The fruit peel was subjected to two extractions; a maceration in ethanol (EMHE), and an aqueous decoction (EDA). The yields were 23.45% (m/m) for EMHE, and 23.17% (m/m) for EDA. Phytochemical tests applied to *cucurbita maxima* peel extracts showed the presence of several families of potentially bioactive chemical compounds, including tannins, quinones and terpenoids. The content of total polyphenols was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is 8.14 (EMHE), 10.29 (EDA) mg gallic acid equivalent/g. Flavonoids were evaluated by the method using aluminum chlorides  $AlCl_3$ , the content is estimated to be 1.58 (EMHE), 0.87 (EDA) mg quercetin equivalent/g. Antioxidant activity was carried out by the anti-radical test evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), the inhibitory concentrations at 50% (IC<sub>50</sub>) are estimated at 25.33  $\mu$ g/mg (BHT), 126.45  $\mu$ g/mg (EMHE), 234.14  $\mu$ g/mg (EDA). Antibacterial activity was determined against two bacterial strains: *Escherichia coli* (Gram-) and staphylococcus aureus (Gram+), according to the method of diffusion in wehhs. Our results show that the two extracts were without any effect on the *Escherichia coli* and staphylococcus.

**key word:** cucurbita maxima, total phenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, antibacterial activity.

## Résumé

*Cucurbita maxima* est une plante appartenant à la famille des *cucurbitacées* ; Elle est largement utilisée dans les domaines agroalimentaire et thérapeutique. L'écorce du fruit a été soumise à deux extractions, à savoir une macération dans l'éthanol (EMHE), et une décoction aqueuse (EDA). Les rendements sont de 23,45% (m/m) pour EMHE et 23,17% (m/m) pour EDA. Les tests phytochimiques appliqués aux extraits de l'écorce de *cucurbita maxima* ont montré la présence de plusieurs familles de composés chimiques potentiellement bioactives, notamment les tanins, les quinones et les terpénoïdes. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu ; elle est de 8,14 (EMHE) et 10,29 (EDA) mg équivalent d'acide gallique. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant le chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub>. Leur teneur est estimée à 1,58 (EMHE) et 0,87 (EDA) mg équivalent quercétine/g. L'activité antioxydante a été réalisée par le test anti-radicalaire en utilisant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH.). Les concentrations inhibitrices à 50 % (IC<sub>50</sub>) sont estimées à 25,33 µg/mg (BHT), 126,45 µg/mg (EMHE) et 234,14 µg/mg (EDA), L'activité antibactérienne est déterminée vis-à-vis de deux souches bactériennes de référence : *Escherichia coli* (Gram, négatif) et *staphylococcus aureus* (Gram, positive), selon la méthode de diffusion des puits. Les deux extraits n'ont montré aucun effet sur les deux souches *E. coli* et *staphylococcus*.

**Les mots clés :** *Cucurbita maxima*, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, activité antibactérienne

## Liste des abréviations

**BHT** : Hydroxytoluène butyle

**DMAPP** : Diméthylallyldiphosphate

**DMSO** : Dimethylsuloxyde

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**EDA** : Extrait décoction aqueuse

**EMHE** : Extrait macération hydro-éthanolique

**EOA** : Espèces oxygénées activées

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FRAP**: Ferric reducing-antioxidant power

**GPx**: Glutathion peroxydase

**GSH-Px**: L'enzyme glutathion peroxydase

**IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice 50%

**IPP**: Isopentényldiphosphate

**NADPH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation

**Récepteurs NMDA** : N-méthyl-D-aspartate

**Se** : Le sélénium

**SOD** : Superoxyde dismutases

**TAC** : Capacité antioxydante totale

## Liste des figures

<b>Figure 3:</b> feuilles de <i>Cucurbitaceae</i> .....	5
<b>Figure 4:</b> Fleur male (coupe longitudinale).....	5
<b>Figure 5:</b> Fleur femelle.....	6
<b>Figure 6:</b> Fruit de <i>C maxima</i> . .....	6
<b>Figure 7:</b> Structure de phénol.....	9
<b>Figure 8:</b> Structure des acides phénoliques .....	10
<b>Figure 9:</b> structure de base des flavonoïdes .....	10
<b>Figure 10:</b> Différent classe de flavonoïdes. ....	11
<b>Figure 13:</b> Catégories de composés de la coumarine. ....	13
<b>Figure 14:</b> Monomères et la classification des lignanes.....	14
<b>Figure 15:</b> Structure de stilbène. ....	14
<b>Figure 17:</b> Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants .....	16
<b>Figure 19:</b> Sources endogènes d'espèces réactives. ....	19
<b>Figure 20:</b> Réduction du complexe $Fe^{2+}$ -(TPTZ) <sub>2</sub> par un antioxydant générique (RH).....	22
<b>Figure 21:</b> <i>E. coli</i> .....	23
<b>Figure 22:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23
<b>Figure 23:</b> Situation géographique de région de récolte de <i>cucurbita maxima</i> .....	24
<b>Figure 24:</b> préparation des échantillons .....	25
<b>Figure 25:</b> protocole de préparation de l'extrait aqueux par décoction .....	26
<b>Figure 26:</b> protocole de préparation de l'extrait hydro-éthanolique par macération .....	27
<b>Figure 27:</b> Réaction entre le DPPH• et le composé antioxydant pour former le DPPH. ....	30
<b>Figure 29:</b> Teneur des polyphénols totaux des extraits EDA et EMHE .....	36
<b>Figure 30:</b> Teneur des flavonoïdes totaux des extraits EDA et EMHE .....	37
<b>Figure 31:</b> Pourcentages d'inhibition du DPPH• .....	38
<b>Figure 32:</b> Effet du DMSO sur les bactéries étudiées. ....	39
<b>Figure 33:</b> Antibiogramme de <i>E. coli</i> et <i>Staphylococcus</i> .....	40

**Figure 34:**Zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* et *staphylococcus aureus* .....41

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Espèces et variétés de la cucurbita.....	3
<b>Tableau 2:</b> Représente les classifications classiques de la <i>cucurbita maxima</i> .....	7
<b>Tableau 3:</b> Espèces réactives radicalaire et non radicalaire.....	17
<b>Tableau 4:</b> Les souches bactériennes utilisés.....	24
<b>Tableau 5:</b> Aspect, couleur et rendement de différents extraits de <i>cucurbita maxima</i> . ....	33
<b>Tableau 6:</b> Résultats des tests phytochimiques.....	34
<b>Tableau 7:</b> Résultats visuels des tests phytochimiques.....	34
<b>Tableau 8:</b> Résultats de la teneur en polyphénols dans les deux extraits.....	35
<b>Tableau 9:</b> Les résultats de la teneur en flavonoïdes dans les deux extraits.....	36
<b>Tableau 10:</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits bruts et de BHT.....	37
<b>Tableau 11:</b> Zones d'inhibition de l'antibiogramme de staphylococcus et E. coli.....	40
<b>Tableau 12:</b> Diamètres des zones d'inhibition (mm).....	41

# Introduction



## Introduction

Les chercheurs recueillent chaque jour des preuves supplémentaires sur la possibilité de prévenir ou d'améliorer l'évolution de nombreuses maladies grâce à l'utilisation d'antioxydants, qu'ils soient directement acquis par l'alimentation ou assurés par des compléments alimentaires. La fonction des antioxydants est de prévenir ou de contrôler les processus d'oxydation. **(DE ES., 2021)**

Les médicaments traditionnels et/ou indigènes sont utilisés depuis des siècles. De nombreuses études ethnobotaniques sur les plantes médicinales utilisées par la population locale ont été réalisées dans différentes parties du monde, et ont suggéré que plusieurs plantes médicinales ont été utilisées comme compléments alimentaires pour le traitement de nombreuses maladies. En Inde et en Chine, l'utilisation de plantes médicinales est pratiquée depuis longtemps comme un moyen moins coûteux de traiter divers problèmes de santé **(Ratnam et al., 2017)**.

Parmi celles-ci, la famille des *Cucurbitaceae* fournit un éventail de cultures nutritives, savoureuses et colorées, qui sont principalement consommées pour leurs fruits et leurs graines, utilisées comme sources d'huiles ou de médicaments, ou encore utilisées comme éponges ou récipients **(Grumet et al., 2021)**.

Les *Cucurbitaceae* sont une source de plusieurs molécules présentant une activité antioxydante, qui protègent l'organisme vis-à-vis de certaines maladies **(Caili et al., 2006)**.

L'objectif de ce travail est d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de *Cucurbita Maxima* pour valoriser l'écorce de son fruit, considérée jusque-là comme un déchet alimentaire et encourager ainsi les consommateurs à adopter un régime alimentaire sain.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



# **Chapitre I : Présentation de la plante étudiée**



## I. Origine et présentation générale

Les légumes-fruits en général et ceux de la famille des *Cucurbitaceae* sont des sources essentielles de vitamines et de minéraux dans le régime alimentaire des populations des pays africains.

Près de 90 genres et plus de 700 espèces de plantes composent la famille des *Cucurbitaceae*, les genres les plus répandus étant *Cucurbita*, *Cucumis*, *Luffa*, *Citrullus*, *Momordica* et *Lagenaria*. En raison de leur tolérance aux températures chaudes et sèches, les *cucurbitacées* sont fréquemment cultivées dans les pays tempérés et tropicaux (Gnanvossou et al., 2006).

*Cucurbitaceae* sont des plantes très anciennes qui ont été découvertes dans des vestiges archéologiques américains. Bien que son origine soit supposée être en Amérique, il existe des populations sauvages de *Cucurbita pepo* en Afrique, et *Cucurbita Pepo*, *Cucurbita moschata* sont toutes des variétés originaires d'Amérique et *Cucurbita maxima* de l'Asie (Ghedira, et Goetz.,2013).

### I.1. Description botanique de la famille Cucurbitaceae

Les *Cucurbitaceae* sont caractérisées par un seul style avec seulement les stigmates plus ou moins libres et par des vrilles proximales de 2 à 5 branches ramifiées ou non. Elles palynologiquement diverses et divisibles en 8 tribus (Jeffrey.,1980).

- **Les fleurs**

Les fleurs sont régulières et presque toujours unisexuées., Les plantes sont généralement pentamères et gamopétales.

Le périanthe possède 5 sépales sont souvent petits et reliés entre eux, et 5 pétales soudés en une corolle campanulée avec tube étroit et des lobes étalés ou presque aplatis, de couleurs blanches, rouges, orange, ou jaune (Botineau., 2010).

- **fruits**

Les fruits se caractérisent par une forme et une taille différente qui permet de différencier chaque espèce, Ils ont un grand nombre de graines, ces dernières sont aplaties, parfois ailées, sont dépourvues d'albumen et possèdent un embryon droit ainsi que des cotylédons gras et épais, riches en huile. Ces graines peuvent se décharger de manière explosive (Botineau., 2010).

- **Habitat**

Toutes les *Cucurbitaceae*s ont des parties aériennes sensibles, mais les espèces des zones tempérées peuvent résister au gel grâce à leurs parties souterraines tubérisées (Botineau., 2010).




## I.2. Classification






Le genre *Cucurbita* appartient à la famille des *Cucurbitaceae*. Elle est constituée de :

- *Cucurbita moschata*
- *Cucurbita pepo L*
- *Cucurbita maxima*
- *Cucurbita Mixta*
- *Cucurbita Ficifolia*

Trois d'entre elles, *Cucurbita pepo L.*, *Cucurbita maxima*, et *Cucurbita moschata*, représentent des espèces économiquement importantes, cultivées dans le monde entier et dont la production est élevée (Caili et al.,2006).

**Tableau 1:** espèces et variétés de la cucurbita (Polese., 2006).

Espèces	Variétés	Images
<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Courge musquée (Courge Butternut)</i>	
	<i>Musquée de Provence</i>	
	<i>Citrouille</i>	

<i>Cucurbita Pepo</i>	<i>Pâtisson</i>	
	<i>Courge spaghetti</i>	
<i>Cucurbita maxima</i>	<i>Giraumon</i>	
	<i>Potiron</i>	
	<i>Potimarron</i>	

## II. L'espèce de *Cucurbita maxima*

### II.1. Description botanique de L'espèce *Cucurbita maxima*

*Cucurbita maxima* appartient à la famille des *cucurbitacées*. C'est un légume vert à feuilles. Les fruits sont de taille, de couleur, de forme et de poids variables. Ils ont une écorce modérément dure, avec une chair épaisse et comestible en dessous, et une cavité centrale pour les graines. Le fruit contient de nombreuses graines. La plupart des graines sont dodues et de couleur havane ou blanc tendre. Elles sont toutes recouvertes d'une chair orange de la *C maxima* est destinée à la consommation humaine : comme les soupes, les purées, les confitures et les tartes dans le monde entier (Alfawaz.,2004).

- **Tige**

Presque toujours longues et trainantes, quelquefois courtes, jamais dressées, cylindrique ou très obscurément anguleuses (Naudin.,1856).

- **Feuilles**

Réniformes avec cinq lobe courts et aigus, obtus arrondis entre lesquels les sinus sont à peine sensibles ou nuls, séparent, peu prononcés, pédoncules floraux (mâles et femelle) cylindriques et non anguleux (Naudin.,1856).



**Figure 1:** feuilles de *Cucurbitaceae* (spichiger et al., 2002).

- **Les fleurs**

Les fleurs mâles ont un calice campanulé à contour arrondi, sans constriction au-dessous du point d'insertion des sépales (étroits, linéaires, grêles, parfois filiformes, avortés, très rarement élargis et prenant un aspect foliacé), et une corolle campanulée à lobes réfléchis qui est typiquement jaune vif (Naudin.,1856)



**Figure 2:**Fleur male (coupe longitudinale) (Juan et al., 2023).

Les fleurs mâles différent de structure, de couleur et de croissance, sont plus longues (6-12 cm) que les fleurs femelles, qui mesurent 3-5 cm. La couleur des fleurs varie du jaune à l'orange pâle (Kaur et al.,2020).



**Figure 3:** Fleur femelle (Juan et al., 2023).

- **Les fruits**

Grand (60 à 80 cm de diamètre transversal) ou moyenne taille, Ils ont souvent le volume de la tête et le pédoncule du fruit est claviforme ou cylindrique (Naudin.,1856).



**Figure 4:** Fruit de *C maxima*.

- **La chair *C maxima***

Est fine, à peine filandreuse, généralement jaune vif à orange, parfois blanc jaunâtre ou rose, et parfois jaune brunâtre (Naudin.,1856).

- **Les graines**

Grand (20 à 24 mm de long, 12 à 14 mm de large)., ovales, avec des bords saillants, parfois plus ou moins effacés, ou nulle, une couleur qui change du blanc pur au fauve foncé (Naudin.,1856).

## II.2. Classification de la plante *Cucurbita maxima*.

**Tableau 2:** représente les classifications classiques de la *cucurbita maxima*. (Caili et al.,2006).

<b>Classification</b>	
<b>Règne</b>	Plante
<b>Division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Sous-division</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotyledonae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Poly patella</i>
<b>Série</b>	<i>Caliciflorae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Passiflorales</i>
<b>Famille</b>	<i>Cucurbitaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Cucurbita</i>
<b>Espèces</b>	<i>Maximus</i>

## II.3. La composition et valeur nutritionnelle

Il s'agit d'une bonne source de caroténoïdes, de potassium et de vitamines, et il contient une grande quantité de fibres, bêta-carotène (Guiné.,2012). Des protéines, lipides, cendres, stérols, sa teneur élevée en polysaccharides, acides para-amino-benzoïques, acides gras mono- et polyinsaturés et huile fixe, l'acide c-amino-butyrique (graine, fruit), des glycosides phénoliques, de l'acide 11E-octa-décatriénoïque (feuilles, graine), des flavonoïdes, des alcaloïdes, des dérivés

phénoliques, des tanins, des hydrates de carbone, des saponines, de magnésium (Les graines) (Wahid et al.,2021).

#### II.4. Utilisation de la plante *C maxima*

- **Dans le domaine agroalimentaire :** *Cucurbita maxima* est un légume qui peut être utilisé pour obtenir différents produits alimentaires, tels que des sirops, des confitures, des gelées et des purées., il a une faible teneur énergétique, ce qui en fait un bon aliment d'un point de vue nutritionnel
- **Sur le plan thérapeutique :** aide à prévenir certains types de cancer, les maladies cardiovasculaires et la dégénérescence maculaire, possède des propriétés antioxydantes, grâce à la désactivation des radicaux libres (Guiné.,2012). Grâce à contiennent de magnésium (graines) qui agit comme un bloqueur des récepteurs NMDA donc réduire les douleurs aiguës ou chroniques (les douleurs nerveuses) (Wahid et al.,2021).

# **Chapitre II : Les métabolites**

## **Secondaires**



## I. Généralité

Les plantes sont capables de synthétiser une grande variété de composés organiques de faible poids moléculaire appelés composés secondaires., dont la structure est généralement unique et complexe (Goossens et al.,2003).

Les métabolites secondaires générés par les plantes représentent une source majeure de produits naturels qui jouent un rôle important dans la biochimie et la physiologie des plantes et qui présentent diverses propriétés pharmaceutiques, Ils constituent une source fiable pour la découverte et le développement de médicaments comme en témoignent la longue histoire des médicaments à base de plantes et la grande proportion de médicaments d'origine végétale sur le marché actuel (Lin et al.,2013).

De nombreux métabolites secondaires végétaux possèdent des activités biologiques intéressantes et trouvent des applications, telles que pharmaceutiques, insecticides, colorants, arômes et parfums (Goossens et al.,2003).

## II. Classification des métabolites secondaires

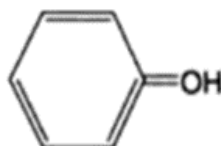
Les métabolites secondaires des plantes sont répartis dans les groupes principaux suivants :

- Les composés phénoliques
- Les alcaloïdes et composés azotes
- Les composés terpéniques

### II.1. Les composés phénoliques

Les composés chimiques simples comme les acides phénoliques et les grands polymères complexes comme les tanins et la lignine, ainsi que les flavonoïdes, constituent la grande famille des substances chimiques appelées polyphénols (Hopkins., 2003).

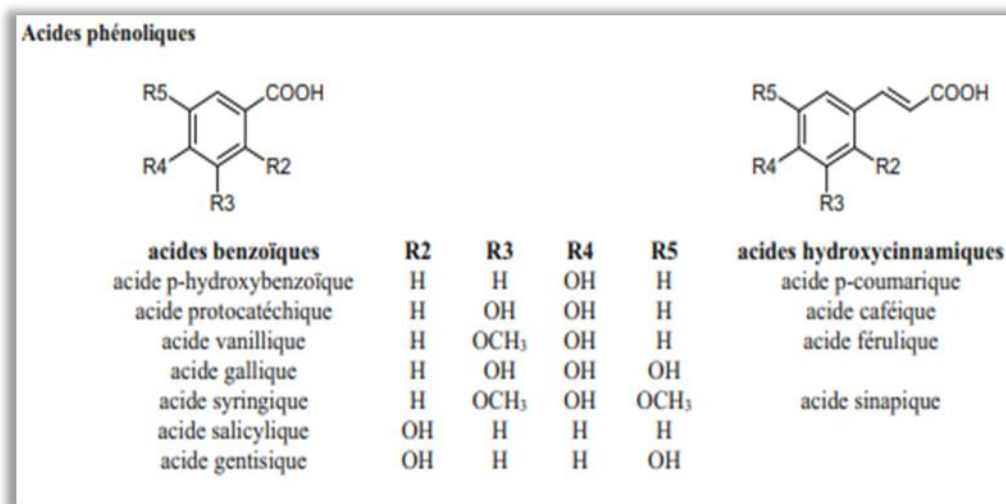
La structure de base est phénol, un cycle aromatique hydroxylé :



**Figure 5:** Structure de phénol (Hopkins., 2003).

### II.1.1. Les acides phénoliques

Ce sont de simples composés organiques de phénols dérivés en C6 du cycle benzénique, classés en deux groupes : les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques (**Chira et al., 2008**).

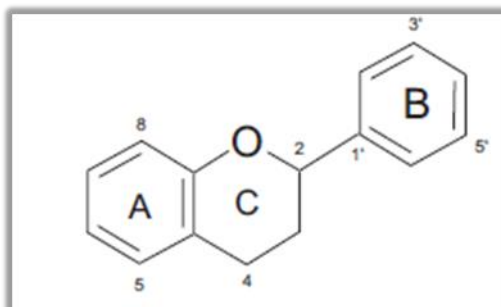


**Figure 6:** Structure des acides phénoliques (**Chira et al., 2008**).

### II.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe importante de produits naturels, ils appartiennent à une classe de métabolites secondaires végétaux ayant structure polyphénolique, largement présents dans les fruits, les légumes et certaines boissons. Ils ont divers effets favorables effets biochimiques et antioxydants favorables associés à diverses maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, ... etc. (**Panche et al., 2016**).

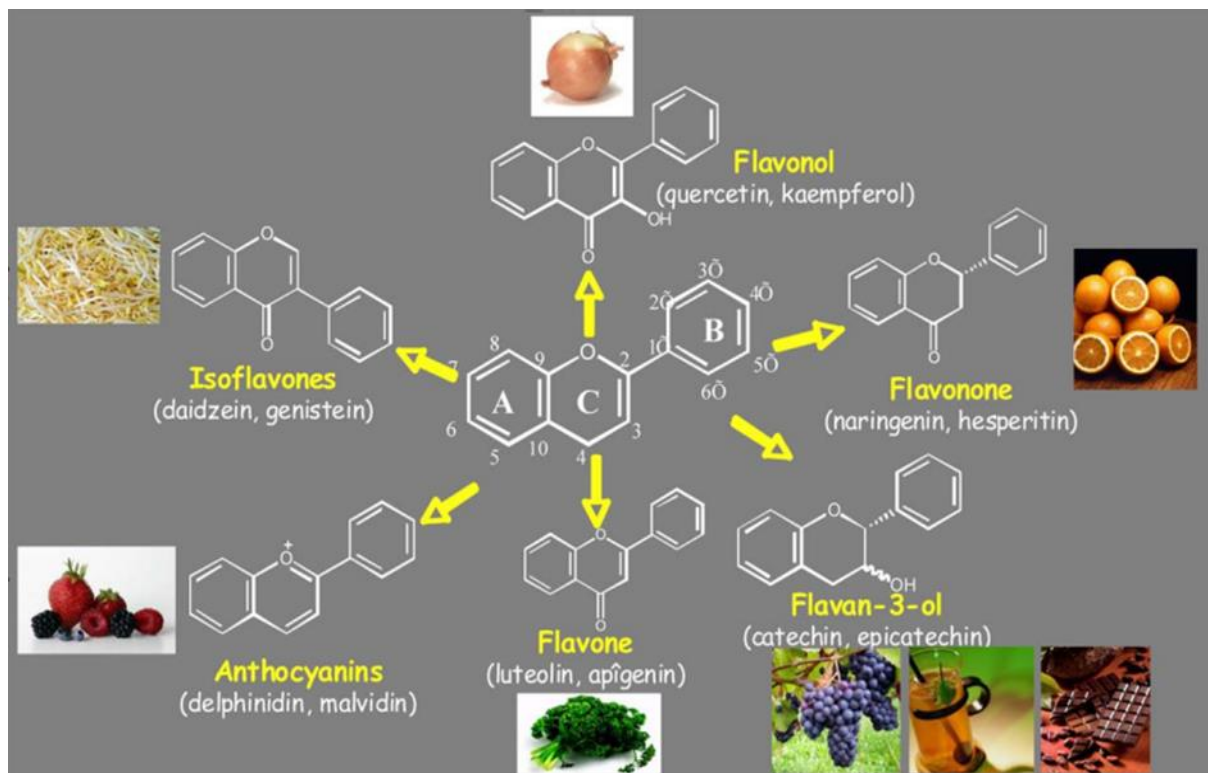
- La structure de base des flavonoïdes comporte 15 atomes de carbone disposés en deux anneaux aromatiques reliés par une chaîne linéaire de trois atomes de carbone.



**Figure 7:** structure de base des flavonoïdes (**Panche et al., 2016**).

### ➤ Classification des flavonoïdes

La figure ci-dessous illustre la classification des flavonoïdes. et les aliments qui en contiennent



**Figure 8:** Différentes classes de flavonoïdes. (Stoclet et Schini-Kert., 2011).

#### A. Les flavones et flavonols

Les flavones sont l'un des sous-groupes importants des flavonoïdes. Ils possèdent une double liaison entre les positions 2 et 3 et une cétone en position 4 du cycle C. Par rapport aux flavones, les flavonols possèdent un groupe hydroxyle en position 3 de l'anneau C (Panche *et al.*, 2016).

#### B. Les flavanols

Les flavanols ou catéchines constituent l'une des principales sous-classes de flavonoïdes, la caractéristique structurale discriminante des flavanols, qu'ils n'ont en commun qu'avec les anthocyanidines, est l'absence d'un groupe d'oxygène en position 4 de l'anneau C hétérocyclique.

Les flavanols sont très présents dans les aliments d'origine végétale ; ils ont été trouvés dans le thé, les fruits et les légumes (Hollman et Arts., 2000).

### C. Isoflavones :

Les isoflavones constituent une sous-classe distincte et très importante de composés flavonoïdes. Leurs structures constituent le squelette du 3-phénylchromène qui est dérivé chimiquement du squelette 2-phénylchromène par un mécanisme de migration des aryles (**Brodowska., 2017**).

### D. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments naturels responsables des couleurs bleue, violette, rouge et orange de nombreux fruits et légumes. Plus de 500 anthocyanes différents ont été décrits dans la littérature. Leur structure est basée sur le cation flavilium ou 2-phénylbenzopyrilium, avec des groupes hydroxyle et méthoxyle présents à différentes positions de la structure de base (**De Pascual et al., 2010**).

### E. Chalcones

Les chalcones, ou 1,3-diaryl-2-propène-1-ones, appartiennent à la famille des flavonoïdes. Chimiquement, ce sont des flavonoïdes à chaîne ouverte dont les deux cycles aromatiques sont reliés par un système carbonique  $\alpha, \beta$ -insaturé à trois carbones (**Rozmer et Perjési., 2016**).

#### II.1.3. Les tanins

Les tanins ont été classés en deux groupes en fonction de leur type de structure :

- Les tanins hydrolysables
- Les tanins condensés.

#### II.1.4. Les saponines

Les saponines sont généralement connues comme étant des composés non volatils et tensioactifs largement répandus dans la nature, principalement dans le règne végétal (**Deshpande et al.,1986**).

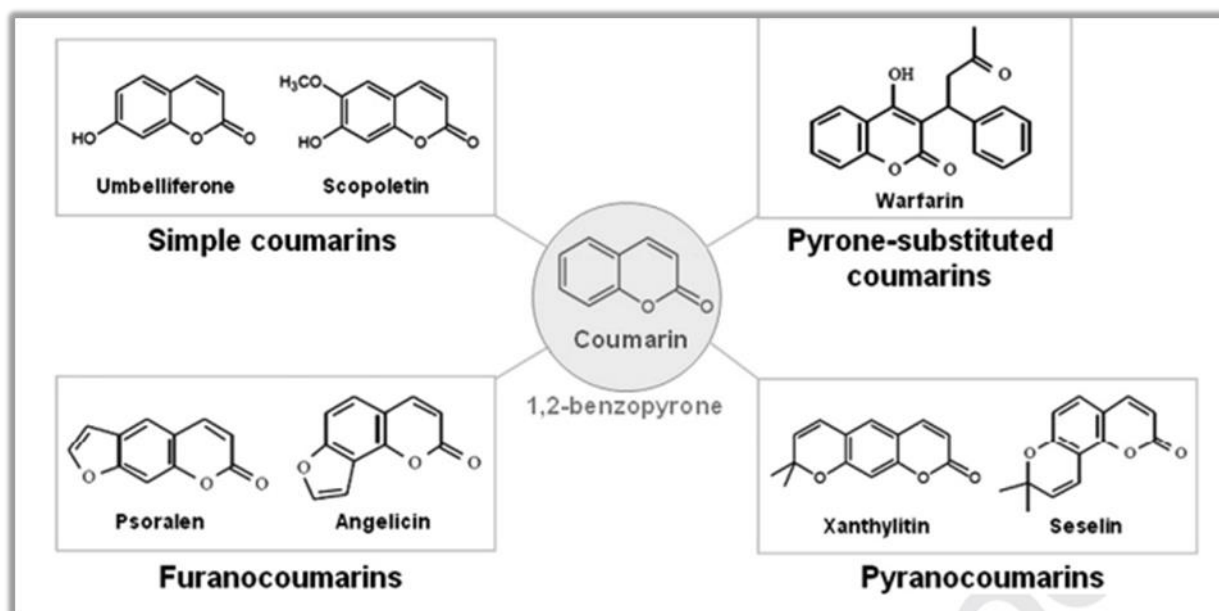
Le nom "saponine" est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie "savon", parce que les molécules de saponine des mousses semblent à du savon lorsqu'elles sont agitées avec de l'eau. Il s'agit de molécules structurellement diverses qui sont chimiquement désignées comme des glycosides triterpéniques et stéroïdiens. Elles sont constituées d'aglycones non polaires couplés à un ou plusieurs groupes de monosaccharides (**Vincken et al.,2007**).

### II.1.5. Les coumarines

Les coumarines sont dérivées des 1,2-benzopyrones. Ces molécules se trouvent dans les plantes supérieures où elles proviennent de la voie générale des phénylpropanoïdes (**Bourgaud et al., 2006**).

Les coumarines peuvent être subdivisées en :

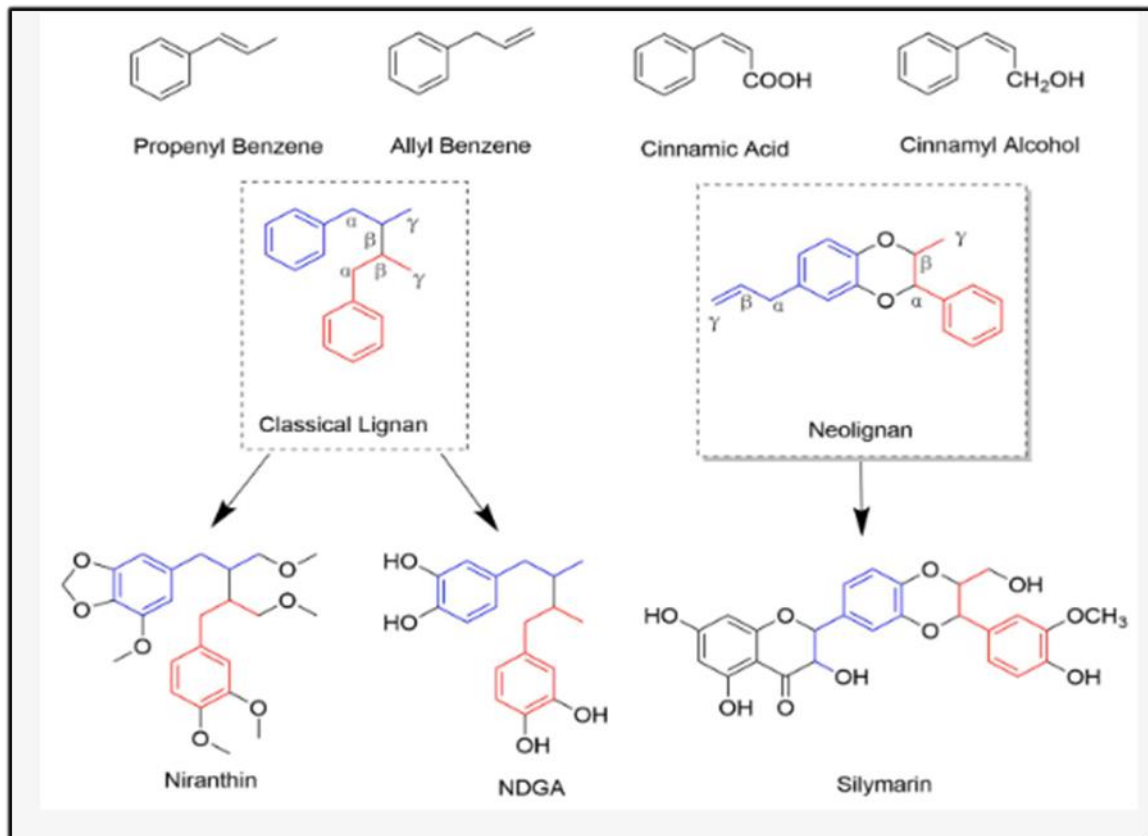
- Coumarines simples (benzo-a-pyrones syn. 1,2-benzopyrone).
- Coumarines 7-oxygénées (furanocoumarines syn. furobenzo-a-pyrones ou furocoumarines).
- Pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones).
- Phénylcoumarines (benzo-benzopyrones) (**Lin et al.,2013**).



**Figure 9:** Catégories de composés de la coumarine. (**Lin et al.,2013**)

### II.1.6. Les lignanes

Les lignanes constituent un vaste groupe de composés naturels dérivés de la voie de biosynthèse de l'acide shikimique. Sur le plan structurel, les lignanes contiennent un squelette de base composé de deux ou plusieurs unités phénylpropanoïdes, et les monomères formant les lignanes sont l'acide cinnamique, l'alcool cinnamique, le propénylbenzène, et l'allyle benzène (**Cui et al., 2020**).

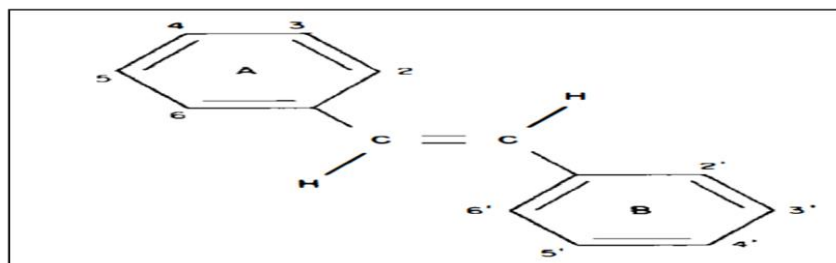


**Figure 10:** Monomères et la classification des lignanes (Cui *et al.*, 2020).

### II.1.7. Les stilbènes

Les stilbènes sont des diphényléthylènes dont la structure générale est illustrée à la figure ci-dessous.

Les deux formes isomériques des stilbènes (cis- et trans-) ont des caractéristiques chimiques et des activités biologiques différentes, L'isomère trans est généralement le plus stable (Hart., 1981).



**Figure 11:** Structure de stilbène. (Hart., 1981).

## II.2. Les alcaloïdes et composés azote

Les alcaloïdes sont des substances végétales de base, ils contiennent normalement un atome d'azote dans leurs structures chimiques en tant que partie d'un anneau hétérocyclique, ils possèdent un éventail de diversité structurelle et d'activité physiologique inégalé par tout autre groupe de produits naturels, ils comptent environ dix mille structures en moyenne

A l'origine. On pensait que les alcaloïdes étaient uniques dans le règne végétal, mais récemment, ils ont été détectés chez certains animaux, par exemple dans les sécrétions toxiques des fourmis de feu, des coccinelles et des crapauds, mais ils sont surtout présents dans les plantes à fleurs (**Puri et Hall.,1998**).

### ➤ Classification des alcaloïdes

- A. Les alcaloïdes vrais
- B. Les pseudo-alcaloïdes
- C. Les proto-alcaloïdes (**Yinyang et al., 2014**).

## II.3. Les composés terpéniques

Les terpènes sont généralement des composés lipophiles qui dérivent d'une entité simple de cinq atomes de carbone, sont constituées de deux dérivés phosphorylés appelés isopentényldiphosphate (IPP) ou d'isoprène actif, et son isomère le diméthylallyldiphosphate (DMAPP) (**Hopkins.,2003**).

# **Chapitre III : les activités biologiques**



## I. Activité antioxydante

Les plantes médicinales traditionnelles ainsi qu'une alimentation équilibrée représentaient les principales sources d'antioxydants qui protégeaient nos ancêtres des lésions engendrées par les radicaux libres (Sarr *et al.*, 2015).

### I.1. Stress oxydatif

L'oxygène est une molécule essentielle à la vie, peut avoir des conséquences négatives sur l'organisme en produisant des radicaux libres et des espèces oxygénées activées (EOA) (Haleng *et al.*, 2007).

La balance antioxydant/prooxydant est considéré comme étant en équilibre dans des conditions normales. Si ce n'est pas le cas, soit en raison d'un déficit d'antioxydants, soit en raison d'une surproduction massive de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé "stress oxydatif" (Favie., 2003).

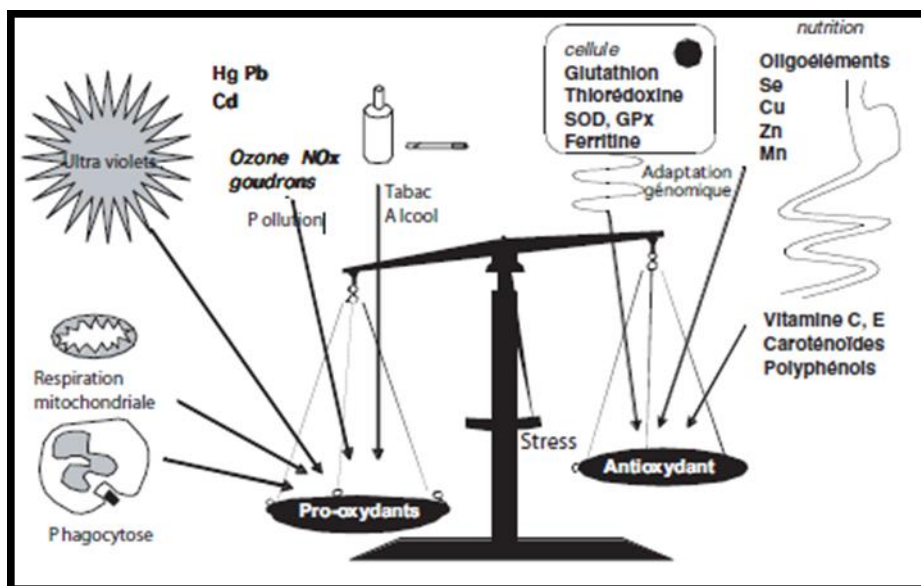


Figure 12: Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (Favier., 2006)

### I.2. Les Radicaux libres

Une molécule ou un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés est connu comme un radical libre et est très réactif. Les espèces réactives de l'oxygène sont un terme utilisé pour désigner tous les radicaux libres et leurs précurseurs (Merouane *et al.*, 2014).

Les radicaux superoxyde et hydroxyle sont les principaux radicaux libres impliqués dans les processus physiopathologiques humains, mais d'autres dérivés de l'oxygène, notamment le

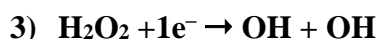
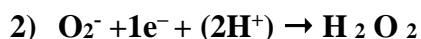
peroxyde d'hydrogène et les peroxynitrites, jouent également un rôle important dans le stress oxydatif (Goudable et Favier.,1997).

### I.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des espèces électrophiles à courte durée de vie (quelques nanosecondes), un composant commun des systèmes, et leur réactivité est inversement proportionnelle à leur capacité d'oxydation ( $\text{OH}^\circ > \text{RO}^\circ > \text{HOO}^\circ > \text{ROO}^\circ$ ) (Bensakhria., 2018).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des espèces chimiques produites par la réduction de l'oxygène ( $\text{O}_2$ ), les principaux acteurs du stress oxydatif sont les espèces  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et OH.

- Le radical superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) est formellement obtenu par l'addition d'un seul électron à l'oxygène [réaction (1)].
- Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) est produit par l'addition de deux électrons sur le dioxygène et par conséquent de l'addition d'un électron au radical superoxyde [réaction (2)].
- Le peroxyde d'hydrogène a été réduit par un électron pour produire le radical hydroxyle (OH), qui est le résultat de [la réaction (3)] (Gardès-Albert., 2006).



**Tableau 3:** Espèces réactives radicalaire et non radicalaire (Helliwell et Whiteman., 2004).

Espèces réactive radicalaire	Espèces réactive non radicalaire
Superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )	Peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ )	Acide hypobromeux (HOBr)

Hydroperoxyde ( $\text{HO}_2^-$ )	Acide hypochloreux ( $\text{HClO}$ )
Peroxyde ( $\text{ROO} \bullet$ )	Ozone ( $\text{O}_3$ )
Alkoxyde ( $\text{RO} \bullet$ )	Oxygène singulet ( $1\text{O}_2$ )
Carbonate ( $\text{CO}_3^{\bullet -}$ )	Hydroperoxyde ( $\text{ROOH}$ )
Dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2^{\bullet -}$ )	Peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ )
	Acide peroxynitrique ( $\text{ONOOH}$ )

### I.2.1.1 Les Sources des ERO

Les radicaux libres peuvent provenir de diverses sources. Ils peuvent être créés lors de "déviation" du métabolisme cellulaire ou provenir du métabolisme physiologique. Ils sont divisés en deux groupes :

- **Sources endogènes**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent provenir de sources endogènes (telles que la respiration mitochondriale et des enzymes comme les cytochromes P450 et les NADPH oxydases) (Marwa et Benoudina., 2019).

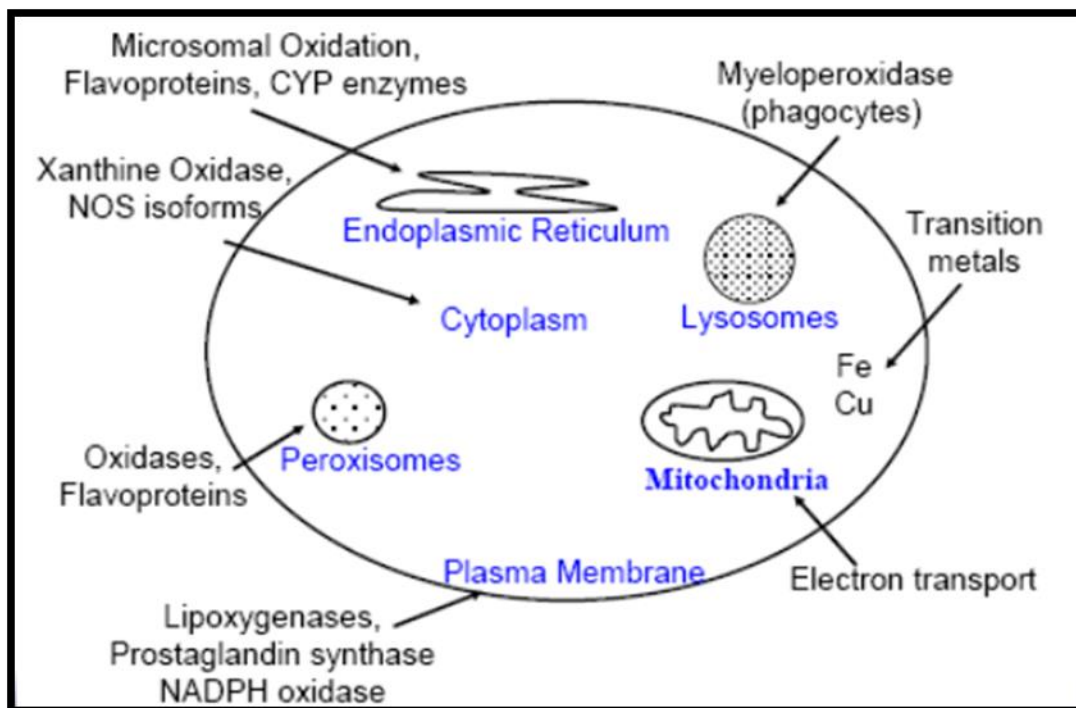
Une autre source importante de radicaux libres produits par les cellules phagocytaires activées est l'inflammation.

Les mécanismes du cycle d'oxydoréduction de l'organisme, qui sont provoqués par l'oxydation de substances comme les quinones, l'acide lévulinique et surtout les catécholamines, sont des sources importantes de radicaux libres (Favier., 2003).

- **Sources exogènes**

Les sources externes comprennent des éléments (telles que les xénobiotiques comme les polluants et les médicaments, les électrophiles et les radiations) (Marwa et Benoudina., 2019).

Les radicaux libres peuvent également être produits par des métaux toxiques (le chrome, le cuivre et le vanadium) et des particules inhalées (comme l'amiante et la silice) (Favier., 2003).



**Figure 13:** Sources endogènes d'espèces réactives. (Mercan.,2010).

### I.3.Stress oxydatif et pathologies

Des molécules comme les lipides, l'ADN, les glucides et les protéines sont susceptibles d'être endommagées par le stress oxydatif. Les radicaux libres jouent un rôle dans l'apparition d'un certain nombre de maladies, notamment l'athérosclérose, l'obésité, le cancer, le diabète, l'inflammation. (Sarr et al.,2015), et la polyarthrite rhumatoïde, ainsi que dans les processus dégénératifs associés au vieillissement (Al-Laith., 2010), Les maladies neurologiques, notamment la maladie de Parkinson et d'Alzheimer (AMAR., 2010).

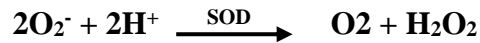
### I.4.Antioxydants et systèmes de défense

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est à de faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche de manière significative l'oxydation de ce substrat. (Hallowell.,1995), neutraliser les radicaux libres et prévenir ainsi la survenue des maladies associées au stress oxydant (Sarr et al., 2015).

### I.4.1. Systèmes de défense enzymatique

#### ✓ Les superoxyde dismutases (SOD)

Est un groupe de métalloenzymes qui catalysent la dismutation de  $O_2^-$  en  $O_2$  et  $H_2O_2$  et sont considérées comme la principale défense enzymatique contre les radicaux  $O_2^-$  (**Droillard et Paulin., 1990**).



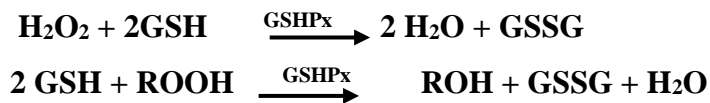
#### ✓ La catalase

Une enzyme d'oxydoréduction qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène (**Yoshimoto et al., 2007**).



#### ✓ La glutathion peroxydase (GPx)

Cette enzyme neutralise le peroxyde d'hydrogène, en utilisant le glutathion comme donneur (**Mironczuk-Chodakowska et al., 2018**).



### I.4.2. Système de défense non enzymatique

#### ✓ Les caroténoïdes

Sont des pigments liposolubles présents dans la nature, les plantes et les micro-organismes, Sont divisés en deux grandes classes : les carotènes, (le  $\beta$ -carotène,  $\alpha$ -carotène et lycopène) et les xanthophylles (lutéine, b-cryptoxanthine, zéaxanthine, astaxanthine et fucoxanthine) (**Zuluaga et al., 2017**).

Le bêta-carotène, un caroténoïde précurseur de la vitamine A, un nutriment essentiel à l'activité antioxydante, (**Gloria et al., 2014**), il a la capacité d'arrêter les processus de la chaîne de lipoperoxydation dans leur élan. Il protège les structures cellulaires des attaques oxydatives (**Goudable, et Favier.,1997**).

#### ✓ La vitamine C (acide ascorbique)

Est un excellent piègeur d'EOA ( $HO\cdot$  ou  $O_2^{\cdot -}$ ). Elle inhibe également la peroxydation des lipides en reconstruisant la vitamine E à partir de la forme radicale qu'elle prend après avoir réagi avec les radicaux lipidiques (**Haleng et al., 2007**).

✓ **La vitamine E (' $\alpha$  -Le tocophérol)**

Est une vitamine liposoluble considéré comme le principal antioxydant membranaire utilisé par la cellule.

Au cours de la réaction antioxydante, le -tocophérol est converti en un radical ' $\alpha$ -tocophérol par le don d'un hydrogène à un lipide ou à un radical peroxyde lipidique (**Valko et al.,2006**).

✓ **Les polyphénols**

Ont une structure chimique parfaite pour l'action de piégeage des radicaux libres, Les caractéristiques antioxydants des polyphénols sont dus à leur grande réactivité en tant que donateurs d'hydrogène ou d'électrons, à la capacité du radical généré par le polyphénol de stabiliser et de délocaliser l'électron non apparié. Un autre mécanisme est la capacité des flavonoïdes à modifier la cinétique des peroxydes (**Vertuani et al., 2004**).

✓ **Les oligo-éléments**

Comme le bore, le zinc, le fer, le manganèse, sélénium existent en quantités relativement faibles dans les végétaux (**Katyal et Randhawa., 1986**), le sélénium (Se) est un élément essentiel du métabolisme humain et animal. Il est un composant de l'enzyme glutathion peroxydase (GSH-Px), avec une activité antioxydante capable de réduire les peroxydes (**Cartes et al., 2005**).

### **I.5.Evaluation de l'activité antioxydant *in vitro***

Pour déterminer l'activité antioxydant *in vitro*, diverses méthodes sont utilisées, notamment test DPPH (diphényle picrylhydrazyle), Test TAC Test FRAP (Ferric Reding antioxydant Power) (**Dieng et al.,2017**).

➤ **Test au DPPH**

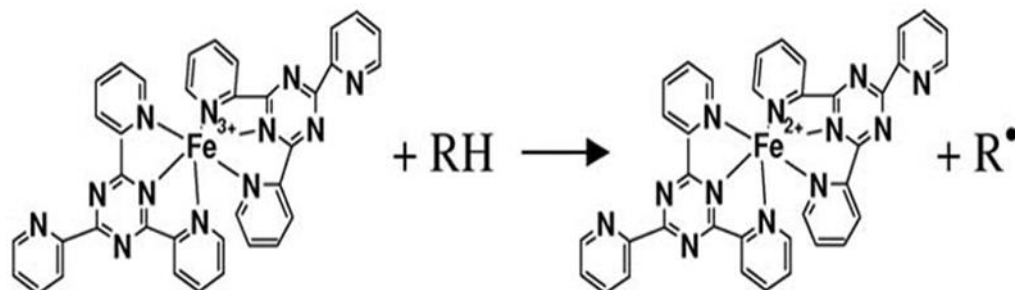
Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.) est réalisé par la méthode décrite par (**Ammar et al., 2009**), qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la IC50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H<sup>+</sup>.



Où AH est un composé capable de céder un H<sup>+</sup> au radical DPPH.

➤ **Test au FRAP**

C'est une méthode de mesure de la puissance des substances à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  en fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$  qui est l'un des mécanismes antioxydants. La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante (**Bentabet et al., 2014**).



**Figure 14:** Réduction du complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -(TPTZ)<sub>2</sub> par un antioxydant générique (RH) (**Tomasina et al., 2012**).

### ➤ Test au TAC

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits des plantes a été évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène (VI) à molybdène (V) en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (**Prieto et al., 1999**).

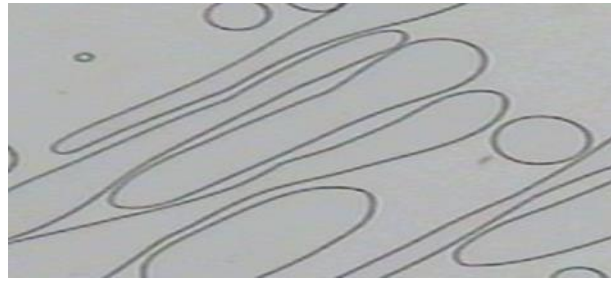
## II. Activité antibactérienne

Les plantes médicinales sont connues pour leur propriété de produire certains composés chimiques naturellement toxiques pour les bactéries. De nombreux chercheurs ont testé l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales ainsi que des substances pures d'origine végétale sur de nombreuses souches bactériennes pathogènes pour l'homme (**Basile et al., 1999**).

### II.1. Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiennes

#### 🚩 *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (**Kaper et al., 2004**), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , E. coli représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (**Percival, 2004**).

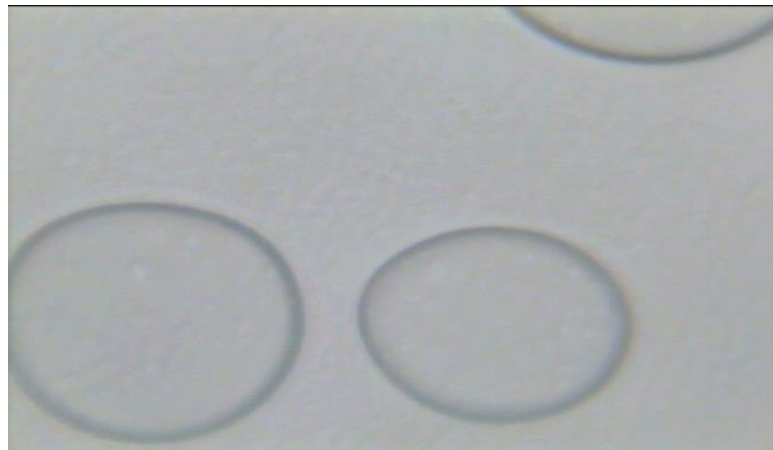


**Figure 15:** *E. coli*

**✚ *Staphylococcus aureus***

C'est une espèce de la famille de *micrococcaceae* constituée de cellules arrondies (Cocci à gram positif) disposées en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Ces caractères ubiquitaire et saprophytique expliquent que ces germes soient aussi des commensaux occasionnelles ou permanents de la peau des muqueuses de l'homme et des animaux

**(Berreghioua.,2016).**



**Figure 16:** *Staphylococcus aureus*

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**



# **Chapitre I : Matériel et méthodes**



## I. Matériel

### I.1. Matériel végétale

La plante *cucurbita maxima* a été achetée dans un marché local de région de sidi Aïssa wilaya de m'sila, qui a été récolté dans la wilaya de Bouira, Lakhdaria au mois de mars 2023.

L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par Dr. Djamel SARRI, enseignant-chercheur, au niveau du département science de la nature de vie, université Mohamed BOUDIAF, M'sila.

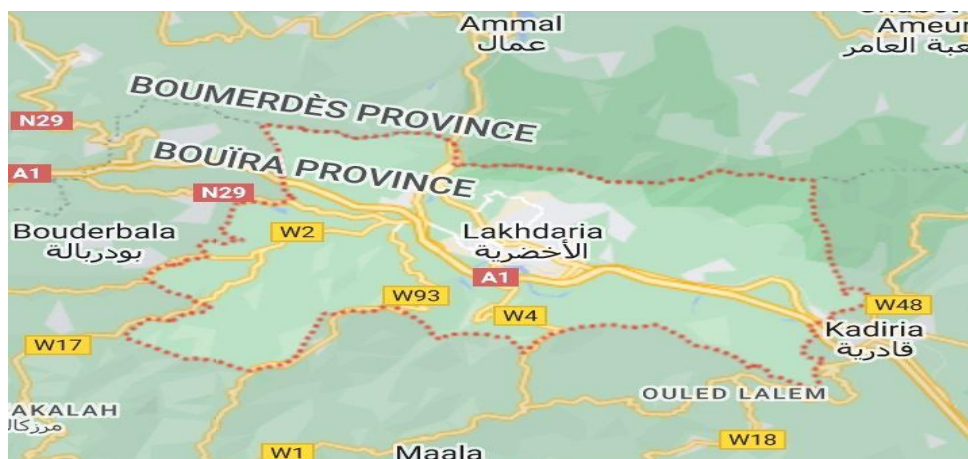


Figure 17: Situation géographique de région de récolte de *cucurbita maxima* (Google Maps).

### I.2. Les souches bactériennes

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire de microbiologie d'université de M'sila, Elles représentent dans le tableau suivant :

Tableau 4: Les souches bactériennes utilisés

Nom de bactérie	Code	Gram
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25933	+

## II. Méthodes d'analyses

### Préparation des échantillons :

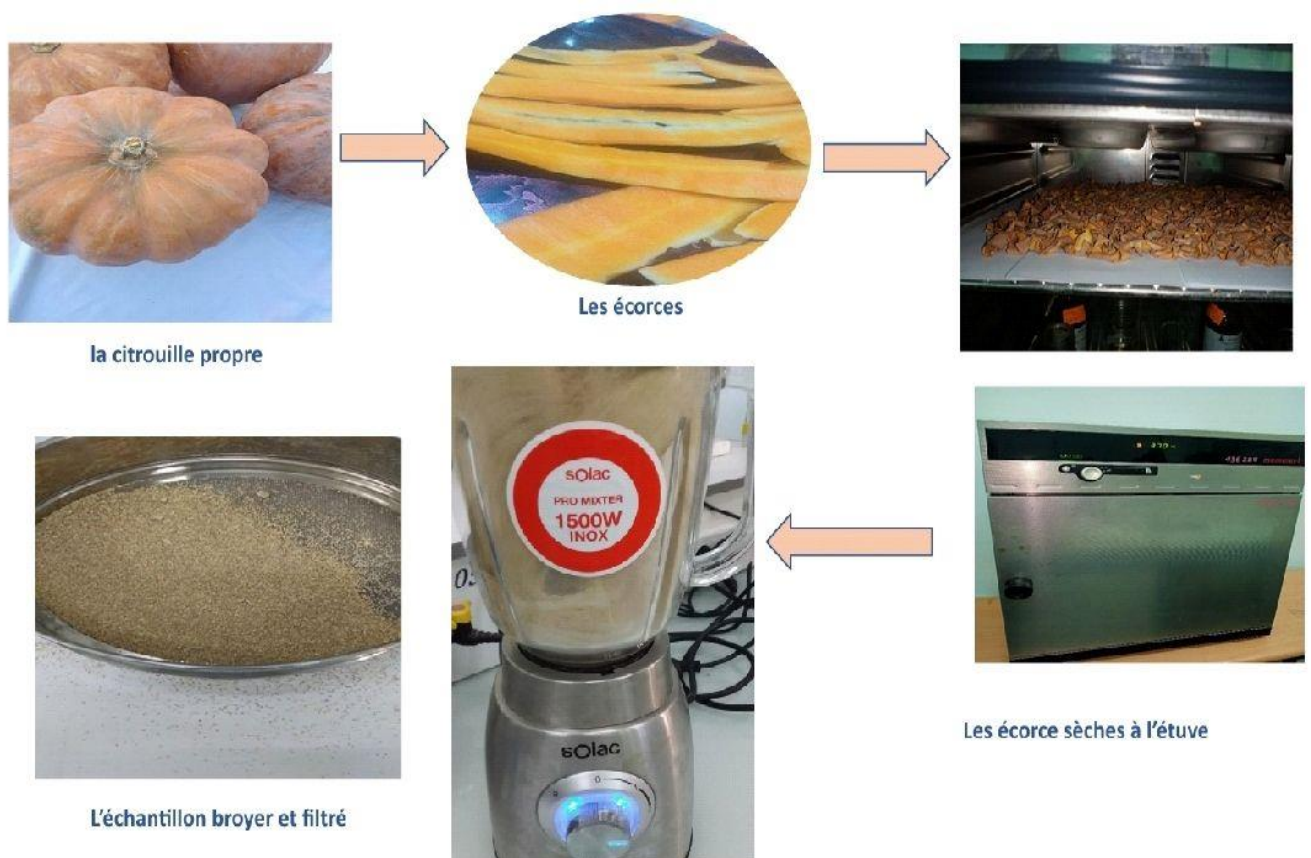
L'étude a été fait sur la partie extérieure de la plante ; « les écorces ».

La citrouille a été bien nettoyée avec de l'eau et rincée à l'eau distillée pour éliminer toutes les impuretés puis il a été essuyé et décoller les écorces à l'aide d'un éplucheur, Les pelures ont ensuite été collectées et coupées en petits morceaux carrés de  $0,5 \text{ cm}^2$ .

Ensuite l'échantillon des écorces a été séché à l'étuve à  $37^\circ$  pendant 48 heures.

Ensuite l'échantillon a été broyé finement à l'aide d'un broyeur électrique et filtrer par tamis et répéter l'opération plusieurs fois. Pour l'obtention d'une poudre homogène.

La poudre obtenue a été conservée dans un emballage sous vide et immédiatement conservée à température ambiante à l'abri de l'oxygène et de la lumière au niveau du laboratoire de biochimie de faculté de biologie ; avant l'extraction.

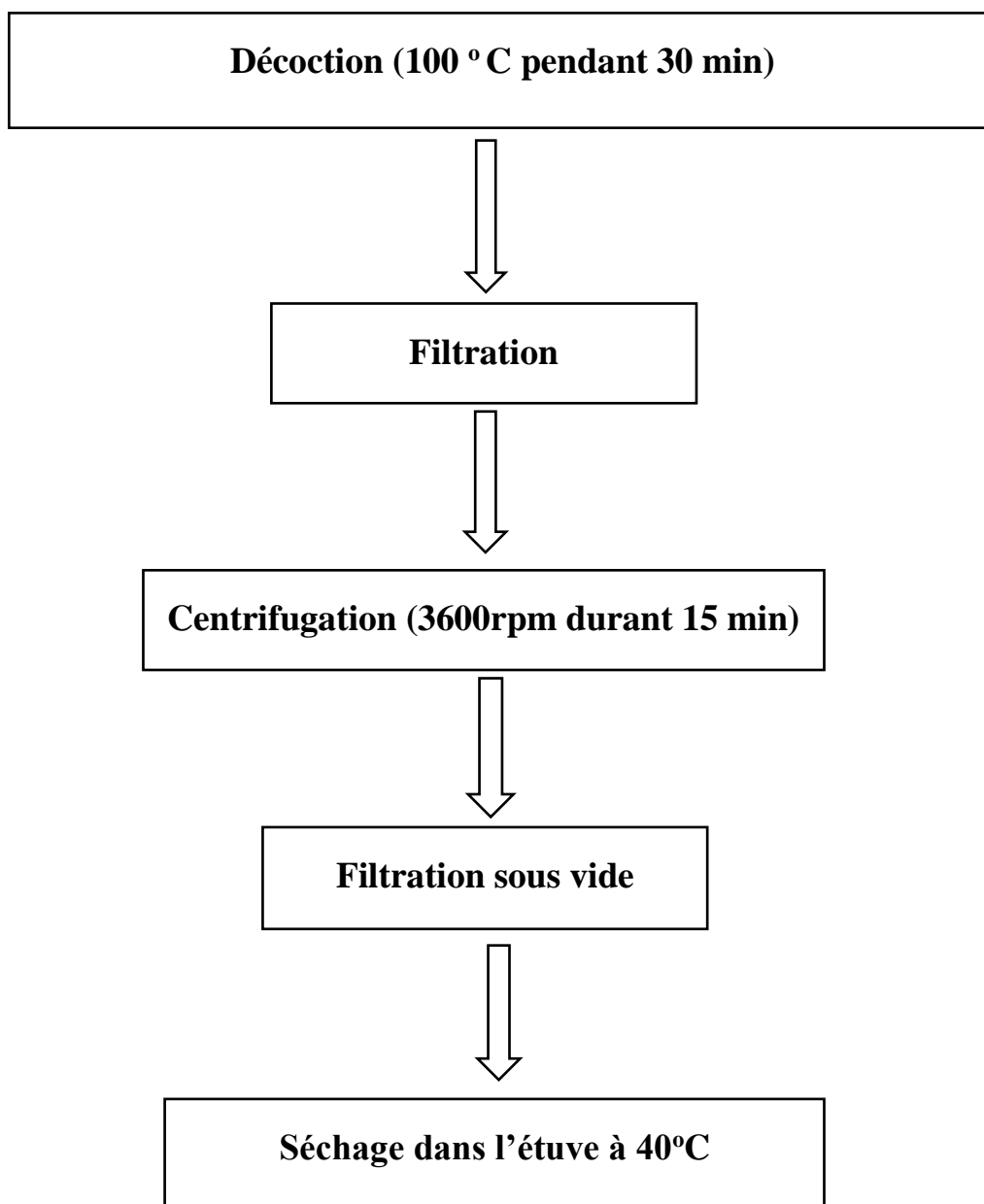


**Figure 18:** préparation des échantillons

## II.1. Préparation des extraits

### I.1.1. Préparation de l'extrait aqueux par décoction (EDéc)

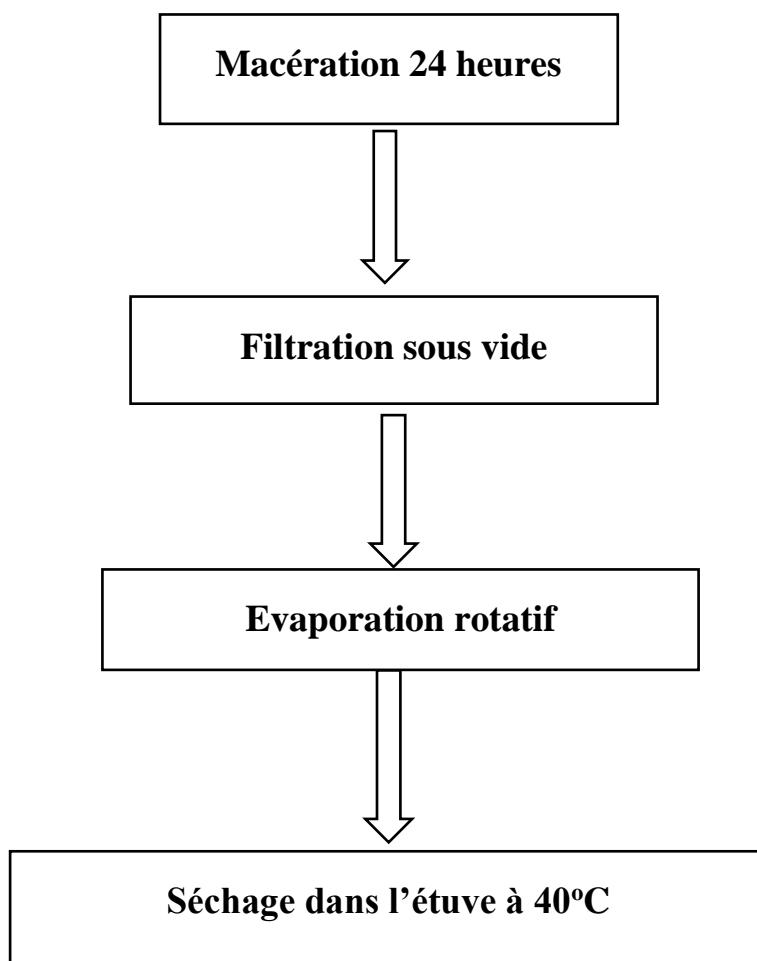
Un de poudre d'écorce de *cucurbita maxima* a été mise à bouillir à 100 ° C dans 20ml d'eau distillé avec l'agitation pendant 30 min. après filtration le filtra récupérer est soumis à une centrifugation (3600rpm durant 15 min). Les solutions obtenues sont filtrées sous vide puis séchée dans l'étuve à 40 ° C pendant 24 heures. L'extrait sec obtenu est conservé dans un emballage à verre hermétique et immédiatement conservé à l'abri de la lumière au réfrigérateur à 6° C.



**Figure 19:** protocole de préparation de l'extrait aqueux par décoction

### II.1.2. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique par macération (EMac)

Un g de poudre d'écorce de *cucurbita maxima* a été dissoudre dans une solution hydro-éthanolique (80%) pendant 24 heures avec l'agitation par un agitateur magnétique. Après filtration sous vide, le filtra obtenue est soumis à évaporateur rotatif pour l'évaporation de l'éthanol. Puis pour terminer le séchage ; l'extrait obtenus a été mettre dans l'étuve à 40°C pendant 24 heures. L'extrait sec obtenu est conservé dans un emballage à verre hermétique et immédiatement conservé à l'abri de de la lumière au réfrigérateur à 6C°.



**Figure 20:** protocole de préparation de l'extrait hydro-éthanolique par macération

## II.2. Tests phytochimiques

L'examen phytochimique est nécessaire pour identifier les grandes familles de métabolites secondaires existants dans la plante étudiée ; permettre de caractériser la présence de ces derniers (les quinones, les anthraquinones, les flavonoïdes, les tanins, les terpénouïdes et les sucresréducteurs), (**Bentabet et Boucherit-Otmani,2014**) ,Ces réactions reposent sur des

phénomènes de précipitation ou de coloration provoqués par des réactifs propres à chaque famille de composés (Bouterafas et al., 2014).

### II.2.1. Test des flavonoïdes

Quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et un peu Ajouter mg de flocons de magnésium à 0,5 ml de chaque extrait. Le rose ou le jaune indique la présence de flavonoïdes (Hadouchi et al., 2016).

### II.2.2. Test des tanins

La présence des tanins est mise en évidence par l'addition de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%, et de l'extrait de la plante ; Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire ou bleu-verte (Trease et Evans., 1987).

### II.2.3. Test des quinones

Quelques gouttes de NaOH (10%) sont ajoutées à 1 ml d'extrait, l'apparition d'une couleur qui vire au jaune, au rouge orangé ou au violet indique la présence de quinones libres (Oloyede., 2005).

### II.2.4. Test des anthraquinones

Ajouter 2 ml de KOH (10 %) à 1 ml d'extrait, Un changement de couleur vers le rouge indique la présence d'anthraquinone (Oloyede., 2005).

### II.2.5. Test des terpénoïdes

5ml d'extrait mélangés à 2 ml de chloroforme, puis Ajouter 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. L'apparition d'une interface entre les deux phases indique la présence de terpénoïdes (Edeoga et al., 2005).

### II.2.6. Test des sucres réducteurs

Quelques gouttes de liqueur de Fehling sont ajoutées à 1 ml de l'extrait pendant le processus de chauffage. Le développement d'un précipité rouge brique indique un résultat de test positif. (Bouterafas et al., 2014).

## II.3. Dosages chimiques

### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

#### Principe

Le principe de la méthode est l'oxydation des composés phénoliques par le réactif « Folin-Ciocalteu », qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide

phosphomolybdique de couleur jaune ; Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène–tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm (**Haddouchi et al., 2016**).

### Mode Opérateires

200 µl de l'extrait (EDA /EMHE) est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-ciocalteu (10 %), après 04 min d'agitation et d'incubation ,800 µl de carbonate de sodium (NaCo3) diluée à 7,5 % est ajouté, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 02 heures. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en µg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG /mg d'extrait). (**Hdouchi et al. 2016**).

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

#### Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**).

#### Mode opératoire

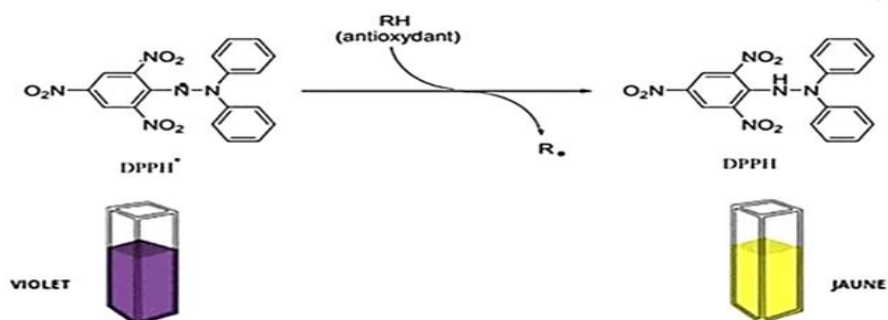
1 ml d'AlCl<sub>3</sub> dilué à (2 %) est ajouté à 1 ml de l'échantillon contenant différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est faite à 430 nm. (**Talbi et al., 2015**).

### II.4. L'activité antioxydante

#### II.4.1. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH

#### Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable utilisé pour étudier l'activité antioxydante des composés phénoliques, il possède un électron non apparié sur un atome d'azote du pont N-N. En présence des composés antiradicalaire, le radical DPPH est réduit et change sa couleur du violet au jaune. L'absorbance est mesurée à 517 nm (**Bentabet et Boucherit-Otmani., 2014**).



**Figure 21:** Réaction entre le DPPH• et le composé antioxydant pour former le DPPH. (Sarr et al., 2015).

### Mode opératoire

500 µl de solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) est ajoutée à 500 µl de la solution aqueux d'extrait (EDéc, EMac), le mélange est agité vigoureusement, les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes, le témoin négatif est composé de 500 µl de la solution méthanolique de DPPH et 500 µl du méthanol, le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard : le BHT, la lecture est effectuée à une longueur d'onde d'absorption maximale de 517 nm (Li et al.,2009).

L'activité antiradicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) * 100$$

- **Abs contrôle** : absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.
- **Abs échantillon** : absorbance d'échantillon à 517 nm.

Les résultats sont la moyenne de trois mesures ± écart type.

La concentration inhibitrice 50 % (The half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>) a été déterminée pour le BHT et les deux extraits, elle est définie étant la concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre à 50 % (Que et al.,2006).

## II.5. Activités antibactériennes

### II.5.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit :

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton (Annexe I) dans un litre d'eau distillée.

Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

### **II.5.2. Stérilisation du matériel**

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et l'eau physiologie ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### **II.5.3. Préparation des dilutions d'extraits de *Cucurbita maxima***

Les extraits de *cucurbita maxima* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que La Concentration de la solution mère de chaque extrait est de 300 mg/ml.

### **II.5.4. Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C Pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologies stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland (Annexe I) ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### **II.5.5. Ensemencement et mettre des puits**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est Trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est Frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Les puits remplie d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (Témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les puits remplie de DMSO (témoin négatif).

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

### **II.5.6. Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos

D'inhibitions au tour des disques.

### **II.6. Analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graph Pad Prism V 9 les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart type ( $n = 03$  pour toutes les expériences). Les comparaisons statistiques sont faites au moyen du test de Student et la valeur  $p < 0,05$  est considérée comme significative. Les comparaisons multiples sont effectuées en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (Anova one way), suivi du test de Tukey. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives au seuil de 0,05.

# Chapitre II : Résultats



## I. Rendement de l'extraction de l'écorce de *Cucurbita maxima*

La préparation des extraits à partir de l'écorce du *cucurbita maxima* a été effectuée par deux méthodes différentes, la décoction et la macération Hydro-Éthanolique. Cette opération a permis d'obtenir deux extraits bruts : EDA et EMHE.

Le rendement est exprimé en pourcentage de la masse de l'extrait sec par rapport à la masse de poudre de la plante séche :  $R \% = M/M0 *100$ .

- **R %** : Rendement exprimé en %.
- **M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- **M0** : Masse en gramme du matériel végétal séche.

**Tableau 5:** Aspect, couleur et rendement de différents extraits de *cucurbita maxima*.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
EDA	Poudre	Orange clair	23,17 ± 2,80
EMHE	Poudre	Orange foncé	23,45 ± 4,63

Les valeurs dessus se représente la moyenne de trois répétitions ± l'écart type

## II. Caractérisation phytochimique

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de plusieurs composés phytochimiques (**Tableau6**) existants dans la plante étudiée ; (les quinones, les anthraquinones, les flavonoïdes, les tanins, les terpénouïdes et les composés réducteurs).

Aucun organe végétal ne possède à lui seul une richesse en tous les groupes chimiques ; cependant certains sont plus riches que d'autres. L'extraits du EMHE présentent le plus grand nombre d'éléments chimiques par a port à celui de EDA (les quinones, les flavonoïdes, les tanins, les et les composés réducteurs)., sauf sur les trapézoïdes qui présent dans le EDA supérieure que l'EMHE.

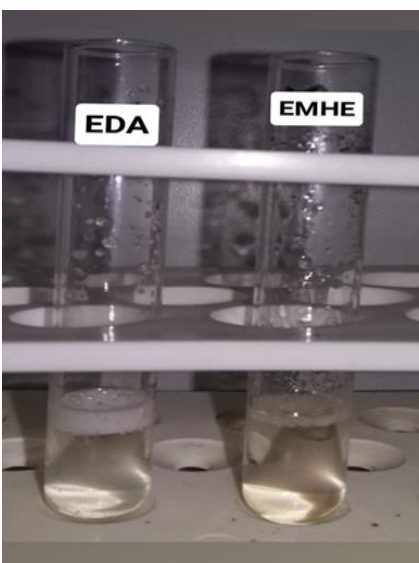
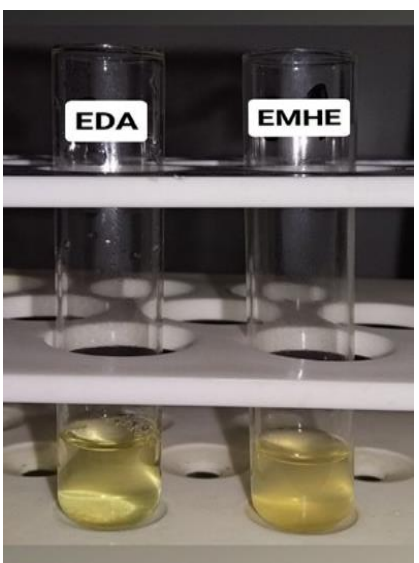
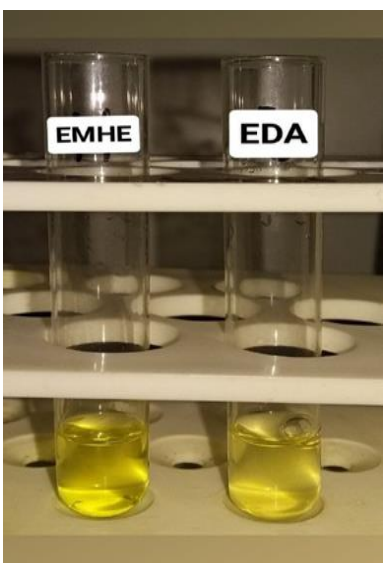
Par ailleurs, on remarque l'absence des anthraquinones dans les deux extraits.

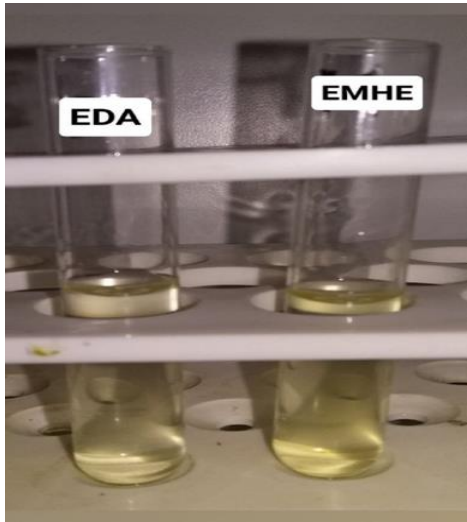
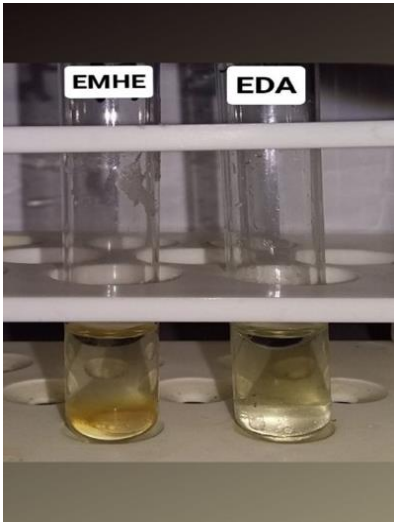
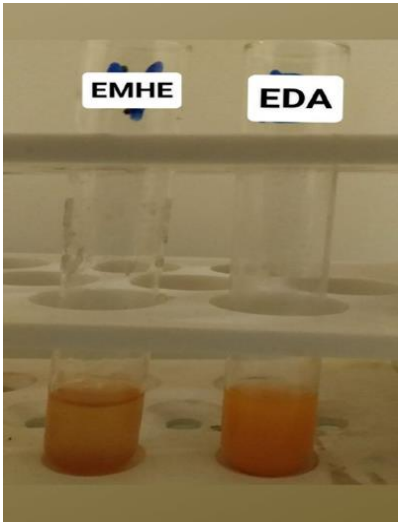
Tableau 6: Résultats des tests phytochimiques

Le principes actifs	Coloration	EDA	EMHE
Flavonoïdes	Jaune	+	++
Tanins	Verdâtre	++	++
Quinones	Jaune	++	+++
Anthraquinones	---	-	-
terpénoides	Interphase	+++	++
Sucres réducteurs	Précipité rouge brique	++	+++

+ : présence faible, ++ : présence moyenne, +++ : présence forte, - : absence

Tableau 7: résultats visuels des tests phytochimiques.

		
Test des flavonoïdes	Test des tanins	Test des quinones

		
<b>Test des anthraquinones</b>	<b>Test des terpénoides</b>	<b>Test des sucres réducteurs</b>

### III. Dosages chimiques

#### III.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont déterminés par la méthode de folin-ciocalteu. Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, selon l'équation suivante :

$$Y = 0,01320X + 0,07316 \quad \text{avec :} \quad R^2 = 0,9991$$

La teneur en polyphénols totaux a été rapporté en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait « écorce de cucurbita maxima » ( $\mu\text{g AG /mg}$  extrait).

Les résultats de la teneur en polyphénols dans les deux extraits, sont représentés dans le **Tab8**.

**Tableau 8:** Les résultats de la teneur en polyphénols dans les deux extraits

Extrait	[C] des polyphénols ( $\mu\text{g/mg}$ )
EDA	$10,29 \pm 0,23$
EMHE	$8,14 \pm 0,23$

Les valeurs dessus se représente la moyenne de trois répétitions  $\pm$  l'écart type.

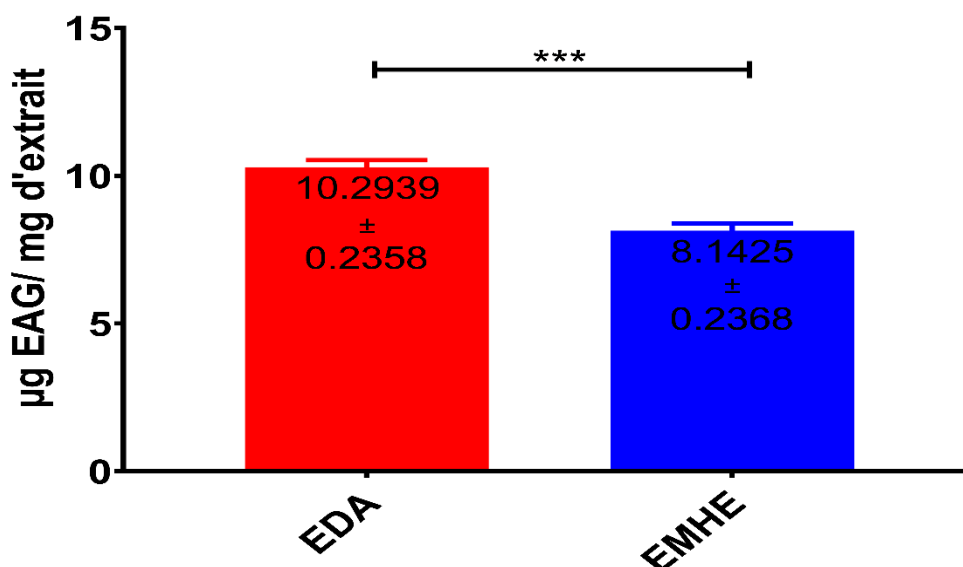


Figure 22: Teneur des polyphénols totaux des extraits EDA et EMHE

### III.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Les flavonoïdes totaux sont déterminés par la méthode de « chlorure d'aluminium ». Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage de La quercétine ; selon l'équation suivante :

$$Y = 0,03504 \text{ avec : } R^2 = 0,9979$$

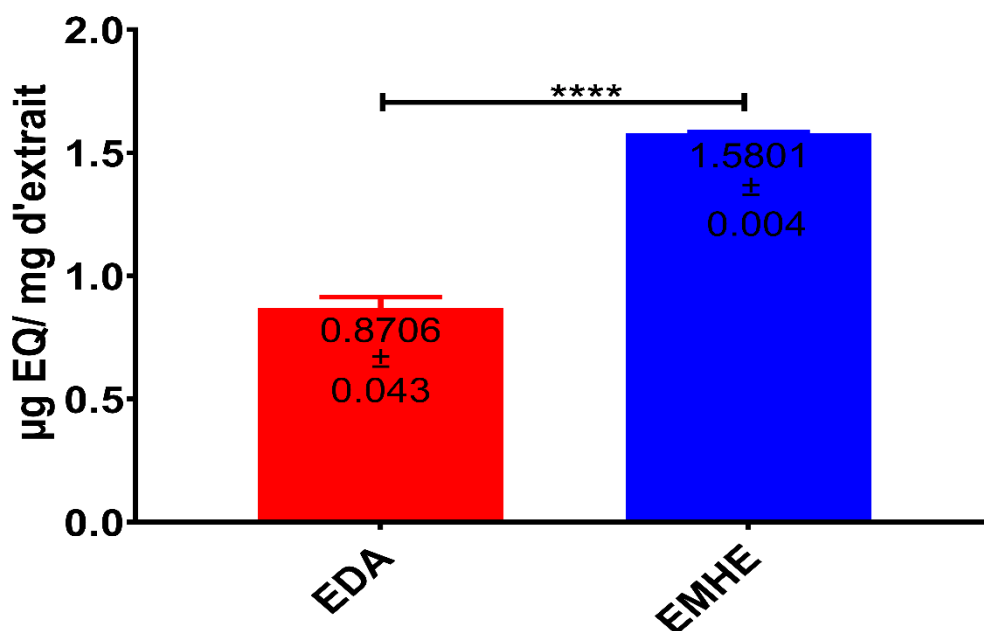
La teneur en flavonoïdes totaux a été rapporté en microgramme équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait « écorce de cucurbita maxima » ( $\mu\text{g AG /mg EXTRAIT}$ ).

Les résultats de la teneur en flavonoïdes dans les deux extraits, sont représentés dans le **Tab 9**.

Tableau 9: Les résultats de la teneur en flavonoïdes dans les deux extraits

Extraits	[C] des flavonoïdes ( $\mu\text{g/mg}$ )
EDA	$0,87 \pm 0,04$
EMHE	$1,58 \pm 0,01$

Les valeurs dessus se représente la moyenne de trois répétitions  $\pm$  l'écart type.



**Figure 23:**Teneur des flavonoïdes totaux des extraits EDA et EMHE

#### IV. L'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de la plante a été réalisée par

Le test de piégeage du radical libre DPPH•.

##### Détermination d'IC<sub>50</sub>

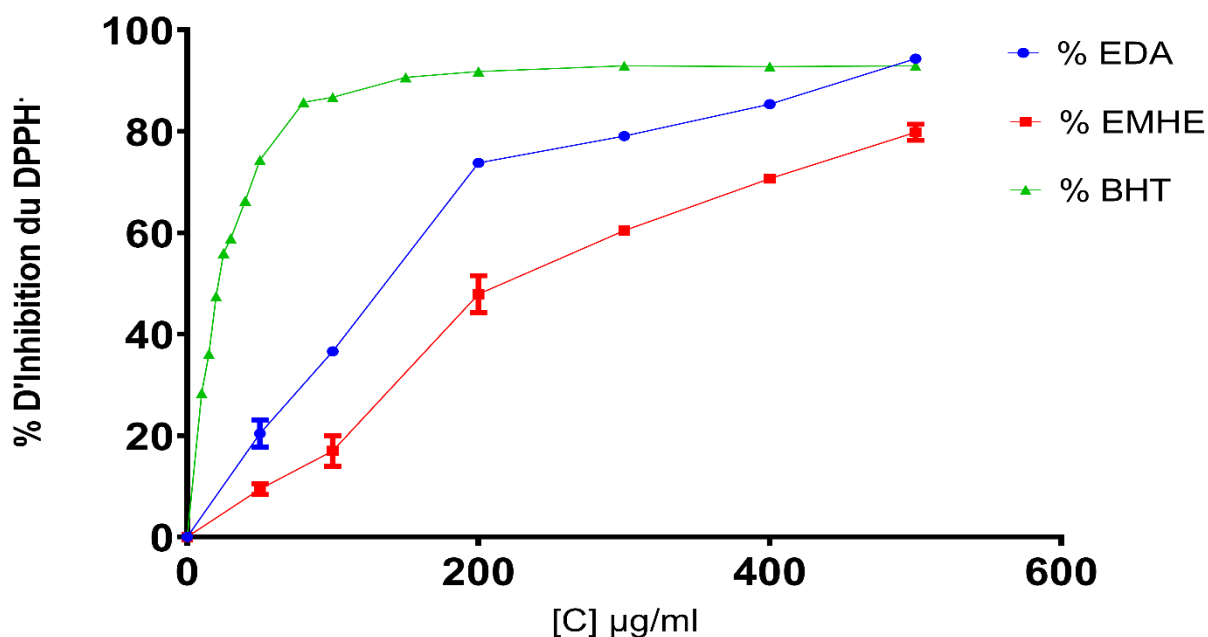
L'IC<sub>50</sub> du BHT et des deux extraits aqueux (EDA et EMHE) est déterminée à partir de

la partie linéaire de la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration

**Tableau 10:**Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits bruts et de BHT.

Echantillon	BHT	EDA	EMHE
IC <sub>50</sub> (µg/ml)	25,33±0,13	234,14±4,38	126,45±1,52

Les valeurs dessus se représente la moyenne de trois répétitions ± l'écart type.



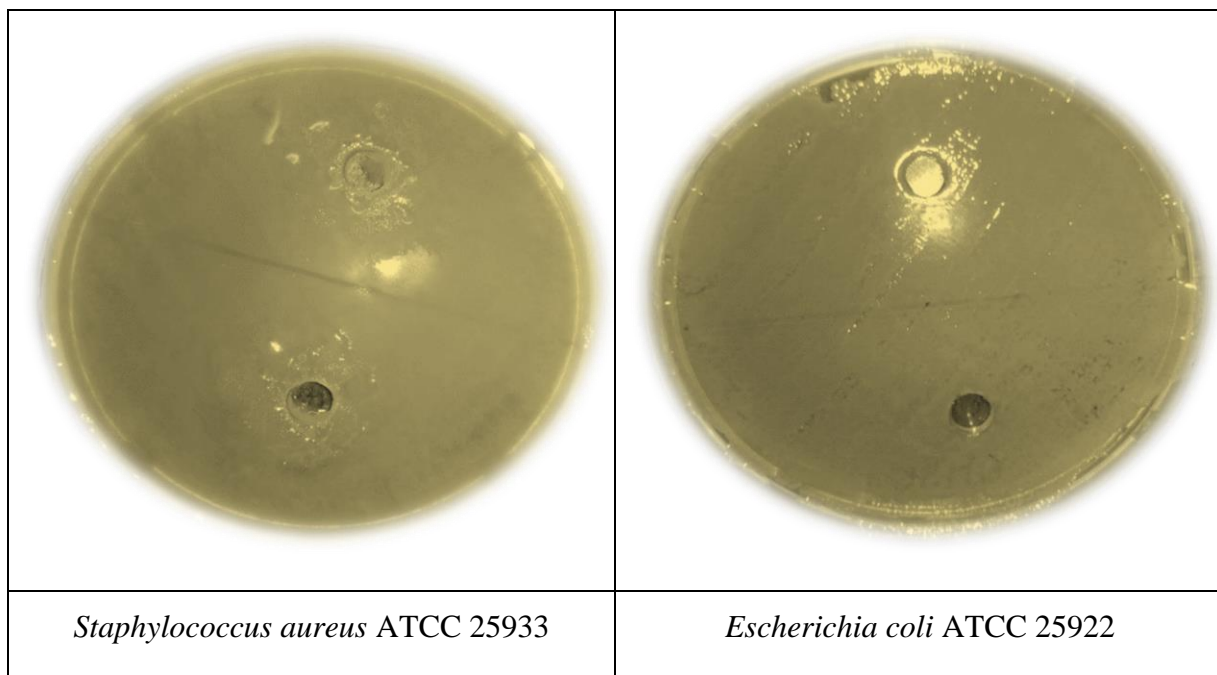
**Figure 24:** Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction de différentes concentrations du BHT, extrait éthanolique (EMHE) et l'extrait aqueux (EDA)

## V. L'activité antibactérienne

### V.1. Résultats du test préliminaire

Si les extraits doivent être soumis aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique. L'attention devrait également être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous pendant que le solvant peut réagir avec certains composés pour produire des complexes ou pour causer la décomposition, la déshydratation, ou l'isomérisation de ces composés (Yrjöen., 2004).

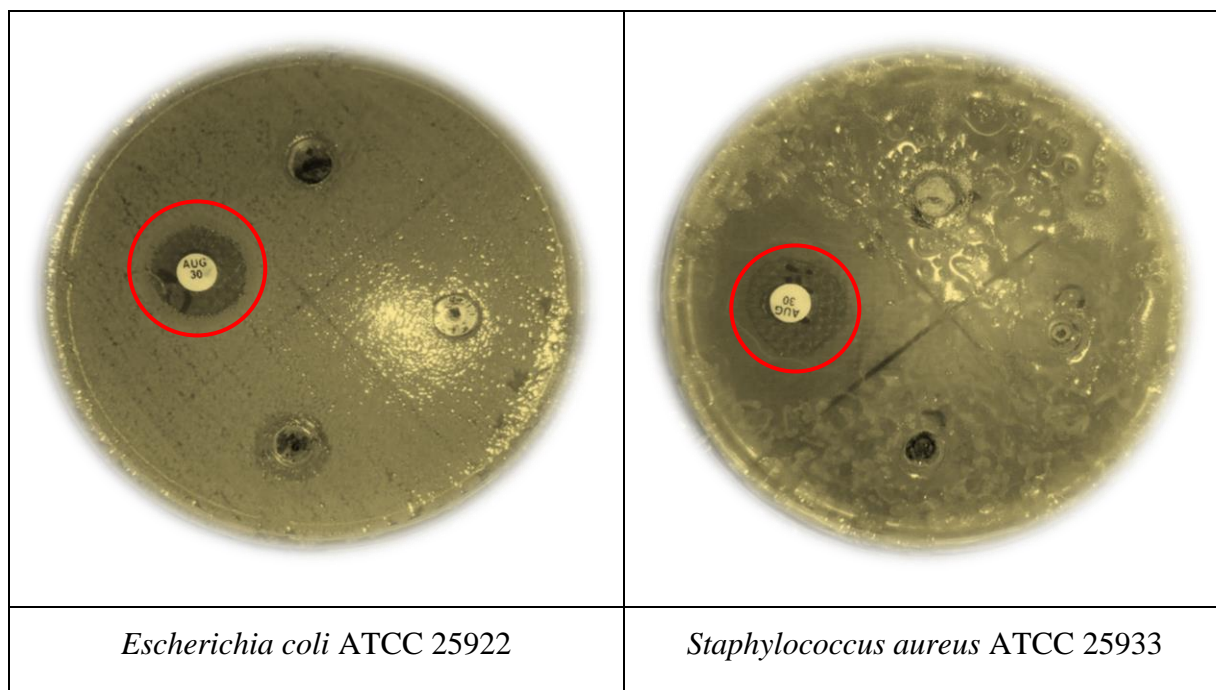
Pour cela le DMSO a été testé comme solvant, les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes.



**Figure 25:**Effet du DMSO sur les bactéries étudiées.

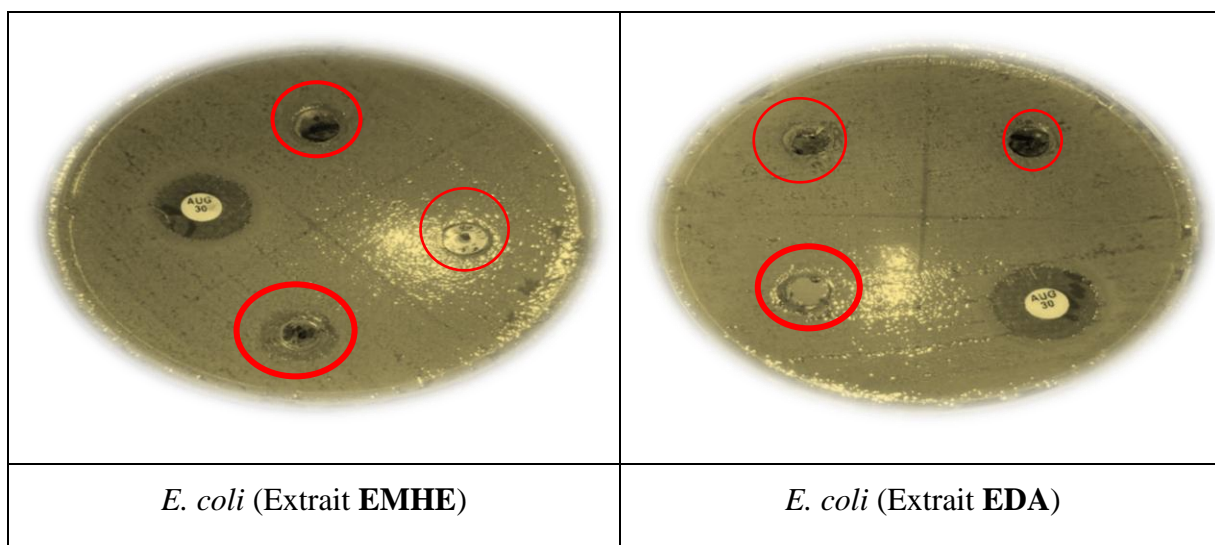
## V.2. Les antibiogrammes

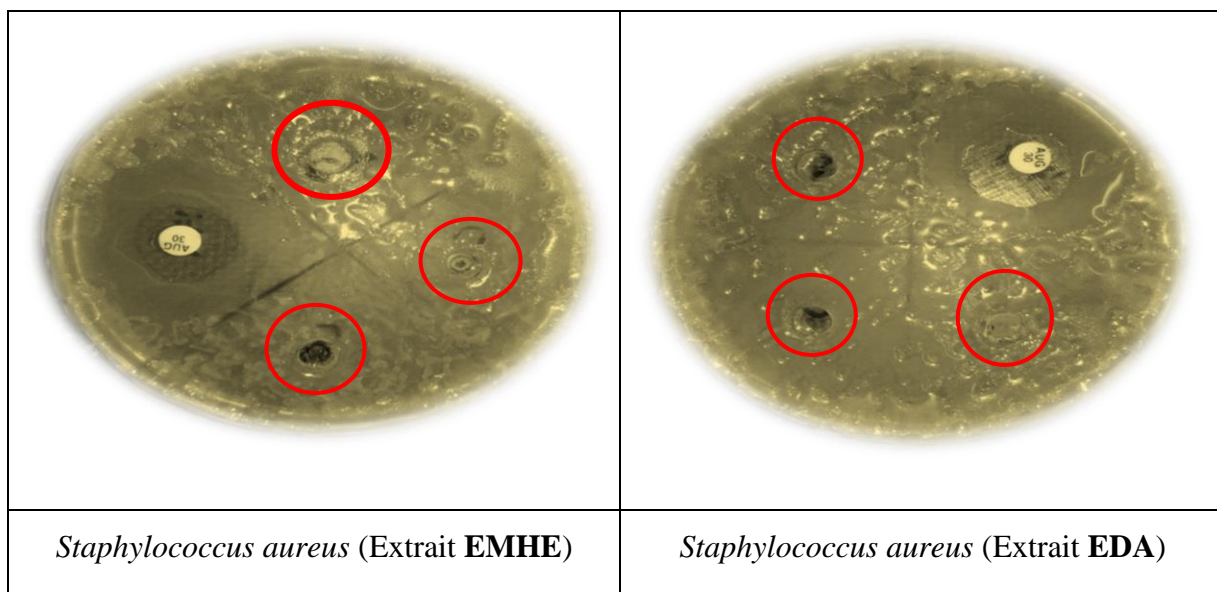
Afin de vérifier la résistance des souches bactériennes utilisées dans notre expérience, nous avons testé 01 antibiotique synthétique dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans la figure 33 et le tableau 11.



**Figure 26:** Antibiogramme de *E. coli* et *Staphylococcus*.**Tableau 11:** Zones d'inhibition de l'antibiogramme de *staphylococcus* et *E. coli*.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amoxicilline	10	15





**Figure 27:** Zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* et *staphylococcus aureus* induites par l'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique *cucurbita maxima*.

**Tableau 12:** Diamètres des zones d'inhibition (mm).

Extrait Bactérie		Diamètre des zones d'inhibition (mm)						
		Contrôle Négatif	EMHE (mg/ml)			EDA (mg/ml)		
			300	150	75	300	150	75
<i>E. coli</i>	0	6,75±0,35	2,75±1,06	0	4,25±0,35	0,5±0,70	0	
<i>Staphylococcus</i>	0	3,75±0,35	0	0	0	0	0	

# **Chapitre III : Discussion**



L'extrait aqueux de l'écorce du *cucurbita maxima* obtenu par macération hydro-éthanolique (EMHE) donne un rendement de  $23,45 \pm 4,63\%$ , qui est similaire à celui de l'extrait obtenu par décoction (EDA)  $23,17 \pm 2,80\%$ . Ce résultat montre que l'extraction par macération hydro-éthanolique permet d'améliorer la quantité de l'extrait sec. Par ailleurs, nos valeurs sont considérablement supérieures par rapport aux résultats présents dans les travaux de **(Hussain et al.,2021)** qui ont trouvé que le rendement était égal à  $12,37 \pm 0,10 \%$  de l'extrait méthanolique de l'écorce du *cucurbita maxima*.

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les deux extraits (EDA et EMEH) préparés à partir de la partie extérieure « l'écorce » du fruit de *cucurbita maxima* en utilisant des réactifs qualitatifs de révélation.

Ces tests sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de précipitation, des changements de couleurs spécifiques pour chaque réaction **(Bentabet et Boucherit-Otmani.,2014)**.

Les résultats des tests phytochimiques obtenus montrent que les deux extraits contiennent une large gamme des principes actifs, comme les flavonoïdes, quinones, tanins, terpénoides, et les sucres réducteurs. Cependant, nous avons constatés l'absence des anthraquinones. Nos données sont comparables à ceux obtenu par **(Rama et al.,2021)**.

Les résultats montrent visuellement que :

- ✚ Les tanins sont présents dans les deux extraits (présence moyenne).
- ✚ Les flavonoïdes, les quinones, les sucres réducteurs sont présents dans l'extrait EMHE avec une teneur plus forte que l'extrait EDA.
- ✚ Les terpénoides sont présents dans l'extrait EDA plus fort que l'extrait EMHE.

Le contenu polyphénolique des deux extraits : EDA et EMHE ; de l'écorce de *cucurbita maxima* ont montré que la teneur des polyphénols totaux d'EDA est supérieure que celle de l'EMHE ( $10,2939 > 8,1425 \mu\text{g}/\text{mg}$ ).

D'après ces résultats obtenus, on peut constater que les deux extraits de l'écorce de la plante étudiée, présentent une faible teneur en polyphénols.

Néanmoins, le solvant et le type d'extraction jouent un rôle essentiel dans l'extraction des polyphénols et la quantité de la teneur polyphénolique obtenue. **(Hussain et al.,2021)**. Les auteurs ont trouvé que le contenu phénolique total était égal à  $93,40 \pm 0,69 (\mu\text{g}/\text{mg})$  dans l'extrait hydro-méthanolique (80 %) de l'écorce de la même espèce « *cucurbita maxima* » de Sargodha, Pakistan. Ce qui est supérieur que les teneurs trouvées dans nos deux l'extraits EDA et EMHE.

En outre, l'étude de **(Chiwetalu *al.*,2021)** a montré que le contenu phénolique total était égal à  $32,08 \pm 2,62$  dans l'extrait hydro-méthanolique (80 %) de Feuille de *Cucurbita maxima* de Nsukka, État d'Enugu, Nigéria. Ce qui est également supérieur à nos résultats dans les deux extraits EDA et EMHE.

Par ailleurs, les résultats de **(Zhou *et al.*, 2014)** sur la citrouille fraîche de la même espèce (*Cucurbita maxima Duch.*) de Beijing, China ont montré que le contenu phénolique total était égal à  $464,08 \pm 3,23$  de l'extrait de la plante complète (fruit + écorce).

La teneur en polyphénols obtenue dans l'actuelle étude pour les deux extraits l'EMHE et EDA est inférieure par rapport à celui de l'étude de **(Hussain *et al.*,2022)**. Ces derniers ont réalisé un dosage de polyphénols totaux à partir de différentes parties de *cucurbita maxima* de Sargodha, Pakistan (écorce, pulpe et graines) pour avoir :  $(68,01 \pm 0,12, 70,13 \pm 0,55$  et  $84,41 \pm 1,02)$  ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ). respectivement.

Le contenu en flavonoïdes totaux dans les deux extraits : EDA et EMHE ; de l'écorce de *cucurbita maxima* ont montré que la teneur de flavonoïdes totaux d'EMHE est supérieur que l'EDA ( $1,5081 > 0,8706$ ) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ).

D'après nos résultats, on peut constater que les deux extraits de l'écorce de la plante étudiée, ne sont pas riches en flavonoïdes.

Selon l'étude de **(Chiwetalu *al.*,2021)** qui ont trouvé que le contenu des flavonoïdes totaux était égal  $23,16 \pm 4,01$  dans l'extrait hydro-méthanolique (80 %) de Feuille de *Cucurbita maxima* de Nsukka, Etat d'Enugu, Nigéria. Ceci est supérieur aux valeurs trouvées dans les deux extraits EDA et EMHE.

D'autre part, l'étude réalisé par **(Hussain *et al.*,2022)** montre que le contenu des flavonoïdes totaux d'extrait hydro-méthanolique (80 %) des différentes parties de *cucurbita maxima* (écorce, pulpe et graines) de Sargodha, Pakistan ; égal :  $35,99 \pm 0,09, 37,72 \pm 0,17$  et  $43,39 \pm 0,10$  successivement. Ces teneurs sont supérieures que celles obtenues dans les deux extraits EDA et EMHE.

Également, la teneur des deux extraits : EDA, EMHE est inférieure par rapport à celle de **(Saha *et al.*,2011)** qui ont réalisé un dosage de flavonoïdes totaux à partir des parties aériennes de *Cucurbita maxima* de Khardah, Bengale occidental, Inde et qui ont trouvé des valeurs égales à  $26,50 \pm 1,40$ .

Les données de l'action antiradicalaire des extraits de *cucurbita maxima* montrent que l'extrait EMHE est significativement plus actif, avec une IC50 de l'ordre de  $126,45 \pm 1,52 \mu\text{g}/\text{ml}$

par rapport à l'extrait décoction qui présente une IC<sub>50</sub> de 234,14±4,38µg/ml. Nos extraits sont moins actifs (faible action antiradicalaire) que le BHT (IC<sub>50</sub> de 25,33±0,13µg/ml) (Tableau 10).

Les résultats du test DPPH• montrent que les deux extraits de l'écorce de *cucurbita maxima* contiennent des molécules antioxydantes qui ont la capacité de céder l'hydrogène et par conséquent réduisent et décolorent le DPPH•. C'est un phénomène de transfert de(s) électron(s) célibataire(s) qui sont localisés dans l'orbitale externe du DPPH• ; l'antioxydant va réagir complètement avec le radical, et quand nous augmentons la concentration, l'activité antioxydante reste constante à cause de la saturation des couches électroniques du radical (**Ghedadba et al., 2014**).

Une étude menée par **Hussain (2021)** sur la même espèce de la plante a montré une IC<sub>50</sub> de 13,00±0,08 µg/ml de l'écorce de *cucurbita maxima*, lorsque l'extraction a été réalisée par le méthanol. Cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée avec nos extraits en comparaison avec la BHT (une molécule antioxydante pure de référence), les extraits bruts ne sont pas formés d'une seule molécule mais de plusieurs dizaines de composés à des concentrations variables (**Talbi et al., 2015**).

L'activité antibactérienne des extraits (DEA et EMHE) de *Cucurbita maxima* a été évaluée vis-à-vis de deux souches bactériennes de référence, *Escherichia coli* et *Staphylococcus*, par la méthode de diffusion en puits. La détermination des diamètres de la zone d'inhibition est faite autour des puits contenant les extraits testés à différentes concentrations : 75, 150, 300 mg/ml.

Les deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) ont montré des sensibilités remarquables aux antibiotiques utilisées : Amoxicilline avec des diamètres des zones d'inhibition comprises entre 10 et 15 mm, alors que l'amoxicilline présente un effet sur la croissance bactérienne.

Selon (**Ponce et al., 2003**), il y a un lien étroit entre l'étendu du diamètre d'inhibition (d) et la sensibilité de la souche bactérienne. En effet elle considérée comme : i) Non sensible (-) ou résistante si d < 8 mm, ii) Sensible (+) si d est compris entre 9 à 14 mm, iii) Très sensible (++) si d est compris entre 15 à 19 mm iv) Extrêmement sensible (+++) lorsque d > 20mm.

Après séchage des extraits bruts et élimination du solvant correspondant afin d'éviter une interaction possible entre celui-ci et les molécules chimiques potentiellement bioactives, nous avons resuspendu la poudre ainsi obtenue dans du DMSO. Ceci explique son utilisation comme (contrôle négatif) dans nos expériences. Les résultats montrent que le solvant de reconstitution (DMSO) ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes choisies.

Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique n'est pas actif sur les souches étudiées avec un diamètre d'inhibition variant de  $6,75 \pm 0,35$  mm et  $2,75 \pm 1,06$  mm malgré une légère relation dose - effet. Cependant, les diamètres des zones d'inhibition induits par l'extrait aqueux montrent une activité uniquement vis - à - vis d '*E - coli*.

Les extraits aqueux et éthanolique de peler de *cucurbita maxima* n'ont pas fait l'objet de beaucoup d'études auparavant en ce qui concerne l'activité antibactérienne. Néanmoins, une étude réalisée avec l'extrait méthanolique de *cucurbita maxima* montre l'absence d'effet sur *Escherichia coli* (**Hussain et al.,2021**). Ce qui est en concordance avec l'absence d'action de l'extrait aqueux et éthanolique de *cucurbita maxima* sur la même souche, observée dans notre étude.

L'effet antimicrobien décrit chez les plantes médicinales est étroitement influencé par leur teneur en composés phénoliques, alcaloïdes, terpénoides et stéroïdes qui provoquent des altérations membranaires, mais aussi l'inhibition de la synthèse d'ARN et d'ADN (**Clérivet et al.,1996**).

# Conclusion



## Conclusion et perspectives :

Les plantes médicinales sont la source de la plupart des antioxydants naturels (notamment les métabolites secondaires) qui sont exploités de plus en plus dans le domaine médical en raison de leur efficacité contre diverses maladies.

L'analyse de différents travaux de recherche sur l'activité biologique de l'écorce du fruit de la plante *Cucurbita maxima* (Citrouille) a permis d'obtenir différents résultats. Notre étude a permis de mettre en évidence à travers un criblage phytochimique la présence des tanins, des flavonoïdes et des terpénoïdes.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adaptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence de petites quantités de polyphénols. De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  qui nous mène à conclure que cette plante contient une petite quantité de flavonoïdes.

Dans cette étude, l'activité antioxydante d'extrait éthanolique et aqueux de *cucurbita maxima* a été déterminée par le test de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que les deux extraits aqueux et éthanolique possèdent une activité antioxydante et antiradicalaire faible, probablement grâce à leur constituants (composés polyphénolique). Nos résultats ont montré que l'activité antioxydante est supérieure dans l'extrait éthanolique que l'extrait aqueux.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion des puits, nos résultats montrent que les deux extraits bruts de l'écorce de *cucurbita maxima* ne possèdent aucun effet sur la croissance de bactérie Gram + : *Staphylococcus aureus* et de bactérie Gram - : *E. Coli*.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ✚ Faire une étude biochimique sur les racines de *cucurbita maxima*.
- ✚ Tester d'autres solvants et méthodes d'extraction pour avoir des rendements plus élevés.
- ✚ Evaluer les autres activités à potentiel thérapeutique de *Cucurbita maxima* (anti-inflammatoire, antidiabétique...etc.).

# Références bibliographiques



**Références**

1. **Alfawaz, M. A. (2004)**. Chemical composition and oil characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed kernels. *Food Science and Agriculture*, 2(1), 5-18.
2. **Al-Laith, A. A. A. (2010)**. Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(1), 15-22.
3. **AMAR, C. (2010)**. Stress oxydatif, calcium et thermalisme. *La Presse thermale et climatique*, 147(2), 121-138.
4. **Ammar, R. B., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Bhour, W., Naffeti, A., Skandrani, I., ... & Chekir-Ghedira, L. (2008)**. Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Chemico-Biological Interactions*, 174(1), 1-10.
5. **Basile, A. ; Giordano, S. ; López-Sáez, J. A. et Cobianchi, R. C. (1999)**. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, 52:1479-1482
6. **Bensakhria, A. (2018)**. Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86
7. **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014)**. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.
8. **Berreghioua, (2016)**. Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : *Moricandia arvensis* et *Zillamacroptera*. These de doctorat en Chimie Organique, Université de Tlemcen, p208
9. **Botineau, M. (2010)**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec & doc.
10. **Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., & Matern, U. (2006)**. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5, 293-308.
11. **Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., & Aouad, L. (2014)**. Antimicrobial power of the flavonoids extracted from the leaves of *Marrubium vulgare* L. coming from the mount of Tessala (western Algeria). *Phytothérapie*, 12, 6-14.
12. **Brodowska, K. M. (2017)**. Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7(2), 108-123.
13. **Caili, F. U., Huan, S., & Quanhong, L. I. (2006)**. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant foods for human nutrition*, 61, 70-77.

14. **Cartes, P., Gianfreda, L., & Mora, M. L. (2005).** Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. *Plant and Soil*, 276, 359-367.
15. **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
16. **Chiwetalu, M. O., Anameze, O. D., Obichi, E. A., Ezugwu, C. L., Ogugofor, M. O., Njoku, U. O., ... & Amaefuna, O. A. (2021).** GASTROPROTECTIVE EFFECT OF CUCURBITA MAXIMA POLYPHENOLIC EXTRACT IN DICLOFENAC INDUCED-ULCER IN MALE ALBINO RATS. *Phytothérapie*, 11, 46-51.
17. Citrouille. *Phytothérapie*, 11, 46-51.
18. **Clériveret, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D et Sanier, C., (1996).** Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica*, 134(6) : 531-538.
19. **Cui, Q., Du, R., Liu, M., & Rong, L. (2020).** Lignans and their derivatives from plants as antivirals. *Molecules*, 25(1), 183
20. **DE ES, I. T. E. N. F. R. (2021).** Antioxydants : ennemis des radicaux libres.
21. **De Pascual-Teresa, S., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2010).** Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1679-1703.
22. **DE, C. D. L. E. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ CICATRISANTE DE L'EXTRAIT DE FEUILLES DE CUCURBITA MOSCHATA (CUCURBITACEAE) CHEZ LA SOURIS.** *Revue des Sciences, de Technologies et de l'Environnement*, 211.) pour l'espèce de cucurbita moschata.
23. **Deshpande, S. S., Cheryan, M., Salunkhe, D. K., & Luh, B. S. (1986).** Tannin analysis of food
24. **Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., ... & Bassene, E. (2017).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 768-776.
25. **Droillard, M. J., & Paulin, A. (1990).** Isozymes of superoxide dismutase in mitochondria and peroxisomes isolated from petals of carnation (*Dianthus caryophyllus*) during senescence. *Plant Physiology*, 94(3), 1187-1192.
26. **Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688.

27. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
28. **Favier, A. (2006, November).** Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
29. **Gardès-Albert, M. (2006, November).** Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 365-372). Elsevier Masson.
30. **Ghedira, K., & Goetz, P. (2013).** Cucurbita pepo L. (Cucurbitaceae) Graine de courge où
31. **Gloria, N. F., Soares, N., Brand, C., Oliveira, F. L., Borojevic, R., & Teodoro, A. J. (2014).** Lycopene and beta-carotene induce cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cell lines. *Anticancer research*, 34(3), 1377-1386.
32. **Gnanvossou, D., Hanna, R., Azandémè, G., Goergen, G., Tindo, M., & Agbaka, A. (2006).** Inventaire et importance des dégâts des mouches des fruits sur quelques espèces de cucurbitacées au Bénin. *Actes de l'Atelier Scientifique National*, 6, 140-145.
33. **Goossens, A., Häkkinen, S. T., Laakso, I., Seppänen-Laakso, T., Biondi, S., De Sutter, V., ... & Oksman-Caldentey, K. M. (2003).** A functional genomics approach toward the understanding of secondary metabolism in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(14), 8595-8600.
34. **Goudable, J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
35. **Grumet, R., McCreight, J. D., McGregor, C., Weng, Y., Mazourek, M., Reitsma, K., Labate, J., Davis, A., & Fei, Z. (2021).** Genetic Resources and Vulnerabilities of Major Cucurbit Crops. *Genes*, 12(8), 1222. <https://doi.org/10.3390/genes12081222>
36. **Guiné, R. (2012).** Food Product development: whey cheese with pumpkin jam. *Academic Research International*.
37. **Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2018).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 16(S1), S254-S262.
38. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
39. **Halliwell, B. (1995).** Antioxidant characterization: methodology and, mechanism. *Biochemical pharmacology*, 49(10), 1341-1348.
40. **Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.

41. **Hart, J. H. (1981)**. Role of phytoestrogens in decay and disease resistance. *Annual review of Phytopathology*, 19(1), 437-458.
42. **Hollman, P. C. H., & Arts, I. C. W. (2000)**. Flavonols, flavones and flavanols—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1081-1093
43. **Hopkins, W. G. (2003)**. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur
44. **Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, A., Jamil, M. A., Noreen, S., & Iqbal, M. A. (2021)**. Antioxidant and antimicrobial properties of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh and seeds powders. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 11(6), 42-51
45. **Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, M. A., Jamil, M. A., Noreen, S., ... Ramzan, M. A. (2021)**. Determination of total phenolic, flavonoid, carotenoid, and mineral contents in peel, flesh, and seeds of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6)
46. **Hussain, A., Kausar, T., Sehar, S., Sarwar, A., Ashraf, A. H., Jamil, M. A., ... & Qudoods, M. Y. (2022)**. Determination of total phenolics, flavonoids, carotenoids,  $\beta$ -carotene and dpph free radical scavenging activity of biscuits developed with different replacement levels of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh and seeds powders. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(8), 1506-1514.
47. **Jeffrey, C. (1980)**. A review of the Cucurbitaceae. *Botanical Journal of the Linnean society*, 81(3), 233-247.
48. **Juan, A., Moreno, J., & Terrones, A. (2023)**. First record of alien naturalized populations of the crop *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae) in Spain, with remarks on typification status. *Acta Botanica Croatica*, 82(1), 0-0.
49. **Katyal, J. C., & Randhawa, N. S. (1986)**. *Les oligo-éléments* (Vol. 7). Food & Agriculture Org.
50. **Kaur, S., Panghal, A., Garg, M. K., Mann, S., Khatkar, S. K., Sharma, P., & Chhikara, N. (2020)**. Functional and nutraceutical properties of pumpkin—a review. *Nutrition & Food Science*, 50(2), 384-401.
51. **Li, H., Hao, Z., Wang, X., Haung, L., Li, J., (2009)**. Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Biores. Techn.*100:970-974.
52. **Lin, Y., Sun, X., Yuan, Q., & Yan, Y. (2013)**. Combinatorial biosynthesis of plant-specific coumarins in bacteria. *Metabolic engineering*, 18, 69-77.
53. **Marwa, R., & BENOUDINA, M. (2019)**. Le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif (Doctoral dissertation, Abdelhafid boussouf university Centre mila).

54. **Mercan, D. (2010).** Le stress oxydatif. ARL, Lausanne, Unilabs.
55. **Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.
56. **Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018).** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
57. **Naudin, C. (1856).** Nouvelles recherches sur les caractères spécifiques et les variétés des plantes du genre Cucurbita. V. Masson.
58. Nigerian medicinal plants. *African. Journal of Biotechnology*. 4 (7), 685-688
59. occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297.
60. **Oloyede, O. I. (2005).** Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4(6), 379-381.
61. **Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.
62. **Percival SL.** Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 2004, p. 480
63. **Polèse J.M. (2006).** La culture des courges. Edition Artemis. 10-76p.
64. **Ponce, A.G., Fritz, R., DEL Valle, C., roura, S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel wissenschaft und technology*, p 500-508
65. **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.
66. products. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 24(4), 401-449.
67. **Puri, B., & Hall, A. (1998).** *Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants.* CRC press
68. **Que, F., Mao, L et Pan, X., (2006).** Antioxydant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int*, 39:581-587.
69. **Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2.P :920
70. **Ratnam, N., Najjibullah, M., & Ibrahim, M. D. (2017).** A review on *Cucurbita pepo*. *Int J Pharm Phytochem Res*, 9, 1190-1194.

71. **Ref'at, A. A., Takruri, H. R., & Al-Sayyed, H. (2008).** Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 265-274.
72. **Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010).** Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked. *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616.
73. **Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P. Sciences et techniques du vin. Tome1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671** Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P. *Sciences et techniques du vin. Tome1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671*
74. **Rozmer, Z., & Perjési, P. (2016).** Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry reviews*, 15, 87-120.
75. **Saha, P., Mazumder, U. K., & Haldar, P. K. (2011).** In Vitro Antioxidant Activity of Cucurbita Maxima Aerial Parts. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(1), 42–48.
76. **Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., ... & Diop, Y. M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex doniana (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
77. **Spichiger RE., Savolainen V., Figeat M., Jeanmonod D. (2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses polytechniques et universitaires romandes Lausanne,
78. **Stoclet, J. C., & Schini-Kerth, V. (2011, March).** Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 69, No. 2, pp. 78-90). Elsevier Masson.
79. **Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la Nigella sativa L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4), 1111-1117.
80. **Tomasina, F., Carabio, C., Celano, L., & Thomson, L. (2012).** Analysis of two methods to evaluate antioxidants. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 40(4), 266-270.
81. **Trease, E., & Evans, W. C. (1987).** *Pharmacognosie*. Billiare Tindall: London, UK.
82. **Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

83. **Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14), 1677-1694
84. **Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007).** Saponins, classification and
85. **Wahid, S., Alqahtani, A., & Khan, R. A. (2021).** Analgesic and anti-inflammatory effects and safety profile of Cucurbita maxima and Cucumis sativus seeds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4334-4341
86. **Yang, Y., Bazhin, A. V., Werner, J., & Karakhanova, S. (2013).** Reactive oxygen species in the immune system. *International reviews of immunology*, 32(3), 249-270.
87. **Yinyang, J., Mpondo, E. M., Tchatat, M., Ndjib, R. C., Ottou, P. M., & Dibong, S. D. (2014).** Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6600-6619.
88. **Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R., & Nakao, K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and microbial technology*, 41(6-7), 849-858.
89. **Zhou, C.-L., Liu, W., Zhao, J., Yuan, C., Song, Y., Chen, D., ... Li, Q.-H. (2014).** The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and physical–chemical characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21, 24–34
90. **Zuluaga, M., Gueguen, V., Pavon-Djavid, G., & Letourneur, D. (2017).** Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *BioImpacts: BI*, 7(1), 1.
91. **<https://www.google.com/maps/place/%D8%A7%D9%84%D8%A3%D8%AE%D8%B6%D8%B1%D9%8A%D8%A9%E2%80%AD/@36.561192,3.5870674,11z/data=!4m9!1m2!7m1!2e1!3m5!1s0x128e62ba6640cbdb:0x99a0c50a0b77b4b9!8m2!3d36.5660649!4d3.5960213!16zL20vMGQxZI9m?force=pwa&authuser=0&hl=ar&source=mlapk>**



# ANNEXES



## Annexes I

### Composition du milieu Mueller-Hinton :

- ✚ Extrait de viande de bœuf : 2,0g.
- ✚ Peptone de caséine : 17,5g.
- ✚ Amidon de maïs : 1,5g.
- ✚ Agar : 17,0g.
- ✚ Ph : 7,4.

### Composition du standard de turbidité (Mc Farland 0,5) :

- ✚ 0,5ml de dihydrate de chlorure de baryum ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) à 1,175%
- ✚ 99,5ml d'acide sulfurique à 1%

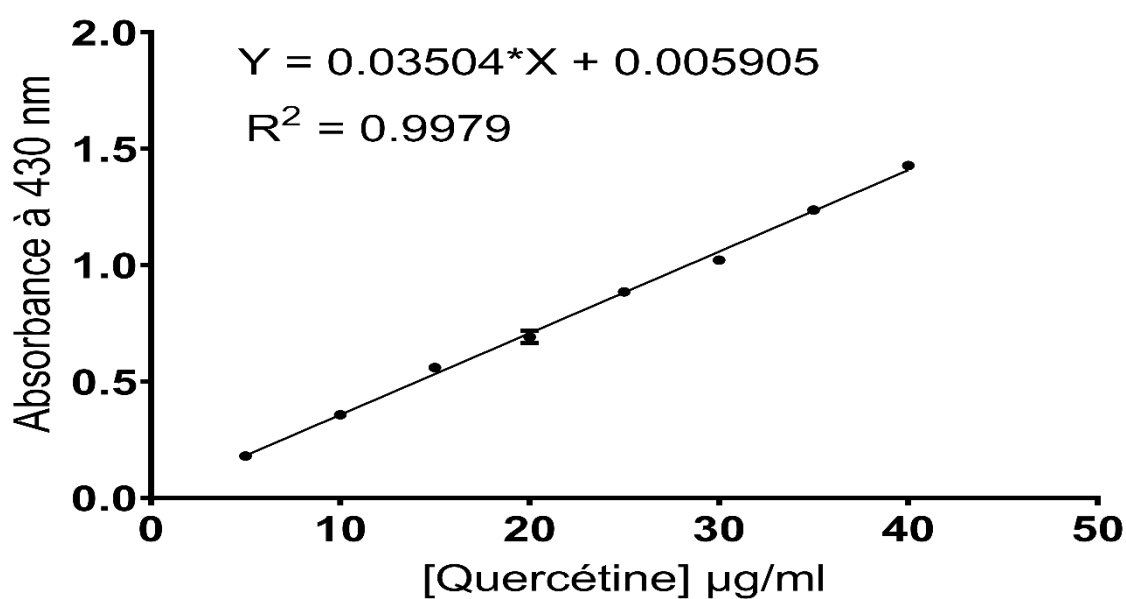


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

## Annexes II

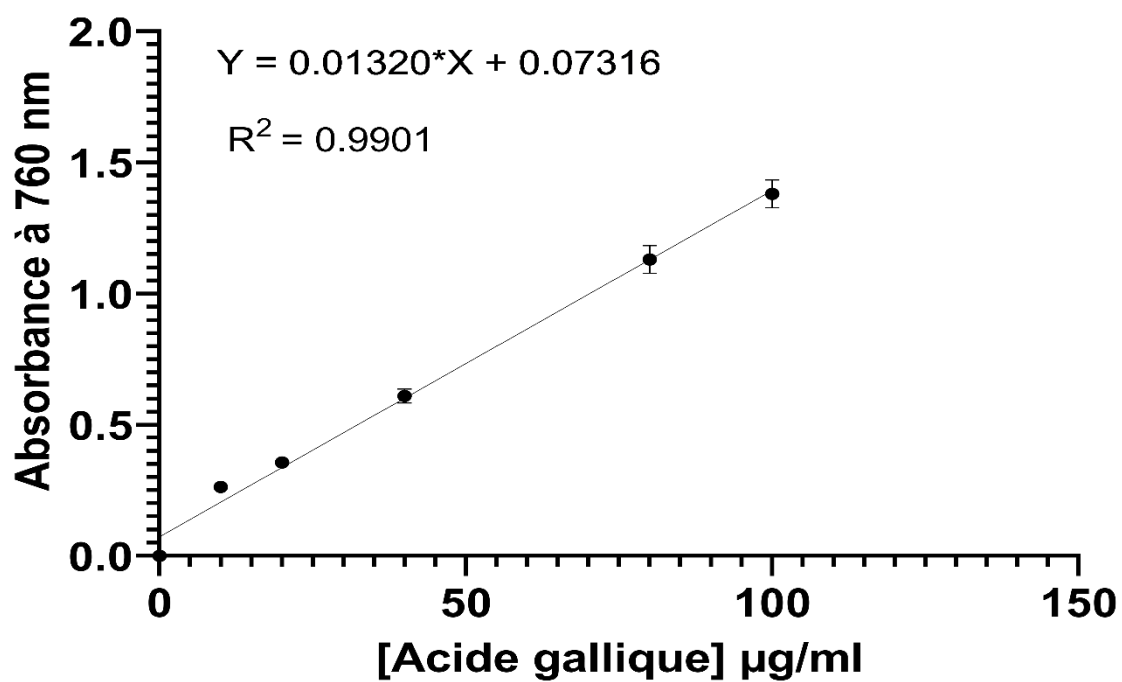


Figure 2 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

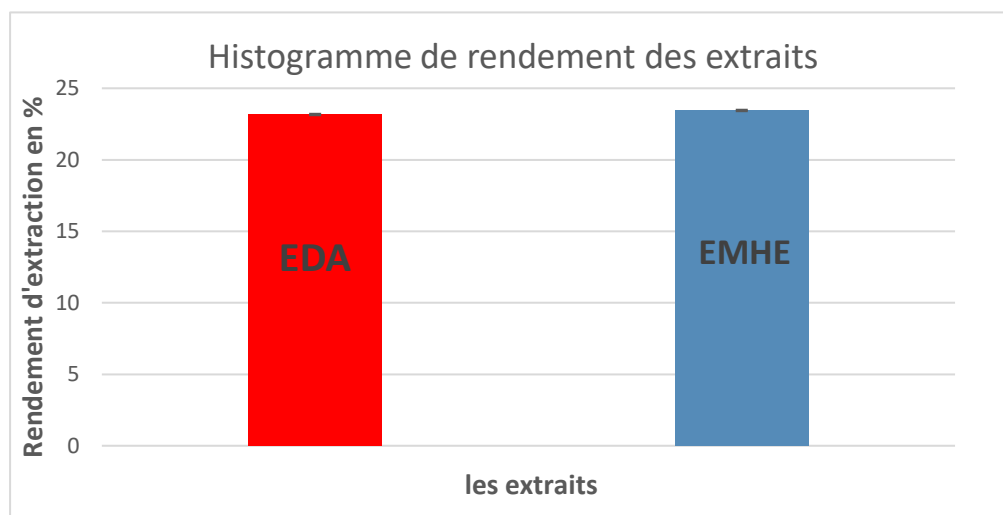


Figure 3 : Histogramme Rendement des extraits

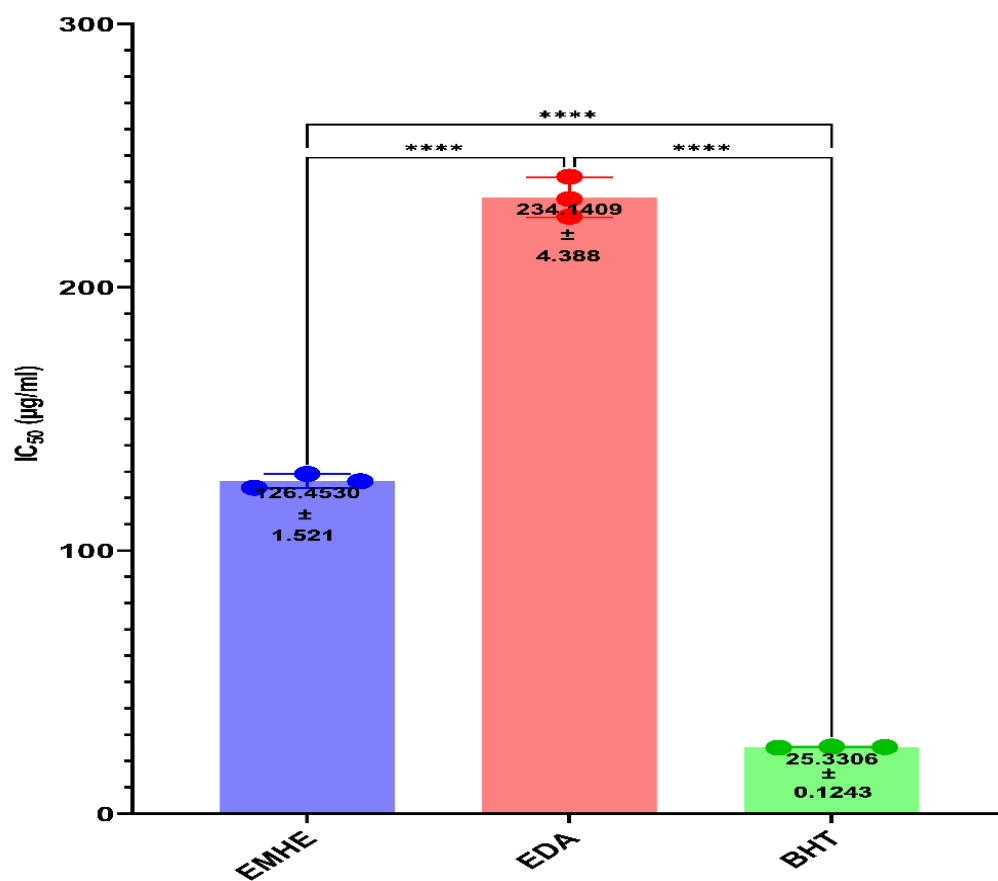


Figure 4: Histogramme des IC<sub>50</sub> des deux extraits de *cucurbita maxima* et du BHT.

## الملخص :

القرعيات الكبيرة (*Cucurbita maxima*) هي نبات ينتمي إلى عائلة القرعيات (*cucurbitaceae*) يستخدم على نطاق واسع في مجالات الأغذية الزراعية والعلاجية. تم استخلاص الجزء الجوي من النبات (اللحاء) بطريقتي النقع في الإيثانول والغلي في الماء، كانت العائدات كالتالي: منقوع الإيثانول (EMHE) (EDA) 23,45% ومغلي مائي 23.17% و أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية المطبقة على مستخلصات لحاء القرع الكبير وجود العديد من عائلات المركبات الكيميائية النشطة بيولوجيًا بما في ذلك العفص والكينون والترينويدات. تم تحديد محتوى البوليفينول بواسطة كاشف Folin-Ciocalteu ويقدر المحتوى بـ : 8,14 لمستخلص (EMHE), و 10,29 لمستخلص (EDA) ملغ مكافئ لحمض الغاليك. ثم تم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام كلورايد الألومنيوم  $AlCl_3$  ويقدر المحتوى بـ : 1,58 (EMHE), 0,87 (EDA) ملغ مكافئ للكيرسيتين. تم إجراء اختبار نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار مضاد الجذور الحرة 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) وتقدر التركيزات المثبطة (IC50) بـ : (BHT) 25,33 (EMHE) 126,45 (EDA) 234,14.

### Abstract:

*Cucurbita maxima* is a plant belonging to the *cucurbitaceae* family. It is a plant widely used in the agri-food industry and therapeutic fields. the fruit peel was subjected to two extractions; a maceration in ethanol (EMHE), and an aqueous decoction (EDA). The yields were 23.45% (m/m) for EMHE, and 23.17% (m/m) for EDA. Phytochemical tests applied to *cucurbita maxima* peel extracts showed the presence of several families of potentially bioactive chemical compounds, including tannins, quinones and terpenoids. The content of total polyphenols was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is 8.14 (EMHE), 10.29 (EDA) mg gallic acid equivalent/g. Flavonoids were evaluated by the method using aluminum chlorides  $AlCl_3$ , the content is estimated to be 1.58 (EMHE), 0.87 (EDA) mg quercetin equivalent/g. Antioxidant activity was carried out by The anti-radical test evaluated using 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH), the inhibitory concentrations at 50% (IC50) are estimated at 25.33( $\mu$ g/mg) (BHT), 126.45( $\mu$ g/mg) (EMHE), 234.14( $\mu$ g/mg) (EDA).

### Résumé :

*Cucurbita maxima* est une plante appartenant à la famille des *cucurbitacées* ; Elle est largement utilisée dans les domaines agroalimentaire et thérapeutique. L'écorce du fruit a été soumise à deux extractions, à savoir une macération dans l'éthanol (EMHE), et une décoction aqueuse (EDA). Les rendements sont de 23,45% (m/m) pour EMHE et 23,17% (m/m) pour EDA. Les tests phytochimiques appliqués aux extraits de l'écorce de *cucurbita maxima* ont montré la présence de plusieurs familles de composés chimiques potentiellement bioactives, notamment les tanins, les quinones et les terpénoïdes. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu ; elle est de 8,14 (EMHE) et 10,29 (EDA) mg équivalent d'acide gallique. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant le chlorure d'aluminium  $AlCl_3$ . la teneur est estimée à 1,58 (EMHE) et 0,87 (EDA) mg équivalent quercétine/g. L'activité antioxydante a été réalisée par le test anti-radicalaire en utilisant le 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyle (DPPH.). Les concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) sont estimées à 25,33( $\mu$ g/mg) (BHT), 126,45( $\mu$ g/mg) (EMHE) et 234,14( $\mu$ g/mg) (EDA) du BHT.