REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT des Sciences de la Nature et de la Vie

N° :……..

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BITCHNOLOGIES

OPTION : BIOTCHNOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par: BOULANANE Amina, MIHOUBI Fatima et BOUNOUIGA Amina

Intitulé

Utilisations des plantes médicinales de la Famille Cucurbitaceae

Cucurbita maxima (Citrouille)

Soutenu devant le jury composé de:

Guettouchi Ahlam	MCA	Université de M'sila	Présidant
Belkassam Abdelouahab	MCA	Université de M'sila	Encadreur
Arab Radhia	MCA	Université de M'sila	Examinateur

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENT

Nous remercions Dieu, le tout Puissant ALLAH qui nous a guidés dans le chemin de la science et qui nous a donnés la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.

Nous remercions infiniment nos très chers parents qui nous ont soutenus moralement et financièrement durant toutes mes études.

Nos remerciement vont, à notre Mon encadreur Dr .Belkassam Abdelouahab qui nous a encadrés et pour toutes les informations et l'expérience qu'il nous a transmises.sa competence scientifique a largement contribue a la realisation de ce travail

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury, "Dr. Guettouchi Ahlam "pour avoir accepté de présider notre jury d, et " Arab Radhia" pour avoir bien accepté d'examiner notre travail

A tous les enseignants et les ingénieurs de laboratoire du département de science de la nature et de la vie, qui ont contribué à ma formation, je dis merci.

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façonou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude. Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Ma très chère mère SAMIRA qui a sacrifie ses belles nuits rien que pour me voir réussir et qu'a été toujours pour moi une source de tendresse et de courage.

Mon cher père NOUREDINNE qui m'avais encouragé et soutenir durant sa vie

Ma chère sœur SELMA

Mon cher frère ADNANE

A toute ma famille

A mes chères amies : AMINA, FATIMA, AICHA et KHAWLA avec lesquellesj'ai vécu de bon moments au cours de mon cursus universitaire.

Et a tous mes amies de la promotion de Master de biotechnologie végétale (2020/2022)

Amina Boulanane ♥

Dédicace

Tout d'abord, je remercie mes généreux parents

,grâce à qui j'ai attient ce que je suis et ils m'ont aidé sans eux ,

je n'aurais pas atteint ce niveaux

A mes fréres et ma sœur, la femme de mon frère

Mon neveu

à tout ma famille

ma collègues dans ce travail AMINA et FATIMA

et a tout mes amis en particulier AMINA .

Amina Bounouiga

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec mes chaleureux sentiments

A ma mère pour son amour ; ses encouragements et ses sacrifices.

A mon père ; pour son soutien ; son affection et la confiance qui m'accordé.

A mon chère Marie pour c'encouragement.

A mon petit Ange et ma princesse Lyane.

A mes frère Akram ; mihoub .et son oublier mon petite frère Amine.

A mes très chère Bou parent qui 'ont toujours me considérée comme leur filles.

A ma belle sœur TINA et mon Bou frère Arslane.

A ma tant que je lait toujours considérée comme ma grande sœur Kenza.

A mes amis au travail amina et amina .

Et toute mes amies sans exception.

A toute la promotion master 2022 .

A toute personne ayant contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail .

FATIMA mihoubi

Table de matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ……..…01

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : **présentation de la plante étudiée**

1**.** La famille de *Cucurbitaceae*……..…….…….……05
1.1. Description botanique de la famille *Cucurbitaceae*……...….…….05
1.2. Le genre …….....06
1.3. Répartition géographique de la famille *Cucurbitaceae*…… ..……..…07
2. L'espèce *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….……..……..….07
2.1.Description botanique de la Citrouille ……..…… ..…….....07
2.2. Systématique de la plante Citrouille…….….....08
2.3.Utilisation de la plante Citrouille ……..…….……..…08

Chapitre II: **Métabolisme secondaire**

1. Généralité……..……..……10
2. Fonction de métabolite secondaire …….…….....10
3. Classification de métabolite secondaire ……....….……..…11
3.1. Les alcaloïdes ……..….....11
3.1.1. a. Classification des alcaloïdes …….……...…...11
3.2. Les composent phénolique …….....11
3.2.1. Classification des composent phénolique……..……...….12
3.2.1.a. Les flavonoïdes ……..……. ……...…13
3.2.1.b. Les tanins …….……..……..….13
3.2.1.c. Les saponines …….....14
3.2.1.d. Les coumarines ……..……..…...15
3.2.1.e. Les lignanes ……..…...15
3.2.1.f. Les stilbénes …….….....15
3.3. Les composent terpénique …… ……15

Chapitre III : **Activité biologique**

1. Activité antioxydant……...…….…18
1.1 . Les antioxydants …….……....18
1.2 . Le stress oxydatif …… ……..……..…19
1.3 .Les radicaux libres …….….....19
2. Activité antibactérienne…….…....20
2.1. Description des souches bactériennes étudiée …….…..…....20

Partie 02 : Partie expérimentale

Chapitre I : **Matériel et méthodes**

1. Matériel végétale……...…..25
2. Extraction ……..…..…26
2.1.. Principe de la macération……...…..……26
2.2. L'extraction des principes actifs……...…… ……..…...26
2.2.1. Préparation de l'extrait brut mèthanolique par extraction type solide - liquide (ESL)……..……...…26
2.2.2. Préparation de l'extrait aqueux par extraction type solide -liquide (ESL)……..…….....27
2.2.3. Préparation de l'extrait hydro mèthanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)…….27
2.3 Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille) …… …..……..……28
3. Analyses qualitatives de *Cucurbita maxima* (Citrouille) …… ..…….....29
3.1 Préparation des plaques CCM ……..……..…30
3.2 Les déférents systèmes utilisés pour la CCM ……..……..….30
4. Activité biologique …….……..….....30
4.1 Evaluation de l'activité antibactérienne de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……..32
4.2 Evaluation de l'activité antioxydant de *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….32

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Evaluation des techniques d'extraction…….…….…….35
1.1 Extraction des poly phénols de *Cucurbita maxima* (Citrouille)
……...….....35
1.1.1 Rendement des extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……..…….....35
1.2 Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille) ……...……..36
2. Analyse qualitatives des extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……...……..…37
2.1 Chromatographique sur couche mince CCM…….....37
3. Résultats des tests biologiques…….…….....41
3.1 Activité antibactérienne d'extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille) ……..….....41
3.2 Activité antioxydant d'extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….....42

Conclusion

Reference bibliographique

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

ATCC : American type culture collection.

BHT : Butylhydroxytoluène.

CCM : Chromatograie sur couche mince.

$CHCl_3$: Chloroforme.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

EBrt : L'extrait brut (hydro-méthanolique).

EAcOEt : L'extrait d'acétate d'éthyle.

Hcl : Acide chlorhydrique.

IC_{50}: Concentration inhibitrice de 50 %.

MeOH : Méthanol

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

NH4OH : Hydroxyde d'ammonium.

P : Poids.

p/p : Poids sur poids.

Rf : Rapport frontal.

R : Le rendement.

UV : Ultraviolet.

µl : Microlitre

Liste des figures

N°	Nom des figures	Page
01	Figure N°01 : La famille de Cucurbitaceae	5
02	Figure N°02 : Les feuilles de Cucurbitaceae.	6
03	Figure N°03:les fruites de *Cucurbitaceae.*	6
04	Figure N°04 : fruit de la *Cucurbita maxima* (Citrouille).	7
05	Figure N°05 : Structure de flavonoïde.	12
06	Figure N°06 : Structure de coumarine.	14
07	Figure N°07 : Structure de furoumarine .	14
08	Figure N°08 : Bactérie *Bacillus*.	20
09	Figure N° 9 : *Bacterie Pseudomonas aeruginosa*	21
10	Figure N° 10 : Bactérie *Escherichia coli.*	21
11	Figure N°11 : Bactérie *Staphlococcus aureus* .	22
12	Figure N°12 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.	27
13	Figure N°13 : L'extraction de la coumarine de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	28
14	Figure N°14 : Extraction liquide-liquide de coumarine	29
15	Figure N°15 : les tubes des concentration.	30
16	Figure N°16 : la préparation des les tubes dans la Haut	31
17	Figure N°17 : Rendement des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	35
18	Figure N°18 : Rendement des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	36
19	Figure N°19 : Révélation de plaque CCM de système n°2(b) sous lampe UV365 nm	37
20	Figure N°20 : Révélation de plaque CCM de système n° 2 sous lampe UV365 nm	37
21	Figure N°21 : Révélation de plaque CCM de système n° 3 sous lampe UV365 nm	37
22	Figure N°22 : Révélation de plaque CCM de système n° 1 sous lampe UV365 nm	37
23	Figure N°23 :L'effet de l'extrait brut	42
24	Figure N°24 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC50 des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	42

Liste des tableaux

N°	Nom des tableaux	Page
01	Tableau N°01 : Classification de Cucurbita maxima .	08
02	Tableau N°02 : Les différents systèmes utilisent pour la CCM.	30
03	Tableau N°03 : les souches teste	32
04	Tableau N° :04 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de Cucurbita maxima (Citrouille).	38
05	Tableau N° :05 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans les coumarines de plante Citrouille.	39
06	Tableau N° :06 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 2 systèmes par CCM dans l'extrait brute de plante Citrouille.	40
07	Tableau N°07 : Diamètre de zone d'inhibition de différents concentration de plante la citrouille sur la croissance de 4 Souche bactérienne.	41

Introduction

Introduction

L'être humain connaissait par son exploitation de la nature et l'utilisation de son environnement, dans tous les domaines, soit pour la nourriture, la cosmétique, arbis, vêtement, et également pour ces besoins médicaux avec lui, et la nature à lui tout donné, parmi les exemples de la générosité de la nature, nous trouvons les plantes médicinales qui sont caractérisées par une différenciation en usage, ces plantes médicinales demeurent une source inépuisable de substances biologiquement active **(Chikhoune, 2007).**

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possédée des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de plante ou la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique, et est appelée <<drogue végétale >> **(Gazengel et *al,* 2013).**

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale pratique la phytothérapie **(Sheng-Ji, 2001).**

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation.

De plus en plus des plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. De nombreux paramètres sont à respecter comme le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur, ou encore le goût qui devra être adapté au client. L'âge du patient et son état devront également être pris en compte. **(Chabrier, 2010).**

De même il s'est avère, que les principe actifs des plantes médicinales sont souvent lies a leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilises en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif **(Ouelbani et *al* ., 2016)**.

Introduction

Notre travail de recherche comprendre deux parties :

La 1ère partie se compose une Etude bibliographique avec trois chapitres :

- présentation de la plante étudiée
- Métabolisme secondaire
- Activité biologique

La 2 eme partie présente : les matériel et les méthodes d'extraction, et l'évaluation de leur activités antioxydants et antibactériennes et présentation des résultats obtenus et leur discussions

En fin une conclusion générale

Partie 01

Etude bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante étudiée

1. La Famille de Cucurbitaceae

1.1. Description botanique de la famille Cucurbitaceae

Les Cucurbitaceae sont une famille botanique dont les origines remontent a bien avant notre ère Leur fruits étaient utilises par les peuples non seulement comme aliments mais aussi en traitement thérapeutique pour bon nombre de maux avec de véritables cultes pour certaines espèces .

Plantes herbacées monoïque ou dioïques en générai pourvues de vrilles feuilles alterne sans stipules fleurs 5 mère monogames ou polygames corolle en entonnoir ourotacée Etamines 5 diversement soudées entre elles 1 libre en général a anthères sinueuses ovaire a 3 capelés **(Quezel, P. et Santa, S. 1963**).

Figure N°01 : La famille de Cucurbitaceae

1.1.1.Habitus

Les cucurbitaceae sont des herbes annuelles ou vivaces rampantes ou grimpantes, a tiges charnues pouvant rarement se lignifier et être arborescentes. Elles présentent des vrilles spiralées, simples ou ramifiées a la bas du pétiole, placées à l'équerre du plan tige-feuille, prenant naissance à chaque nœud. ces vrilles s'enroulent successivement dans un sens puis dans l'autre et permettent à la plante de se rapprocher progressivement de son support. les tiges sont anguleuses. Les cucurbitaceae sont des plantes monoïques ou dioïques. Elle possèdent des poils rugueux par la présence d'un cystolithe a la base **(Botineau, 2010;Spichiger et *al*., 2016).**

1.1.2.Feuilles

Les feuilles sont simple, alternes, lobées à palmatilobées ou composées avec 3 folioles ou plus **(heywood, 1996 ;martin , 2002)** ou digitées, parfois dentée **(Botineau, 2010)**. Elles ne possèdent pas de stipule **(spichiger et *al*., 2002)**.

Figure N°02 : Les feuilles de Cucurbitaceae.

1.1.3. Fruites

Le fruit des Cucurbitaceae est une baie en général cortiquée appelée péponide (baie à exocarpe coriace) qui peut atteindre de grandes dimensions. Il peut s'agir plus rarement d'une capsule sèche ou charnue, à déhiscence variable. Le péricarpe des péponides est épaissi, cutinisé en surface, parfois même, ligneux. Le mésocarpe est charnu et souvent comestible **(Botineau, 2010).**

Figure N°03:les fruites de *Cucurbitaceae.*

1.1.4. Graines

Les graines sont plates, ovoïdes, blanchâtres, et nettement marginées, parfois ailées, ex albuminées, à embryon droit, à cotylédons charnus et épais. Elles sont riches en huile **(Botineau, 2010).**

1.2. Les genres des Cucurbitaceae

La famille des Cucurbitaceae a été décrite pour la première fois par Antoine-Laurent de Jussieu en 1789 dans son ouvrage *Genera Plantarum, secundum ordines naturales disposita juxta methodum in Horto Regio Parisiensiexaratam.* (**Botineau, 2010).**

A l'heure actuelle, la famille des Cucurbitaceae compte environ 120 genres.

Les genres les plus connus et les plus répandus sont Citrullus, Cucumis et Cucurbita **(Botineau, 2010).**

1.3. Répartition géographique de la famille Cucurbitaceae

La famille des Cucurbitaceae est principalement répartie dans les régions chaudes **(Dupont & Guignard, 2015).** semi-désertiques à désertiques et dans les régions tropicales à subtropicales **(Blamey & Grey-Wilson, 2003 ; Delaveau, 2003).** de l'Ancien et du Nouveau Monde, notamment dans les forêts humides d'Amérique du Sud, ou dans les forêts, prairies, et brousses africaines **(Heywood, 1996).** Les Cucurbitaceae sont peu présentes dans les régions tempérées et en Australasie **(Heywood, 1996).**

2. L'espèce de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

2.1. Description botanique de *Cucurbita maxima (*la Citrouille)

La Citrouille crue est utilisée à des fins médicinales, elle est souvent appelée le cercueil de vitamines. À l'heure actuelle, plus de 50 variétés sont sélectionnées, elles diffèrent en apparence, mais conservent les propriétés de base et les caractéristiques générales de l'espèce Pour déterminer le type d'opinion, il existe de sérieuses différences: les botanistes l'appellent une baie et les jardiniers l'appellent un légume, car c'est certain pas de racine. Selon la classification, la Citrouille appartient aux plantes herbacées annuelles à fleurs dicotylédones de la famille des *cucurbitaceae*. Les parents les plus proches sont les courgettes et les concombres . **(https://burea-uinsurance.com/fr/description-botanique-de-la-citrouille**)

Figure N°04 : fruit de la *Cucurbita maxima* (Citrouille).

2.2. Systématique de la plante *Cucurbita maxima* (Citrouille) .

Tableau N°01 : Classification de *Cucurbita maxima* **(Boumlik, M.1995).**

Classification	
Règne	Plante
Embranchement	Spermphytes
Sous- Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledone
Sous- Classe	Gamopetale
Ordre	Camponulales
Famille	Cucurbitaceae
sous-famille	*Cucurbitoideae*
Genre	*Cucurbita*
Espèce	*Cucurbita maxima*

2. 3. Utilisation de la plante Citrouille

C.maximase (La Citrouille) récoltent à complète maturité et se consomment cuits. Très légers en calories et concentrés en micronutriments, ils peuvent être préparés de très nombreuses manières comme légume ou comme dessert : en soupe, en purée, en gratin, en tarte, en tourte, en confiture...., voire en glace.

La Citrouille fait partie des aliments pour porcins qu'on dit succulent, en raison de leur plus haute teneur en eau lorsque comparés aux concentrés de céréales. Utilisée fraiche tradionnellement dans l'alimentation animale, la citrouille peut aussi être ensilée. Le tourteau obtenu après extraction de l'huile des graines peut aussi être utilisé mais s'avère moins intéressant. Voici un bref tour d'horizon de l'utilisation de la Citrouille en alimentation porcine. (**Duval, 1995**).

Chapitre II

Métabolisme secondaire

1. Généralité

Le métabolisme secondaire se définit comme l'ensemble des voies de synthèse de la plante non communes a toutes les plantes supérieures, se différenciant en fonction de leurs appartenances taxonomiques. Les composes issu de se métabolisme, contrairement a ceux issus du métabolisme primaire, ne sont pas considères comme des nutriments pour les insectes et les autres organismes vivants en général. Définit le rôle de cette substance comme celui de composes associes a un système de défense des plantes contre les insectes et les autres organismes. il est actuellement admis que le métabolisme secondaire est associe non seulement aux mécanismes de résistance des plante, aux stress biotique, mais également aux stress de l'environnement. **(Nicolas et *al*., 2013).**

2. Fonctions des métabolites secondaires chez les végétaux

Les métabolites secondaires (MS) sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques...ect.

Exemples :

Les pigments isoprénoides et les parfums (isoprénoides volatils) des plantes attirent les insectes pollinisateurs, ils sont essentiels pour la reproduction.

Moyens de défense contre des agressions d'origines biotiques et abiotiques, comme les alcaloides.

Les phytohormones sont des substances organiques produites par les plantes qui régulent la croissance des différents végétaux ou qui peuvent intervenir pour d'autres actions telles que la communication entre plantes

Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (exp. menthe)

Attraction des agents pollinisateurs et disséminateurs.

Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et la croissance) **(Bennadja, 2013).**

3. Classification de métabolite secondaire

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

1- Les alcaloïdes et composés azotes
2- Les composés phénoliques
3- Les composés terpéniques

3.1 . Les alcaloïdes et composés azote

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine - à partir de l'opium en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes **(Mauro, 2006).**

3.1.1. Classification des alcaloïdes :

a. Les alcaloïdes vrais

b. Les pseudo-alcaloïdes

c. Les proto–alcaloïdes

3.2. Les composes phénoliques

Composés phénoliques dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définis comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupement phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol poly hydroxylé. Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétiser par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales **(Buchanan et al, 2000).** Il s'agit des

dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés **(Lobstein, 2010).**

3.2.1. Classification

3.2.1. a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont désignes sous le nom de vitamine P (P étant la premier lettre de mot perméabilité), en raison de leur efficacité a normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins **(Nijveldt et *al.* 2001).**

Les flavonoïdes peuvent être subdivises en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, chalcones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes **(Effendi et Yajun ,2008) .**

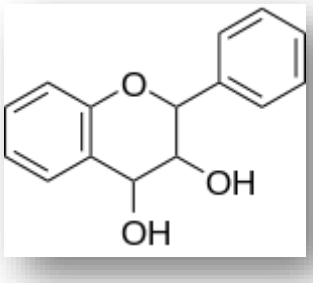


Figure N°05 : Structure de flavonoïde.

1) Classification des flavonoïdes

- Les flavones et flavonols

Les flavones sont une sous-famille des flavonoides dont la structur est bases sur (2-phenyl-1-benzopyran-4-on ou 2-phenylchromen-4-one) **(Cermak et Wolffram,2006).**

- Les flavanes

Ce sont des composés dont l'hétérocycle central C est saturé et qui n'ont pas de fonction cétone. Les flavanes sont répondus dans les écorces des végétaux (**Jakupovic et *al.*, 1988**). **–**

-Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature **(Buchanan et *al*.,G 2000).** Les anthocyanes les plus connus sont la pélargonidine responsable de la couleur rouge ou orangé chez certaines plantes. Deuxième anthocyane connu c'est la cyanidine qui donne une coloration rouge ou rose et enfin la delphinidine responsable de la coloration mauve **(Heller et Forkmann, 1993).**

-Les chalcones

Les flavanones

-Les flavonols

3.2.1. b. Les Tanins

Les tanins sont des molecules fortement hydroxyles et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associès aux protèines et aux enzymes digestives, rèduisant ainsi la digestibilitè des aliments **(Alkurd et *al*,. 2008).**

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique.

- **Tanins Hydrolysables**
- **Tanins Condensées**

3.2.1 .c. Saponines

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal **(Vincken et *al*., 2007)** . Le nom «saponine» est dérivé du mot latin sapo, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire **(Bruneton, 2009**). Il est intéressant de noter que des organismes marins comme le concombre de mer contiennent des saponines, par exemple le frondoside A isolé de Cucumariafrondosa, l'eximisoside A isolé de Psoluseximius, les thyonosides A et B isolés de Thyoneaurea, et le neothyonidioside isolé de Stichopus mollis (**Girard et al., 1990 ; Kalinin et *al*., 1997 ; Bonnard et Rinehart, 2004 ; Moraes et *al*., 2004).**

3.2.1.d. Les coumarines

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo-α-pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures **(Bourgaud et *al*., 2006)**.

- **Les coumarines simples** (benzo-α-pyrones)

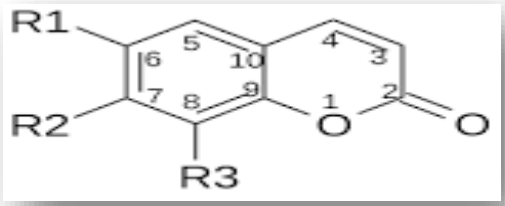


Figure N°06 : Structure de coumarine.

1-Les furocoumarines : (furobenzo-α-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple **(Bourgaud et *al*., 2006)**.

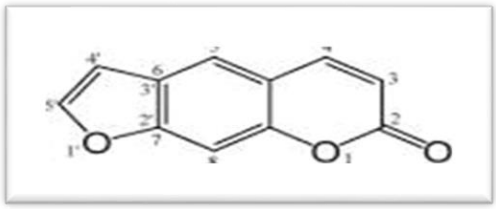


Figure N°07 : Structure de furoumarine .

2-Les pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires **(Bourgaud et *al*., 2006).**

3-Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple et sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement

aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse **(Bourgaud et *al*., 2006).**

3.2.1.e. Les Lignanes

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol constituent les principales lignanes d'origine végétale **(Axelson et *al*., 1982) .**

La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre. Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais surement elle est très complexe **(Buchanan et *al*., 2000).**

3.2.1.f. Les Stilbenes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène. Il existe deux formes isomériques : (E)-1,2-diphényléthylène ((E)-stilbène) et (Z)-1,2-diphényléthylène ((Z)-stilbène) . La forme cis (Z) est obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme trans (E) étant la forme la plus stable et bioactive **(Mérillon et *al*., 1997**), elle est en général plus abondante dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes **(Hart, 1981).**

3.3. Les composés terpéniques :

Tous les terpénoïdes proviennent des précurseurs simples à 5 atomes de carbone, l'isopentényldiphosphate (IPP) et son isomère le dimethylallyldiphosphate (DMAPP) assemblés et modifiés de milliers de façons **(Dewick, 1999).** La remarquable diversité de la chimiothèque "terpenome" contredit ainsi ses racines simples avec des précurseurs universels à 5 carbones, l'IPP et le DMAPP **(Christianson, 2007).**

Les terpénoïdes sont la plus large famille de produits naturels, et sont présents et souvent abondants dans tous les phylums du vivant. un nombre relativement faible mais quantitativement important des terpénoïdes sont impliqués dans le métabolisme primaire. Cependant, la grande majorité des terpénoïdes sont classés comme des métabolites secondaires,

composés non-requis pour la croissance et le développement cellulaire, mais présumés avoir une fonction écologique **(Harborne, 1991).**

Chapitre III

Activité biologique

L'étude des activités biologique des substances bioactives des plantes médicinales se trouve a la base des médecines dites alternative, de nombreux procèdes utilises dans la conservation des produits alimentaire crus ou crits, de substances actives exploitées dans les produite pharmaceutiques. Laprésente étude, s'intéresse particulièrementà l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits de citrouille (**Hammoudi, 2015**).

1. L'activité antioxydant

1.1 Les antioxydants

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Dans l'organisme, la respiration cellulaire génère des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les radicaux libres en excès sont responsables de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies. À l'inverse, les antioxydants luttent contre lestress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire. Ils auraient donc un effet anti-âge

Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β-carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les poly phénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques **(Hercberg el *al*., 2004).**

Les antioxydants sont des composes qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif **(Kim et Lee., 2004).**

a) Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (lasuperoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS **(Garait, 2006).**

b) Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytrochrome c et les vitamines E et C **(Garait, 2006).**

1.2. Le stress oxydant

Ce type de stress est généré par l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau cellulaire. Les ERO primaires se subdivisent en deux groupes : le groupe des dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électrons célibataires) mais très toxiques comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, l'anion peroxyde O^2 2-, le peroxynitrite $ONOO^-$ et les radicaux libres oxygénés qui eux possèdent un électron célibataire sur leurs couches externes. C'est l'exemple de l'anion superoxyde (O^{2-}) , le radical hydroxyle (OH^-) et l'oxyde nitrique (NO) **(Beckman and Ames, 1998).**

.1.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif**.**

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène.

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 **(Vansant, 2004)**.

1.1.3. a Les principaux radicaux libres

- **radical superoxyde** : est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène. Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome c (Fe^{3+}), l'ascorbate et surtout le superoxydedismutase.
- **radical hydroxyle :** et à l'anion basique non radicalaire OHen présence d'un catalyseur (réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^- + Fe^3 + OH^-$). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique.
- **radical perhydroxy :** est obtenu après protonation de ce dernier à pH inférieur à 4,8 (pKa (HO^2 / O^{2-}) = 4,8). **(Hennebelle, 2006).**

1.1.3.b La production de radicaux libres

A-La production intracellulaire : La production des EOR dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles mais est essentiellement d'origine enzymatique.

B-La production extracellulaire.

2. L'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)**

2.1. Description des souches bactériennes étudiées

1) *Bacillus*

Est une bacterie aérobie à Gram positif, sporogéne, se présentant sous forme de bâtonnets généralement mobiles. Ce germe parfois responsable de toxi-infections alimentaires ou d'infections opportunistes chez l'homme, peut être aisément manipule de manière sure en laboratoire l'intérêt de son utilisation dans nos tests de routine réside dans le fait qu'une espèce voisine (**Julien, 2002**).

Figure N°08 : Bactérie *Bacillus.*

2) Pseudomonas aeruginosa

C'est un germe appartenant au groupe des *Bacilles* a gram negatif, il poussz facilement sur les milieux usuels, cette espece se caracterise par la pigmentation bleu-vert de ces colonies.

Ces microorganismes vivent dans le tube digestif de l'homme, ils sont mobiles et possedent une ciliature polaire. Ce germe est considere comme germe-type des infections hospitalieres ou nosocomiales. Les pseudomonas vivent a l'etat saprophytique dans l'eau, les

sol humide et sur les vegeaux et sont utilisees dans les applicatuon des recherches biologique **(Berreghioua, 2016).**

Figure N° 9 : *Bacterie* ***Pseudomonas aeruginosa***

2) L'Escherichia coli

C'est une bactérie de gram négative Son réservoir naturel est l'homme et tous les animaux à sang chaud.

Escherichia coli, fait partie de la flore commensale. Il représente 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte, et on le retrouve aussi au niveau de différentes muqueuses. De simple bactérie commensale, *Escherichia coli* peut aussi devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites. Il peut aussi être impliqué dans des infections nosocomiales.

La transmission peut se faire par contact direct ou via des contaminations fécales (**flandrois, 2000**).

Figure N° 10 : Bactérie *Escherichia coli.*

2) ***Staphylococcus aureus***

C'est une espèce de la famille de *micrococcaceae* constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposees en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec. Ces bactéries survivent et prolifeent 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 N°11 : Bactérie *Staphlococcus aureus* .

Partie 02

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Pour l'évaluation de l'activité biologique In vitro de l'espèce étudie.

L'extraction a été faite dans laboratoire de biotechnologie végétal, département de science de la nateur et de la vie, faculté des sciences université de Mohamed Boudiaf â M'sila.

L'objectif

Cette étude expérimentale de divise en parties

- Le 1er partie : l'extraction mèthanolique et aqueuse (solide-liquide et liquide-liquide).
- Le 2ème partie : CCM.
- Le 3 ème partie : l'activité antioxydant des différents extrait (méthanolique _ aqueuse) en utilise le technique du piégeage du radical libre DPPH.
- La 4 ème partie : évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque.

1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les parties aériennes (fruit) du Citrouille ces parties du cette plante été cueillies en 2022 de la wilaya m'sila, que les fruite ont été récoltées en mois de mars 2022.

2. Extraction

2.1 .Le principe de macération

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïde).

2.2. L'extraction des principes actifs

$$R(\%)=M/M0 \times 100$$

R(%) : Rendement exprime en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M0 : masse en gramme de matériel végétal à traiter.

2.2.1. Extraction de l'extrait mèthanolique par extraction type solide -liquide (ESL)

Préparation de l'extrait brut par extraction type solide-liquide

lavons bien de fruit de la citrouille, puis la coupons en fines tranches, la séchons dans un endroit à labri de la lumière et du soleil, puis la broyons.

Une quantité de 50 g de poudre de fruite de la plante de citrouille macéré dans un solution contient de 20 ml de méthanol et 80 ml d'eau distillé (doble de la couantité), après 24 heure mélange est laisser reposer un 24 heures, l'extrait est ensuite filtré par papier filtre puis est répétée trois fois.

Après filtrage évaporé le liquide sous pression réduit à sec (t=45c°) par un évaporateur rotatif (rotavap) (BÜCHI–R- 120). et conservé à+4c°, à fine de cette méthode on obtenait donc l'extrait hydrométhanolique brut des fruite citrouille.

2.2.2. Préparation de l'extrait aqueuse par extraction type solide -liquide (ESL)

Une quantité de 50 g de poudre de fruite de la plante de citrouille macéré dans une solution contient de 100 ml d'eau distillé (ajouté la contuté 300 ml), après 24 heure mélange est laisser reposer une 24 heure, l'extrait et ensuite filtré par papier filtre puis et répètes cette opération 3 fois.

Après filtrage on met la solution en boit pitre et on laisse sécher à l'air, à fine de cette méthode on obtenait donc l'extrait aqueuse brut des fruite Citrouille.

2.2.3. Préparation de l'extrait hydromethanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)

L'extraction liquide-liquide est basée sur la distribution d'un soluté entre deux solvants en fonction de sa solubilité dans chacun d'entre eux.

On pose l'extrait brut de la plante dans un bécher et on ajoute 80 ml de l'eau distillé chaude, en mélanges bien et mettre dans le frigo 24 h.

Et après en mélanges l'extrait avec (80 ml) d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter, après la décantation (2 h), il ya deux phases la phase supérieur c'est la phase d'acétate d'éthyle (phase organique) et la phase inferieur (la phase aqueuse). nous répétons les mêmes étapes une deuxième foisavec (40 ml) d'acétate d'éthyle, nous passons en rotavapor.

- Cette extraction a permet d'obtenir un extrait d'acétate d'éthyle.

Figure N°12 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

2.3. Extraction des coumarines

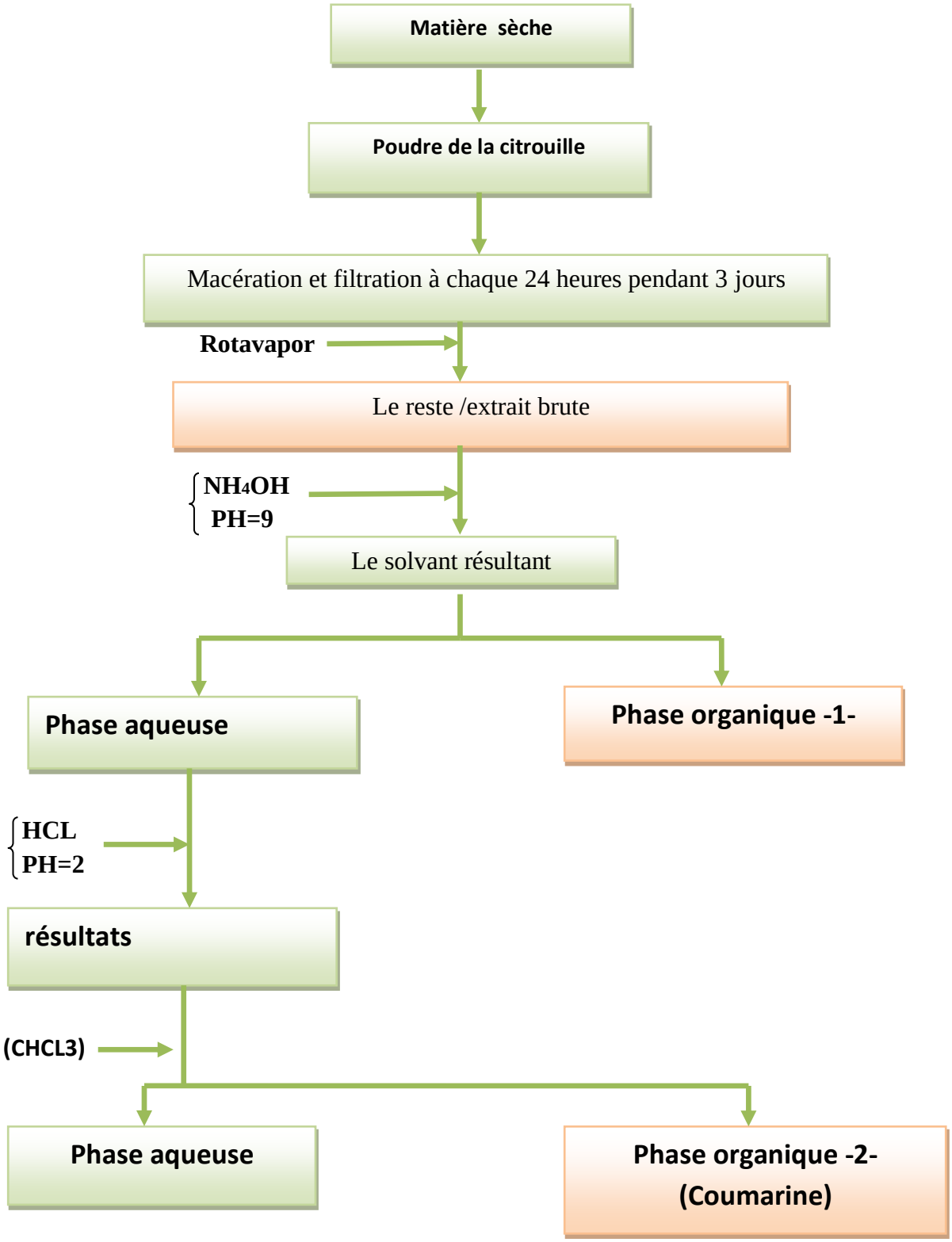


Figure N°13 : L'extraction de la coumarine de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

(Ciuel.N. 1983).

Poser l'extrait brute de la plante dans un bécher, on ajoute quelques gouttes de (NH_4OH) jusqu'à l'obtention de PH basique (PH=9). Aprèsla régulation de PH en mélanges l'extrait avec (80 ml) de chloroforme dans une ampoule à décanter on attendre pendant (2h) jusqu'à se sépare a deux phases, phase aqueuse et phase organique (1).

On ajoute l' Hcl diluer (2%) a la phase aqueuse pour obtention de PH acide (PH=2), on pose l'extrait dans une ampoule à décanter et ajouter (40 ml) de chloroforme .on attendre pendant (2h) jusqu'à se sépare a deux phases, phase aqueuse et phase organique (2) (coumarine).

Figure N°14 : Extraction liquide-liquide de coumarine

3. Analyses qualitatives de déférence extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

La chromatographie est une méthode biochimique très utilise en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange. Le principe de cette méthode est base sur la répartition sélective des constituants àséparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composes phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus.

3.1. Préparation des plaques de CCM

Ce sont des plaques en gel de silice de 0.25 mm d'épaisseur, déposées sur feuille d'aluminium. Pour utiliser ces plaques on coupe selon les dimensions : 4 cm de large et 10cm de long.

3.2. Les différents systèmes utilisent pour la CCM

Tableau N°02 : Les différents systèmes utilisent pour la CCM.

Système solvants	N°	Proportion
Acétate d'éthyle / chloroforme	1	(8 / 2 v /v)
Heptane / Acétate d'éthyle	2	(2 / 6 v /v)
Heptane / Acétate d'éthyle	3	(2 / 8 v /v)
n-butanol/Aétate d'ethyle/l'eau	4	(5/1/ 0,5 v /v)

4. Activités biologique

4.1 Evaluation de l'activité anti bactérien de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

On a prépare 4 concentration déférent 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml et 2ml/mg.

Figure N°15 : les tubes des concentration.

Dans un second temps en fait dessouder de la JELOSE dans un bain marie.

Après la préparation des 4 tubes sen se déplace sous la Haut en prenant une bavette deux bec-ben zain sons oublié, les gants pour travailler dans un milieux stérile.

Figure N°16 : la préparation des les tubes dans la Haut

Toujours dans notre milieux stérile (sous la Haut) en repartie notre JELOSE dans (4) boite de pétrie et les laisser sécher durant 30min.

Puis en a pris (4) type de bactérie :

1-*Staphlococcus aureus.*

2-Pseudomonas aeurginosa.

3-Escherichia coli.

4-Bacillus cereus.

Nous écouvillonnons verticalement et horizontalement dons les deux diagonale sons oublies les bords ; avec de la bactérie ; puis mettre les (4) boites dans un frigo pendant 2h

Après les 2h fait stérilisée une pipette pasteur pour créé 4 trous par boites

En utilisant une micro pipette (100) pour prélever nos concentration (16mg/ml), (8mg/ml), (4mg /ml) et (2mg/ml) et les mètre dans les boites a traves les (4) trous précédemment créé.

Puis les boites seront mises dans des étuves bactériologiques dans des conditions de (37°) et pas moins de 48 h ce sont les conditions nécessaires pour le développement de milieux de culture.

Les souches testées

Les souches testées proviennent de laboratoire de microbiologie de l'université de M'sila elles représentent dans le tableau suivant :

Tableau N°03 : les souches teste

Nom de bactérie	Code	Gram
Staphylococcus aureus	ATCC 25933	+
E-coli	ATCC 25922	-
Psendomonasaeurginosa	ATCC 27853	-
Bacillus cereus	ATCC 10876	+

4.2. Evaluation de l'activité antioxydants de Cucurbita maxima (Citrouille).

L'activité antioxydants des différents composes extrait a été évaluée in vitro, par le test au DPPH.

Teste de radical libre DPPH (2,2-diphenol 1-1 –picrylhydrazyl)

Le test DPPH mesure l'activité antioxydant des composés capables de transférer des atomes d'hydrogène. Le composé ($DPPH^+$) est un cation radical coloré et stable de couleur pourpre qui montre un maximum d'absorbance à 517 nm. Les composés antioxydants, qui sont capables de transférer un électron à $DMPD^+$, provoquent une décoloration de la solution. Cette réaction est rapide et proportionnelle à la capacité antioxydant de l'échantillon.

Dans une tube on met 20 mg de l'extrait méthanolique on ajoute 5 ml méthanol.

Dans un autre tube on met 20 mg de l'extrait aqueus on ajoute 5 ml méthanol.

On mixer bien les tube jusqu'à obtenir un mélange homogène puis, on obtient 2 autres tubes, et on met dans les premiers tubes 2 ml du tube 1 et on met dans le deuxième tube de 2ml du tube 2

Tube 1 ⟹ 2ml ⟹ extraits méthanolique.

Tube 2 ⟹ 2ml ⟹ extrait aqueuse.

- **Préparation de DPPH**

Nous prenons 100 ml méthanols, en ajoutons 4mg de DPPH en agitant puis l'utiliser après une demi-heure de passage.

- **Préparation des concentrations**

NB : nous la préparation labri de la lumière et emballons chaque tube dans du papier d'aluminium. La préparation dans activité antioxydant par pipât pasteure.

1- Extrait aqueuse

Nous prépares 4 tubes de déférent concentration 10, 25,50 et 100 ml.

2-Extrait méthanolique

On fait le même principe de l'extrait aqueuse.

Control négative :

Nous prépare méthanol et DPPH ensuite on le mesure par spectre mettre et mesurons le reste.

Expression des résultats

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante **(Burits et Bucar, 2000).**

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{test}}) \times 100 / \text{Abs}_{\text{Contrôle}}$$

Avec :

Abs control : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 517 nm.

Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517 nm.

Calcule des concentrations inhibitrices à 50% IC_{50}

IC_{50} (concentration inhibitrice de 50%), aussi appelée IC_{50} (concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC_{50} sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différente concentration des extraits testées **(Torres et *al*, 2006).**

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Evaluation des techniques d'extraction

1.1. Extraction des polyphénolsla *Cucurbita maxima* (Citrouille).

1.1.1. Rondement des extraits

La méthode d'extraction par macération des différents parties de Citrouille a réalisée par les solvants suivant : méthanol, acétate d'éthyle, aqueuse.

Cette méthode a permis d'obtenir des extraits de chaque partie :

- L'extrait brut (EBr).
- L'extrait d'acétate d'éthyle (EAcOEt).
- L'extrait aqueuse.

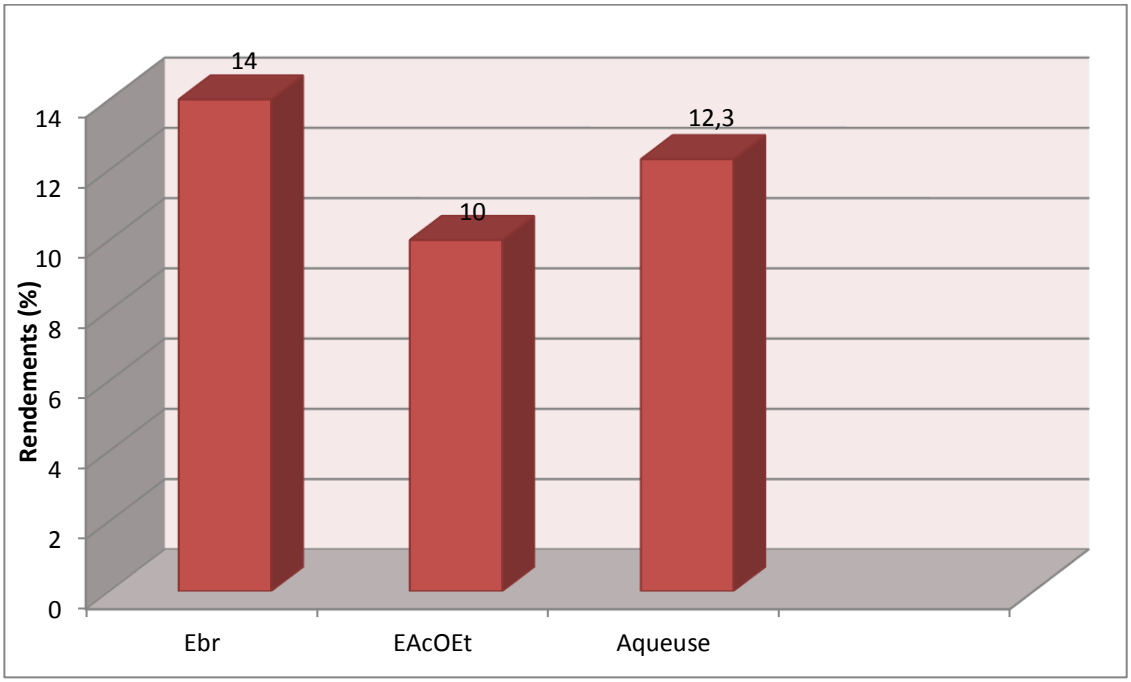


Figure N°17 : Rendement des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

Le rendement a été détermine par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage.

Les résultats obtenus montrent que les rendements des extraits sont variables dans la plante Citrouille. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut

(14%), le rendement de l'extrait aqueuse est (12.3%) et le rendement de l'extraite d'acétate d'éthyle (10%).

Le rendement de l'extrait aqueuse faible par rapport l'extrait méthanolique, le plus grand rendement détermine raisonnablement celui de l'extrait brut (l'extrait méthanolique).

Le rendement de nous résulta de l'extrait d'acétate d'éthyle (10%) et l'extrait brute méthanolique (14%) est inferieure de les résulta obtenu par (**Adjila, et Azzoug., 2021**).et ce rendement de l'extrait aqueuse (32%) est inferieure a nous résulta (12%) a couse de défirent espace.

1.2. Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

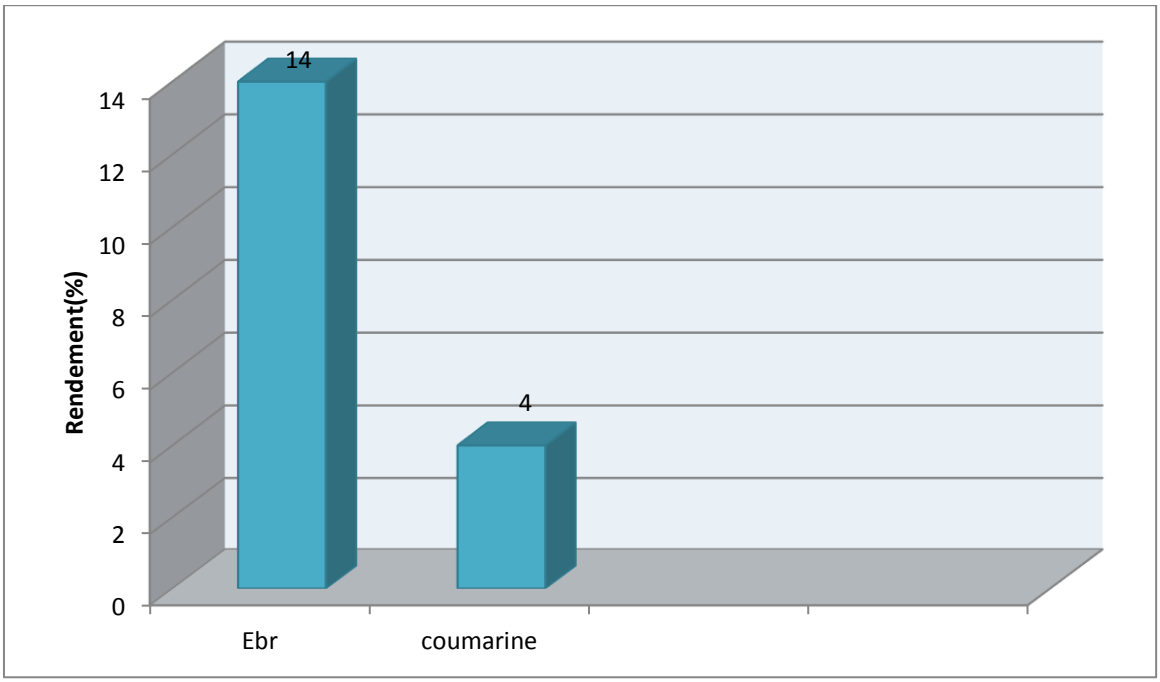


Figure N°18 : Rendement des coumarines de ***Cucurbita maxima*** **(Citrouille)**.

Dans les résultats obtenus le plus grand rendement de l'extrait brute (14%), les résultats faible obtenus par extrait de coumarine (4%)

On observe nous résulta de rendement d'extraction de coumarine est faible (4%) par rapporte le résulta trouve par (**Soufane, 2018)** (8,35%).

2. Analyse quantitative des extraits de la plante *Cucurbita maxima* (Citrouille)

2.1.Chromatographique sur couche mince CCM

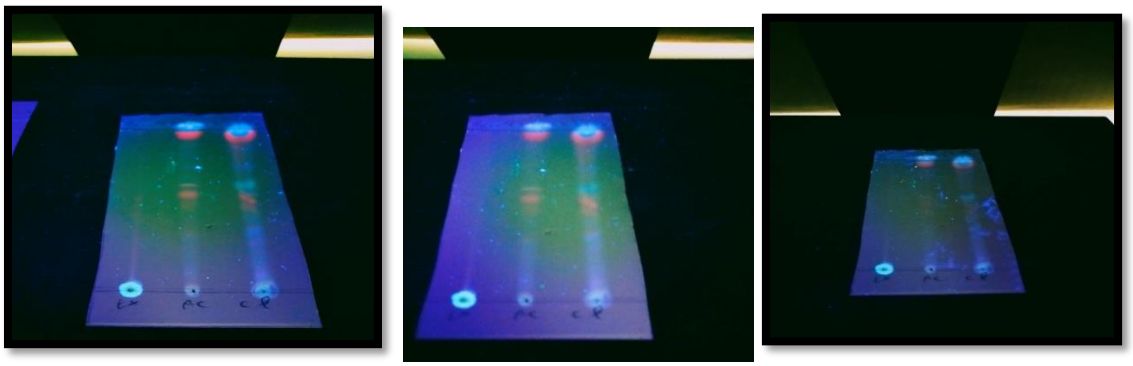


Figure N°19 : Révélation de plaque CCM de système n°2(b) sous lampe UV365 nm

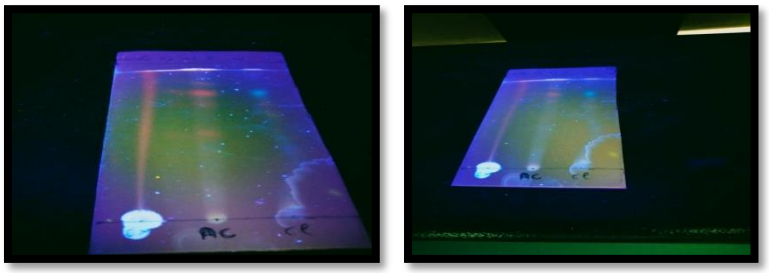


Figure N°20 : Révélation de plaque CCM de système n° 2 sous lampe UV365 nm

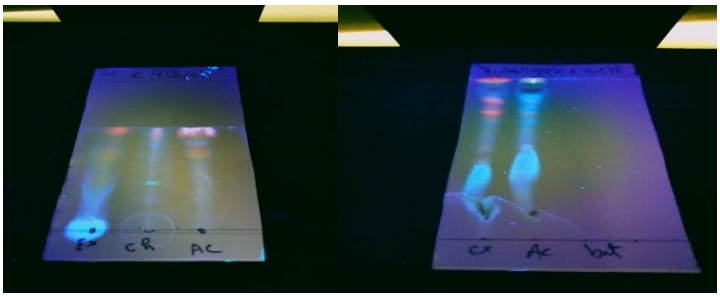


Figure N°21 : Révélation de plaque CCM de système n° 3 sous lampe UV365 nm

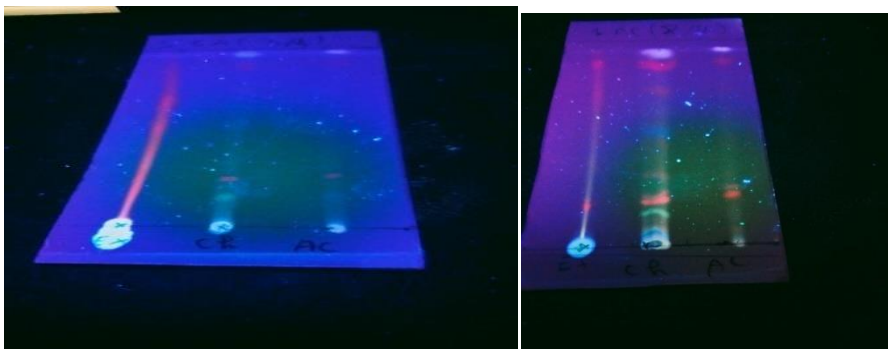


Figure N°22 : Révélation de plaque CCM de système n° 1 sous lampe UV365 nm

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant 4 systèmes solvants. Sous lumière UV à 365 nm Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs Rf observés sous UV suite à une analyse par CCM, dans le résultat obtenu de la différente partie de la plant (fruit) de citrouille. On observe plusieurs taches avec plusieurs taches avec différent coloration.

Tableau N° :04 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de ***Cucurbita maxima*** **(Citrouille)**.

N° des systèmes de solvants	**Extrait d'acétate d'éthyle**		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1	Bleu	0,01
	2	Rouge	0,31
	3	Rosse	0,35
	4	Rosse	0,89
	5	Mauve	0,96
2	1	Rosse	0,50
	2	Rosse	0,68
	3	Rouge	0,77
	4	Rosse	0,85
3	1	Rosse	0,47
	2	Rosse	0,53
	3	Rouge	0,9
	4	Bleu	0,97
4	1	Mauve	0,62
	2	Jeune	0,68
	3	Mauve	0,81
	4	Rosse	0,91

Dans le système de solvants n°01 : Acétate d'éthyle /chloroforme (8/2)

Le nombre des spots est (5 spots) dans fruits de citrouille, avec variabilité des Rf et différents couleur.

Dans le système de solvants n°02 : heptane /acétate d'éthyle (2/6), Le nombre des spots dans la fraction d'acétate d'éthyle est (4 spots) de fruits citrouille aves variabilité des Rf de différent couleurs.

Dans le système de solvants n°03 : heptane/acétate d'éthyle (2/8), le nombre des spots est (4 spots) de fruits citrouille avec variabilité des Rf des différents couleurs.

Dans le système de solvants n°04 : n-butanol / acétate d'éthyle /l'eau distillé (5/1 /0,5)

Le nombre des spots est (4 spots), avec variabilité des Rf des différents couleurs.

Dans le système Dichloromèthane / méthanol (97 :3) des travaux par (**Arima, O., 2005**). Présentent 3spote pour la fraction de AcOEt sont different que notre travail 5 spote dans les systèmes n°1.

Tableau N° :05 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans les coumarines de plante Citrouille.

N° des systèmes de solvants	Extrait des coumarines		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1	Bleu	0.02
	2	Vert	0.14
	3	Rouge	0.21
	4	Rosse	0.23
	5	Bleu	0.59
	6	Rosse	0.71
	7	Rouge	0.85
	8	mauve	0.93
2	1	Bleu	0.78
3	1	Bleu	0.26
	2	Rosse	0.43
	3	Vert	0.47
	4	Bleu	0.52
	5	Rouge	0.87
	6	Bleu	0.95
4	1	Vert	0.39
	2	Rosse	0.87
	3	mauve	0.91

Dans le systèmes N°01 : acétate d'éthyle/chloroforme (8/2), le fruit sont riche en composée phénolique (8 spots), avec variabilités de Rf et différents couleurs.

Dans le système de solvants N°02 : heptane/acétate d'éthyle (2/6), le nombre des spots (1 spots), avec variabilité de Rf et de différents couleurs.

Dans le système de solvant N°03 : heptane/acétate d'éthyle (2/8), le nombre des spots (6 spots), avec variabilité de Rf et de différents couleurs.

Dans le système de solvant N°04 : n-butanol/acétate d'éthyle/ l'eau distillé (5/1/0,5) le nombre des spots dans la faction de coumarines de citrouille est (3 spots) avec variabilité de Rf et différents couleurs.

Dans le système chloroforme/acétate d'éthyle/n-hexane; (10/10/4) des travaux par (**Soufane; 2018)** trouve des spote fluorescence cette résulta faible par rapporte nous résulta 8spot dans le système n°1.

Tableau N° :06 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 2 systèmes par CCM dans l'extrait brute de plante Citrouille.

N° des systèmes de solvants	Extrait brute		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1 2 3	Rouge Rosse mauve	0.17 0.73 0.89
4	1 2 3 4 5	Bleu Jaune Vert Bleu Rouge	0.31 0.41 0.62 0.70 0.93

Dans le système de solvant N°01 : acétate d'éthyle/chloroforme (8/2) le nombre des spots (3 spots) avec variabilité des Rf et de différents couleur.

Dans le système n-butanol/acétate d'éthyle/l'eau distillé (5/1/0,5) le nombre des spots dans la fraction de l'extrait brute de fruits citrouille (5 spots), avec variabilité de Rf, et de différents couleur.

Dans le système Dichloromèthane 100% des travaux par (**Arima, O., 2005)** Présentent 5 spots pour la fraction de L'extrait brute sont le même résulta que notre travail 5 spots dans le systèmes n°4.

3. Résultats d'activité biologiques de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

3.1. : Activité antibactérienne

Tableau N°07 : Diamètre de zone d'inhibition de différents concentration de plante la Citrouille sur la croissance de 4 Souche bactérienne.

	Concentration d'extrait mèthanolique			
Souche bactérienne	**16mg/ml**	**8mg/ml**	**4mg/ml**	**2mg/ml**
	Diamètre Zoned'inhibition en mm			
Staphylococus aureus	0	4	0	0
Sensibilité	_	+	_	_
Pseudumonas aeruginosa	0	15	0	2
Sensibilité	_	+	_	+
Bacillus cereus	0	0	0	0
Sensibilité	_	_	_	_
Escherichia coli	0	0	0	0
Sensibilité	_	_	_	_

Les résultats d'activité antimicrobienne des différentes concentrations sont présentées dans le tableau au-dessous dans 8mg/ml sont sensible contre *staphilocoaus aureus* avec diamètre (4mm) par rapport concentration16mg/ml ,4mg/ml et 2mg/ml est non sensible.

Le résultat de notre travail de fruit de *Cucurbita moschata* (12mm) que les résulta trouve par (**Bouamar, 2019**).et faible que le résultat de notre travail (4mm).

Les résultats obtenus dans le tableau au-dessous montrent que 8mg/ml et 2mg/ml sont sensible contre *Pseudumonas aeruginosa* avec diamètre (15 ; 2 mm)

Les résultats de l'autre deux souches *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*, il n'yapasd'réactionavce les extraits (non sensibles).

D'apres les resultats de **Bouferioua et *al* ,. (2020)** la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de (128,8mm) est *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de (90mm) et les souches rèsistantes sont *E .coli* et *Staphylococcus aureus* .cette déferons a cause de les concentration.

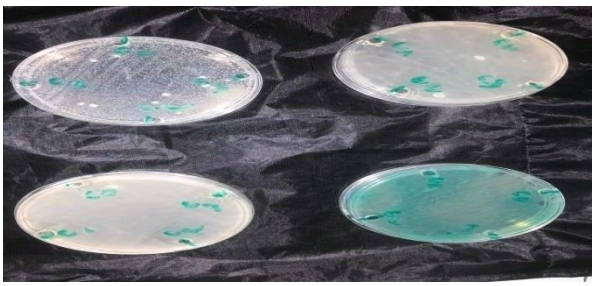


Figure N°23 :L'effet de l'extrait brut sur les souches bactériennes testées en présence différent concentration d'extraits.

3.2. Activité antioxydant

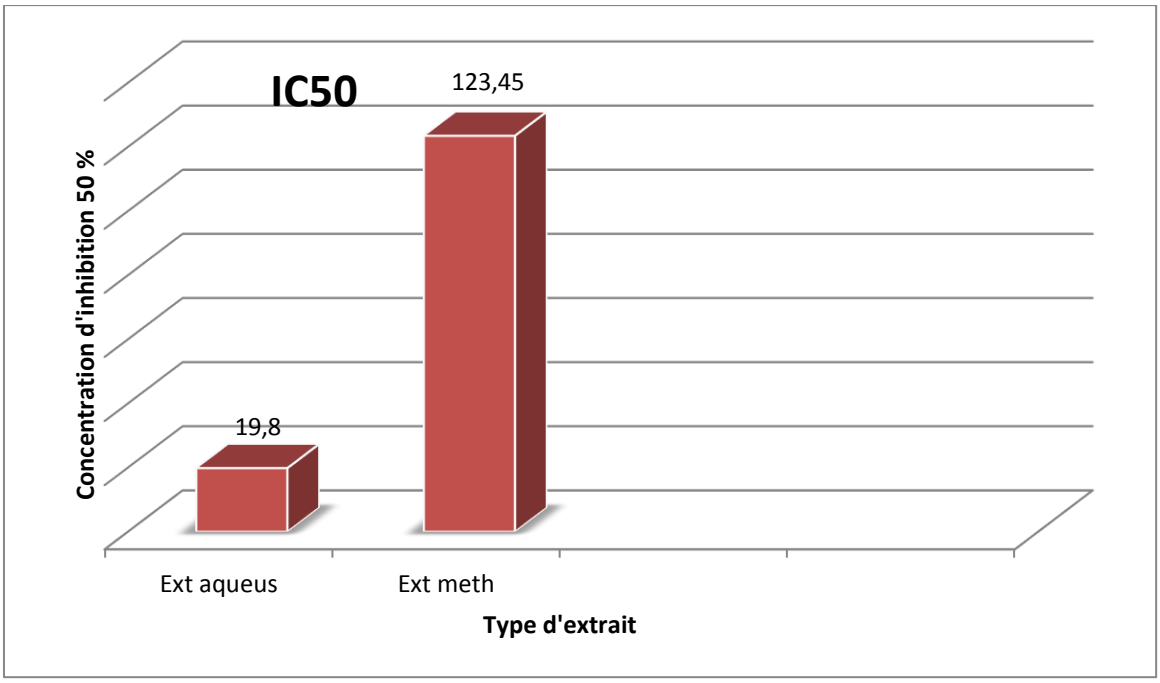


Figure N°24 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC_{50} des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

Les résultats obtenus de IC_{50} de notre extraits montre que l'extrait extraits aqueux de la Citrouille .présent une meilleure activité antioxydant d'IC_{50} = 19 ,8 µg /ml, respectivement par contre l'extraite méthanoïque possèdent une faible activité antioxydant IC_{50}

D'après **Silu et *al*., (2015)** L' IC_{50} =20 ,98 µg /ml d'extraite méthanoïque possède une activité antioxydant plus importante que le résultat de notre travail (IC_{50}=123 , 45) =123,45µg /mL .

D'après les résultats de **Benariba et *al*., (2015**) IC_{50}=61 µg /ml d'extraite aqueux possède une activité antioxydant plus faible que le résultat de notre travail (IC_{50}=19,80) .

Conclusion

Conclusion

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, voire animale.

Cucurbita maxima (Citrouille). est une plante annuelle appartenant au genre *Cucurbita maxima* et à la famille des cucurbitacées, couleur orange moyen. ressemble un peu au orange carotte mais tirant légèrement sur le jaune, dont les tige rampent à terre, une citrouille appartient à la plant médicinale.

Est très peu énergétique. Il est extrêmement riche en vitamines et plus particulièrement en A, B et C.

Il renferme également un bon taux de Sels mineraux et olIgo-elemens, et principalement du calcium, du fer, du magnésium, du phosphore et du potassium.

A noter qu'il est plus riche en vitamines et en sels minéraux que le potiron, et que sa teneur en carotène est deux fois plus élevée que celle des carottes.

Dans laboratoire biologique nous avons déterminé le rendement de l'extrait brut méthanolique et aqueuse, CCM, l'activité antioxydant et l'activité antibactériennes des les espèces de la Citrouille.

La détermination de rendement en extrait le bon résultat est remarques chez l'extrait méthanolique brut avec un pourcentage (14%) Ensuite le rondement aqueuse avec un pourcentage 12,3% et ensuite le rondement d'acétate d'éthyle avec pourcentage 10% et pour l'extrait de coumarine ce son l'extrait le plus faible avec un pourcentage 4%.

L'analyse de chromatographie CCM indique la présence avec différentes nombres des spots et des couleurs avec des 4 systèmes solvant. Le système N°1 est le système qui donné une meilleure séparation des molécules avec 5 spots.

Les résultats possèdent dans l'activité antioxydant de deux extrait le bien intéressant de l'extrait aqueuse IC_{50} = 19,80 para pore l'extrait méthanolique IC_{50} = 123,45 .

Dans l'activité antibactérienne enfié 4 souches bactérienne : *Staphylococcus aureus* ,*Bacillus* , *E-coli* et *Pseudomanas aeruginosa*, le bons résultat c'est la bacterie *Pseudomanas aeruginosa* et *staphylococcus* dans l'extrait brut avec diamètre 15 mm et 4mm.

Références

Références

1. **Adjila,Z., Azzoug, A (2021).**Etude de l'acitate antioxydon des extrait de bryonia dioica.
2. **Alkurd A., Hamed, T. R. & Al-sayyed, H**. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 4: pp 265-274.
3. **Arima, O**.**2005** Etude *phytocchimique* et de l'activite anti paludique in vivo et in vitro de nomordica balsamine Linn (*Cucurbitaceae*).
4. **Axelson, M., Sjovall, J., Gustafsson, B. E. & Setchell, K.D.R**. (1982) Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. Nature (Lond.) 298: 659-660.
5. **Basile, A. ; Giordano, S. ; López-Sáez, J. A. et Cobianchi, R. C. (1999).** Antibacterial activity of pure flavonoids isolatedfrommosses. *Phytochemistry*, 52:1479-1482
6. **Becckman K.B., Ames B.N**. The free radical theory of aging matures. Physiol. Rev., 1998, 78, 547-581.
7. **Bedjadj N., Houari., M (2019**). Etude phtochimique des extrait des capsule des gossypium Arboreum et leur activité biologique.
8. **Bennadja S.(2013) .** *Métabolites secondaires* Université Badji Mokhtar, Annaba. p1
9. **Berreghioua,(2016).**Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : Moricandiaarvensis et Zillamacroptera.These de doctorat en Chimie Organique, Université de Tlemcen, p208.
10. **Berreghious, A. (2016**). Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae medicinales du sud algerien : moricandia arvensis et Zilla macroptera. These de doctorat en chimie organique,Universite de Tlemcen, p37-38.
11. -**Blamey M., Grey-Wilson C**. (**2003).** La flore d'Europe occidentale. Plus de 2400 plantes décrites et illustrées en couleurs. *Flammarion* Paris.
12. **Bonnard, I., Rinehart, K. L. (2004).**Thyonosides A and B, two new saponinsisolated from the holothurians Thyoneaurea. Tetrahedron, 60:2987–92.
13. **Botineau M**. (**2010)** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Tec & Doc Lavoisier* Paris,
14. **Bouamar, (2019) .**Activitesbiologques des carotenoides et des polyphenols de la courg (cucurbitaMoschataD).
15. **Bourgaud F, Hehn A, Larbat R, Doeper S, Gontier E, Kellner S, Matern U**.(2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be

unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5: 293-308.

16. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie – Phytochimie, Plantes médicinales, Tec & Doc, Médicales internationales (Eds.), 4e édition.

17. **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones J. (2000).** American Society of Plant Physiologists Natural Products (Secondary Metabolits): *Biochemistry & Molecular Biology* of plants.

18. **Bumlik, M.(1995)**. Botanique, systématique des spermaphytes. Office des publication universitaire. Alges. P :58-60.

19. **Burits, M., Bucar, F.(2000)**. Antioxydant activity of Nigellasativa essential ou.phytother.Res : 14, 323-328.

20. **Cermak ., Wolffram S.(2006)<<**The potential of flavonoids to influence drug metabolism and pharmaco kinetics by local gastrointestinal mechanisms>>, dans curr Prug Metab., vol.7.n(°7).P.729-44

21. **Chabrier, J.Y., (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.

22. **Christianson, D. W. (2007).**Roots of biosyntheticdiversity. *Science* 316, 60-61.

23. **Ciuel. N. (1983)**. Methodelogy for analysis of vegetale drugs, Romania. P :1-26.

24. Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène, Université Médicale Virtuelle Francophone **(2014).**

25. **Dewick, P. M. (1999).** The biosynthesis of C5–C25 terpenoidcompounds. *Nat. Prod. Rep*. 16, 97-130.

26. **Dupont F., Guignard J.-L. (2015)**. Botanique, Les familles de plantes - 16e éd. *Elsevier Masson*
Issy-Les-Moulineaux,

27. **Garait, (2006).** Le stess oxydant induit par voie métabolique (Régime alimentaire) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin p23.

28. **Gazengel, J.M., Orecchioni. A.M.(2013).** Le préparateur pharmacie. ISBN 978-2-7430-1371-4 ,2émé Ed. Lavoisier,paris ,p1255 .

29. **Girard, M., Belanger, J., Apsimon, J. W., Garneau, F.,-X., Harvey, C., Brisson, J.-R. (1990).**Frondoside A. A noveltriterpene glycoside from the holothurian Cucumariafrondosa. Canadian Journal of Chemistry, 68:11–18.

30. **Hammoudi, R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits dequelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de Doctorat en biologie Université Kasdi Merbah-Ouargla, p 57.

31. **Harborne, J. B. (1991).** *Recentadvances in the ecologicalchemistry of plant terpenoids*. In *EcologicalChemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids*, Harborne, J.B. and Tomas-Barberan, F.A. eds (Oxford.: ClarendonPress,), pp 396-426.

32. **Hart J.H. (1981).** Role of phytostilbenes in decay and diseaseresistance .AnnualReview of Phytopathology, 19: 437-458.

33.**Heller, W., Forkmann, G., (1993).**Biosynthesis of Flavonoids. In The Flavonoids: Advances in researchsince

34. **Hennebelle, T. (2006).** "Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants." Chimie Organiqueet Macromoléculaire Docotrat: 303.

35. **Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A &Briancon S (2004)** The SU.VI.MAX Study: arandomized, placebo-controlled trial of the healtheffects of antioxidantvitamins and mineraIs. Archlntern Med 164, 2335-2342.

36. **Heywood HV**(**1996).** Les plantes à fleurs - 306 familles de la flore mondiale. Nathan Paris

37. **Julien, F. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : Gnidia involucrata Steud. Ex A. Riche. Thèse de doctorat, Université de Lausanne, p178-180.

38. **kallnin, v. i., Avilov, S. A., kalinina, e. Y., korolkova, O. G., kalinovsky, A. I., StonIk, V. A., Riguera, R., Jimenez, C. (1997).**Structure of Eximisoside A, anoveltriterpene glycoside from the far-Eas ternseacucumber Psoluseximius.Journal of Natural Products, 60:817–19

39. **Lobstein, A., (2010).** *Substances naturelles et pharmacognosie*, les alcaloïdes, pp 3-25.

40. **Martin PA., Blackburn M., Schroder RF., Matsuo K., Li BW. (2002).** Stabilization of cucurbitacin E-glycoside, a feeding stimulant for diabroticite beetles, extracted from bitter Hawkesbury watermelon. *J Insect Sci*. 2:19

41. Mauro,(2006) Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine p 13

42. **Mérillon J.M., Fauconneau B., WaffoTeguo P., Barrier L., Vercauteren J. et Huguet F. (1997).** Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted fromVitisvini fera Cell Cultures .Clinical Chemistry, 43(6): 1092-1093

43. **Moraes, G., Norhcote, P. C., Kalinin, V. I., Avilov S. A., Silchenko, A. S., Dmitrenok, P. S., StoNik, V. A., Levin, V. S. (2004).**Structure of the major triterpene glycoside from the sea cucumber Stichopusmollis and evidence to reclassifythi sspeciesinto the new genus Australostichopus.Biochemical Systematics and Ecology, 32:637–650

44. **Nicolas, S., Paul, Andre, C., Denis, T., Frederic, M. (2013).**Interactions-plantes, Ed.Quae, France, p218.

45. **Nijveldt R.J., Van Nood E., Van Hoorn D.E.C., Boelens P.G., Van Norren K., Van Leeuwen P.A.M**. (2001). Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr*., 74,418-425.

46. **Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., Douadi, K.(2016).** Ethnobotanical investigation pn plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria).

47. **Quezel, P., Santa, S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiquesméridionales. Tome 2.P :920

48. **SHENG-JI P.(2001).**Ethnobotanical Approches of Traditional Medicine Studies: Some Experiences fromAsia. Pharmaceutical Biology, 39: 74-79

49. **SiluBaasumatary ,Ajitkumarpas , RaamanNanjan , Gauriduttsharma, (2015).**In vitro Evaluation of antioxydant properties of hodgsoniaheteroclita (*cucurbitaceae*) fruit.

50.**Soufane,S,.(2018**). Etude de la toxicite des fruits de citrullus colocynllis.

51. Spichiger RE., Figeat M., Jeanmonod D., Clerc P., Gautier L., Loizeau P.-A(2016) Botanique systématique avec une introduction aux grands groupes de champignons. *Presses polytechniques et universitaires romandes* Lausanne,

52. **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,

53. Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : Gnidia involucrata Steud. Ex

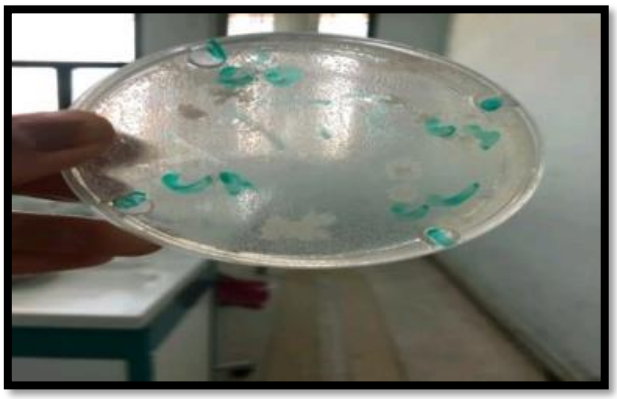
54. **Torres, R., Faini ,F., Modak ,B., Urbina, F., Labbe, C., Guerrero, J.(2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonolsfrom the resinousexudate of Haplopappusmultifolius. phytochemistry.67 : 984-987.

55. Vansant G. (2004) Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone,

56.**Vincken, J.-P., Heng, L. DE groot, A., Gruppen, H. (2007).**Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. Phytochemistry, 68:275–297.

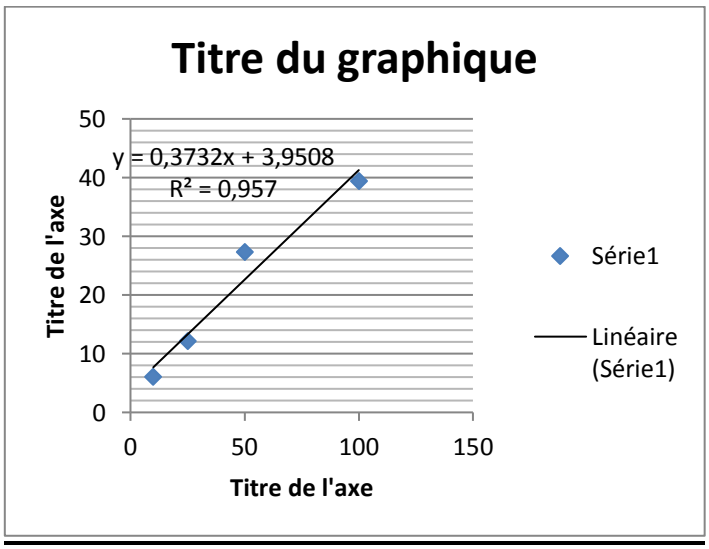
La source: https://burea-uinsurance.com/fr/description-botanique-de-la-citrouille

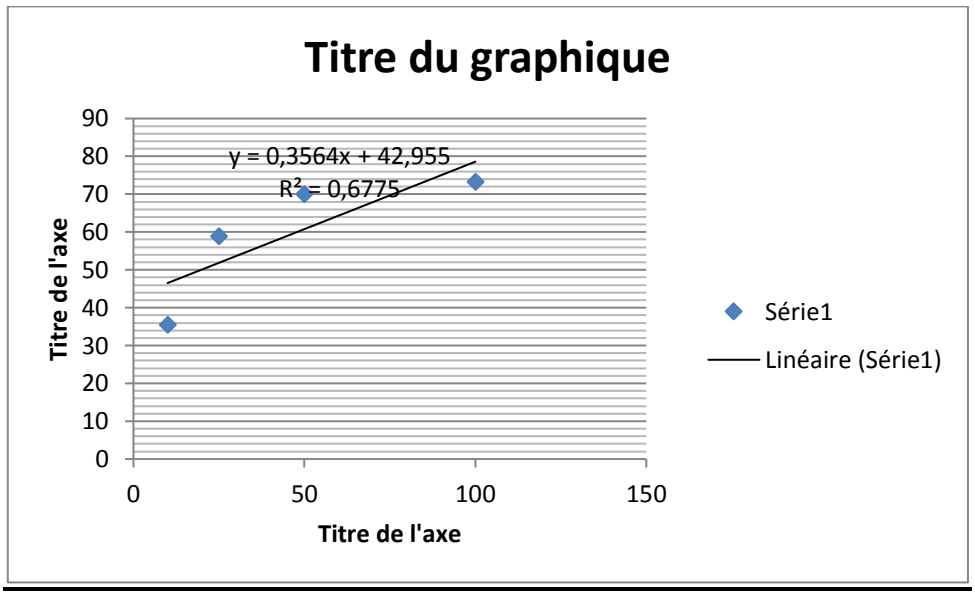
Annexe

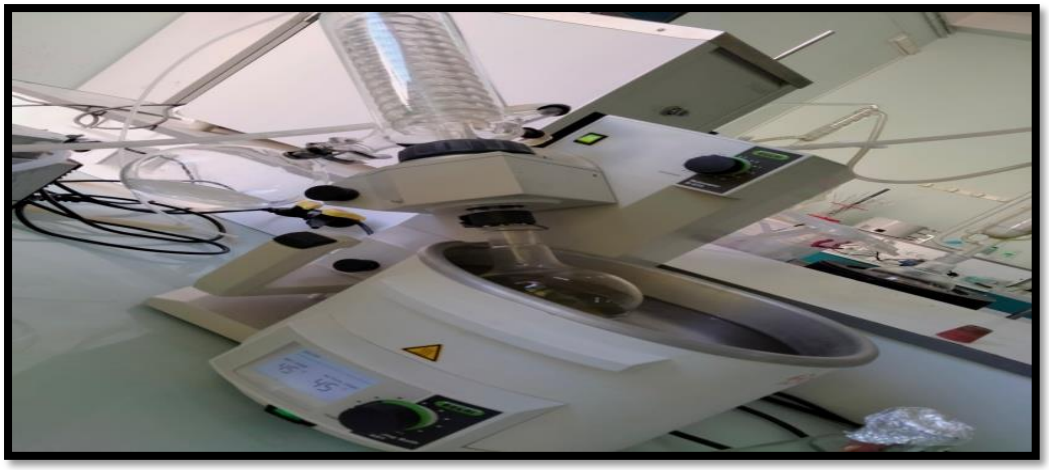


L’effet de l’extrait brutsur la souche bactérienne testée Staphilocoaus aureus en présence différent concentration d’extraits

L’effet de l’extrait brutsur la souche bactérienne testée pseudumon as aeruginosaen présence différent concentration d’extraits







Appareil du rota vapeurde type **(BÜCHI R- 120)**

Appareil de spectrophotométrie

Résumé

La phytothérapie proposant des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme. La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutique.

Notre étude a pour buts d'évaluer différents extraits de Citrouille, est une plante médicinale appartenant a la famille des Cucurbitacée, et très connues pour ses vertus thérapeutiques variées et Considéré comme une Source de β-carotène et excellente source de vitamine (A, C, B6, D et B2) et Riche en fibres.La Citrouille est un aliment nutritif pour l'homme, permet de faire le plein de nutriments antioxydants, il renforcer ses défenses immunitaires et c'est un anti-inflammatoire efficace.

La détermination du rendement de fruit et l'extrait bruit methanolique (14%) et l'extrait aqueuse (12.3%). Et pour les coumarines le rondement dont (4%) respectivement le screening photochimique.

L'analyse qualitative par la méthode de CCM indique la présence des déférents composées phénoliques dans les déférentes extraits de plante testée avec une variabilité des nombres des spots et des couleurs avec des trois systèmes solvant.

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits de plante restée ont montre une forts pouvoir de réduction de radical libre DPPH avec IC_{50} comprises entre 19.80 et 123.45 µg /ml.

L'activité antioxydant été estimée a laide de la DPPH les résultats montrent que les extraits aqueuse possèdent une activité antioxydant bien intéressant dan la partie fruit avec une IC_{50} =19 ,80.

Les déférents extraits ont de bonnes activités antibactériennes contre Pseudomanas et Aeurginosa avec diamètre 15 mm.

Mots clés : Cucurbitaceae, Citrouille, phytochimique, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

الملخص

الأدوية العشبية التي تقدم العلاجات الطبيعية مقبولة جيداً من قبل الجسم. يظل اكتشاف الموارد الطبيعية من المملكة النباتية ضرورياً لتطوير علاجت علاجية جديدة.

تهدف دراستنا إلى تقييم مستخلصات مختلفة من القرع، وهو نبات طبي ينتمي إلىn bعائلة القرعيات، ومعروف جيداً بخصائصه العلاجية المتنوعة ويعتبر مصدراً اللبيتاكاروتين ومصدراً ممتازاً لفيتامين (أ،ج،ب 6 ،د. و (B2وغنية بالألياف. اليقطين غذاء مغذي للإنسان، يسمح لمغذيات المضادة بالأكسدة، ويقوي دفاعاتك المناعية وهو مضاد فعال للالتهابات.

تقدير حاصل الثمار و مستخلص الميثانول الضجيج (14٪) والمستخلص المائي (12.3٪). وبالنسبة للكومارين استدارة (4٪) منها على التوالي الفرز الضوئي الكيميائي.

يشير التحليل النوعي بواسطة طريقة TLC إلى وجود مركبات فينولية مختلفة في المستخلصات النباتية المختلفة التي تم اختبارها مع تباين في عدد البقع و الألوان مع ثلاثة أنظمة مذيبات.

أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية المتبقية قدر ةقوية على تقليل الجذورالحرة DPPH مع IC50 بين 19.80 و 123.45 ميكروغرام / مل.

تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة باستخدام DPPH وأظهرت النتائج أن المستخلصات المائية لها نشاط مضاد للأكسدة مثير للاهتمام فيجزء الفاكهة مع تركيز.IC50 = 19.80

الأسهر المستخرجة لها نشاط مضاد للبكتيريا جيد ضد Pseudomana و Aeurginosa بقطر 15 ملم

الكلمات المفتاحية : القرعيات اليقطين , الضوئي الكيميائي, النشاط المضاد للاكسدة ,النشاط المضاد للبكتيريا .

Herbal medicine offering natural remedies is well accepted by the body. The discovery of natural resources from the plant kingdom remains essential for the development of new therapeutic remedies.

Our study aims to evaluate different extracts of Pumpkin, is a medicinal plant belonging to the Cucurbitaceae family, and well known for its varied therapeutic virtues and Considered as a Source of β-carotene and excellent source of vitamin (A, C , B6, D and B2) and Rich in fibre. Pumpkin is a nutritious food for humans, allows you to fill up with antioxidant nutrients, it strengthens your immune defenses and it is an effective anti-inflammatory.

Determination of fruit yield and noise methanolic extract (14%) and aqueous extract (12.3%). And for the coumarins the roundness of which (4%) respectively the photochemical screening.

Qualitative analysis by the TLC method indicates the presence of the deferent phenolic compounds in the deferent plant extracts tested with a variability in the number of spots and colors with three solvent systems.

The evaluation of the antioxidant activity of the remaining plant extracts showed a strong power of reduction of free radical DPPH with IC_{50} between 19.80 and 123.45 µg / ml.

The antioxidant activity was estimated using the DPPH the results show that the aqueous extracts have a very interesting antioxidant activity in the fruit part with an IC_{50} = 19.80.

The extracted vas have good antibacterial activities against Pseudomanas and Aeurginosa with diameter 15mm.

Keywords: Cucurbitaceae, Pumpkin, antioxidant activity, antibacterial activities.

REMERCIEMENT

Nous remercions Dieu, le tout Puissant ALLAH qui nous a guidés dans le chemin de la science et qui nous a donnés la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.

Nous remercions infiniment nos très chers parents qui nous ont soutenus moralement et financièrement durant toutes mes études.

Nos remerciement vont, à notre Mon encadreur Dr .Belkassam Abdelouahab qui nous a encadrés et pour toutes les informations et l'expérience qu'il nous a transmises.sa competence scientifique a largement contribue a la realisation de ce travail

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury, "Dr. Guettouchi Ahlam "pour avoir accepté de présider notre jury d, et " Arab Radhia" pour avoir bien accepté d'examiner notre travail

A tous les enseignants et les ingénieurs de laboratoire du département de science de la nature et de la vie, qui ont contribué à ma formation, je dis merci.

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façonou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude. Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Ma très chère mère SAMIRA qui a sacrifie ses belles nuits rien que pour me voir réussir et qu'a été toujours pour moi une source de tendresse et de courage.

Mon cher père NOUREDINNE qui m'avais encouragé et soutenir durant sa vie

Ma chère sœur SELMA

Mon cher frère ADNANE

A toute ma famille

A mes chères amies : AMINA, FATIMA, AICHA et KHAWLA avec lesquellesj'ai vécu de bon moments au cours de mon cursus universitaire.

Et a tous mes amies de la promotion de Master de biotechnologie végétale (2020/2022)

Amina Boulanane ♥

Dédicace

Tout d'abord, je remercie mes généreux parents

,grâce à qui j'ai attient ce que je suis et ils m'ont aidé sans eux ,

je n'aurais pas atteint ce niveaux

A mes fréres et ma sœur, la femme de mon frère

Mon neveu

à tout ma famille

ma collègues dans ce travail AMINA et FATIMA

et a tout mes amis en particulier AMINA .

Amina Bounouiga

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec mes chaleureux sentiments

A ma mère pour son amour ; ses encouragements et ses sacrifices.

A mon père ; pour son soutien ; son affection et la confiance qui m'accordé.

A mon chère Marie pour c'encouragement.

A mon petit Ange et ma princesse Lyane.

A mes frère Akram ; mihoub .et son oublier mon petite frère Amine.

A mes très chère Bou parent qui 'ont toujours me considérée comme leur filles.

A ma belle sœur TINA et mon Bou frère Arslane.

A ma tant que je lait toujours considérée comme ma grande sœur Kenza.

A mes amis au travail amina et amina .

Et toute mes amies sans exception.

A toute la promotion master 2022 .

A toute personne ayant contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail .

FATIMA mihoubi

Table de matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ……..…01

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : **présentation de la plante étudiée**

1**.** La famille de *Cucurbitaceae*……..…….…….……05
1.1. Description botanique de la famille *Cucurbitaceae*……...….…….05
1.2. Le genre …….....06
1.3. Répartition géographique de la famille *Cucurbitaceae*…… ..……..…07
2. L'espèce *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….……..……..….07
2.1.Description botanique de la Citrouille ……..…… ..…….....07
2.2. Systématique de la plante Citrouille…….….....08
2.3.Utilisation de la plante Citrouille ……..…….……..…08

Chapitre II: **Métabolisme secondaire**

1. Généralité……..……..……10
2. Fonction de métabolite secondaire …….…….....10
3. Classification de métabolite secondaire ……....….……..…11
3.1. Les alcaloïdes ……..….....11
3.1.1. a. Classification des alcaloïdes …….……...…...11
3.2. Les composent phénolique …….....11
3.2.1. Classification des composent phénolique……..……...….12
3.2.1.a. Les flavonoïdes ……..……. ……...…13
3.2.1.b. Les tanins …….……..……..…13
3.2.1.c. Les saponines …….....14
3.2.1.d. Les coumarines ……..……..…...15
3.2.1.e. Les lignanes ……..…...15
3.2.1.f. Les stilbénes …….….....15
3.3. Les composent terpénique …… ……15

Chapitre III : **Activité biologique**

1. Activité antioxydant……...…….…18
1.1 . Les antioxydants …….…….....18
1.2 . Le stress oxydatif …… ……..……..…19
1.3 .Les radicaux libres …….….....19
2. Activité antibactérienne…….….....20
2.1. Description des souches bactériennes étudiée …….…..…..20

Partie 02 : Partie expérimentale

Chapitre I : **Matériel et méthodes**

1. Matériel végétale……..…..25
2. Extraction ……..…..…26
2.1.. Principe de la macération……...…..……26
2.2. L'extraction des principes actifs……...…… ……..…...26
2.2.1. Préparation de l'extrait brut mèthanolique par extraction type solide - liquide (ESL)……..……...…26
2.2.2. Préparation de l'extrait aqueux par extraction type solide -liquide (ESL)……..…….....27
2.2.3. Préparation de l'extrait hydro mèthanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)…….27
2.3 Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille) …… …..……..……28
3. Analyses qualitatives de *Cucurbita maxima* (Citrouille) …… ..…….....29
3.1 Préparation des plaques CCM ……..……...…30
3.2 Les déférents systèmes utilisés pour la CCM ……..……..….30
4. Activité biologique …….……...….....30
4.1 Evaluation de l'activité antibactérienne de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……..32
4.2 Evaluation de l'activité antioxydant de *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….32

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Evaluation des techniques d'extraction…….…….…….35
1.1 Extraction des poly phénols de *Cucurbita maxima* (Citrouille)
……...….....35
1.1.1 Rendement des extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……..…….....35
1.2 Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille) ……...……..36
2. Analyse qualitatives des extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille)……...……..…37
2.1 Chromatographique sur couche mince CCM…….....37
3. Résultats des tests biologiques…….…….....41
3.1 Activité antibactérienne d'extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille) ……..….....41
3.2 Activité antioxydant d'extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille)…….....42

Conclusion

Reference bibliographique

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

ATCC : American type culture collection.

BHT : Butylhydroxytoluène.

CCM : Chromatograie sur couche mince.

$CHCl_3$: Chloroforme.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

EBrt : L'extrait brut (hydro-méthanolique).

EAcOEt : L'extrait d'acétate d'éthyle.

Hcl : Acide chlorhydrique.

IC_{50}: Concentration inhibitrice de 50 %.

MeOH : Méthanol

mg/ml : Milligramme par millilitre.

mm : Millimètre.

NH4OH : Hydroxyde d'ammonium.

P : Poids.

p/p : Poids sur poids.

Rf : Rapport frontal.

R : Le rendement.

UV : Ultraviolet.

µl : Microlitre

Liste des figures

N°	Nom des figures	Page
01	Figure N°01 : La famille de Cucurbitaceae	5
02	Figure N°02 : Les feuilles de Cucurbitaceae.	6
03	Figure N°03:les fruites de *Cucurbitaceae.*	6
04	Figure N°04 : fruit de la *Cucurbita maxima* (Citrouille).	7
05	Figure N°05 : Structure de flavonoïde.	12
06	Figure N°06 : Structure de coumarine.	14
07	Figure N°07 : Structure de furoumarine .	14
08	Figure N°08 : Bactérie *Bacillus*.	20
09	Figure N° 9 : *Bacterie Pseudomonas aeruginosa*	21
10	Figure N° 10 : Bactérie *Escherichia coli.*	21
11	Figure N°11 : Bactérie *Staphlococcus aureus* .	22
12	Figure N°12 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.	27
13	Figure N°13 : L'extraction de la coumarine de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	28
14	Figure N°14 : Extraction liquide-liquide de coumarine	29
15	Figure N°15 : les tubes des concentration.	30
16	Figure N°16 : la préparation des les tubes dans la Haut	31
17	Figure N°17 : Rendement des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	35
18	Figure N°18 : Rendement des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	36
19	Figure N°19 : Révélation de plaque CCM de système n°2(b) sous lampe UV365 nm	37
20	Figure N°20 : Révélation de plaque CCM de système n° 2 sous lampe UV365 nm	37
21	Figure N°21 : Révélation de plaque CCM de système n° 3 sous lampe UV365 nm	37
22	Figure N°22 : Révélation de plaque CCM de système n° 1 sous lampe UV365 nm	37
23	Figure N°23 :L'effet de l'extrait brut	42
24	Figure N°24 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC50 des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).	42

Liste des tableaux

N°	Nom des tableaux	Page
01	Tableau N°01 : Classification de Cucurbita maxima .	08
02	Tableau N°02 : Les différents systèmes utilisent pour la CCM.	30
03	Tableau N°03 : les souches teste	32
04	Tableau N° :04 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de Cucurbita maxima (Citrouille).	38
05	Tableau N° :05 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans les coumarines de plante Citrouille.	39
06	Tableau N° :06 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 2 systèmes par CCM dans l'extrait brute de plante Citrouille.	40
07	Tableau N°07 : Diamètre de zone d'inhibition de différents concentration de plante la citrouille sur la croissance de 4 Souche bactérienne.	41

Introduction

Introduction

L'être humain connaissait par son exploitation de la nature et l'utilisation de son environnement, dans tous les domaines, soit pour la nourriture, la cosmétique, arbis, vêtement, et également pour ces besoins médicaux avec lui, et la nature à lui tout donné, parmi les exemples de la générosité de la nature, nous trouvons les plantes médicinales qui sont caractérisées par une différenciation en usage, ces plantes médicinales demeurent une source inépuisable de substances biologiquement active **(Chikhoune, 2007).**

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possédée des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de plante ou la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique, et est appelée <<drogue végétale >> **(Gazengel et *al*, 2013).**

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale pratique la phytothérapie **(Sheng-Ji, 2001).**

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation.

De plus en plus des plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. De nombreux paramètres sont à respecter comme le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur, ou encore le goût qui devra être adapté au client. L'âge du patient et son état devront également être pris en compte. **(Chabrier, 2010).**

De même il s'est avère, que les principe actifs des plantes médicinales sont souvent lies a leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilises en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif **(Ouelbani et *al* ., 2016)**.

Introduction

Notre travail de recherche comprendre deux parties :

La 1ère partie se compose une Etude bibliographique avec trois chapitres :

- présentation de la plante étudiée
- Métabolisme secondaire
- Activité biologique

La 2 eme partie présente : les matériel et les méthodes d'extraction, et l'évaluation de leur activités antioxydants et antibactériennes et présentation des résultats obtenus et leur discussions

En fin une conclusion générale

Partie 01

Etude bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante étudiée

1. La Famille de Cucurbitaceae

1.1. Description botanique de la famille Cucurbitaceae

Les Cucurbitaceae sont une famille botanique dont les origines remontent a bien avant notre ère Leur fruits étaient utilises par les peuples non seulement comme aliments mais aussi en traitement thérapeutique pour bon nombre de maux avec de véritables cultes pour certaines espèces .

Plantes herbacées monoïque ou dioïques en générai pourvues de vrilles feuilles alterne sans stipules fleurs 5 mère monogames ou polygames corolle en entonnoir ourotacée Etamines 5 diversement soudées entre elles 1 libre en général a anthères sinueuses ovaire a 3 capelés **(Quezel, P. et Santa, S. 1963**).

Figure N°01 : La famille de Cucurbitaceae

1.1.1.Habitus

Les cucurbitaceae sont des herbes annuelles ou vivaces rampantes ou grimpantes, a tiges charnues pouvant rarement se lignifier et être arborescentes. Elles présentent des vrilles spiralées, simples ou ramifiées a la bas du pétiole, placées à l'équerre du plan tige-feuille, prenant naissance à chaque nœud. ces vrilles s'enroulent successivement dans un sens puis dans l'autre et permettent à la plante de se rapprocher progressivement de son support. les tiges sont anguleuses. Les cucurbitaceae sont des plantes monoïques ou dioïques. Elle possèdent des poils rugueux par la présence d'un cystolithe a la base **(Botineau, 2010;Spichiger et *al*., 2016).**

1.1.2.Feuilles

Les feuilles sont simple, alternes, lobées à palmatilobées ou composées avec 3 folioles ou plus **(heywood, 1996 ;martin , 2002)** ou digitées, parfois dentée **(Botineau, 2010)**. Elles ne possèdent pas de stipule **(spichiger et *al*., 2002)**.

Figure N°02 : Les feuilles de Cucurbitaceae.

1.1.3. Fruites

Le fruit des Cucurbitaceae est une baie en général cortiquée appelée péponide (baie à exocarpe coriace) qui peut atteindre de grandes dimensions. Il peut s'agir plus rarement d'une capsule sèche ou charnue, à déhiscence variable. Le péricarpe des péponides est épaissi, cutinisé en surface, parfois même, ligneux. Le mésocarpe est charnu et souvent comestible **(Botineau, 2010).**

Figure N°03:les fruites de *Cucurbitaceae.*

1.1.4. Graines

Les graines sont plates, ovoïdes, blanchâtres, et nettement marginées, parfois ailées, ex albuminées, à embryon droit, à cotylédons charnus et épais. Elles sont riches en huile **(Botineau, 2010).**

1.2. Les genres des Cucurbitaceae

La famille des Cucurbitaceae a été décrite pour la première fois par Antoine-Laurent de Jussieu en 1789 dans son ouvrage *Genera Plantarum, secundum ordines naturales disposita juxta methodum in Horto Regio Parisiensiexaratam.* (**Botineau, 2010).**

A l'heure actuelle, la famille des Cucurbitaceae compte environ 120 genres.

Les genres les plus connus et les plus répandus sont Citrullus, Cucumis et Cucurbita **(Botineau, 2010).**

1.3. Répartition géographique de la famille Cucurbitaceae

La famille des Cucurbitaceae est principalement répartie dans les régions chaudes **(Dupont & Guignard, 2015).** semi-désertiques à désertiques et dans les régions tropicales à subtropicales **(Blamey & Grey-Wilson, 2003 ; Delaveau, 2003).** de l'Ancien et du Nouveau Monde, notamment dans les forêts humides d'Amérique du Sud, ou dans les forêts, prairies, et brousses africaines **(Heywood, 1996).** Les Cucurbitaceae sont peu présentes dans les régions tempérées et en Australasie **(Heywood, 1996).**

2. L'espèce de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

2.1. Description botanique de *Cucurbita maxima (*la Citrouille)

La Citrouille crue est utilisée à des fins médicinales, elle est souvent appelée le cercueil de vitamines. À l'heure actuelle, plus de 50 variétés sont sélectionnées, elles diffèrent en apparence, mais conservent les propriétés de base et les caractéristiques générales de l'espèce Pour déterminer le type d'opinion, il existe de sérieuses différences: les botanistes l'appellent une baie et les jardiniers l'appellent un légume, car c'est certain pas de racine. Selon la classification, la Citrouille appartient aux plantes herbacées annuelles à fleurs dicotylédones de la famille des *cucurbitaceae*. Les parents les plus proches sont les courgettes et les concombres . **(https://burea-uinsurance.com/fr/description-botanique-de-la-citrouille**)

Figure N°04 : fruit de la *Cucurbita maxima* (Citrouille).

2.2. Systématique de la plante *Cucurbita maxima* (Citrouille) .

Tableau N°01 : Classification de *Cucurbita maxima* **(Boumlik, M.1995).**

Classification	
Règne	Plante
Embranchement	Spermphytes
Sous- Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledone
Sous- Classe	Gamopetale
Ordre	Camponulales
Famille	Cucurbitaceae
sous-famille	*Cucurbitoideae*
Genre	*Cucurbita*
Espèce	*Cucurbita maxima*

2. 3. Utilisation de la plante Citrouille

C.maximase (La Citrouille) récoltent à complète maturité et se consomment cuits. Très légers en calories et concentrés en micronutriments, ils peuvent être préparés de très nombreuses manières comme légume ou comme dessert : en soupe, en purée, en gratin, en tarte, en tourte, en confiture...., voire en glace.

La Citrouille fait partie des aliments pour porcins qu'on dit succulent, en raison de leur plus haute teneur en eau lorsque comparés aux concentrés de céréales. Utilisée fraiche tradionnellement dans l'alimentation animale, la citrouille peut aussi être ensilée. Le tourteau obtenu après extraction de l'huile des graines peut aussi être utilisé mais s'avère moins intéressant. Voici un bref tour d'horizon de l'utilisation de la Citrouille en alimentation porcine. (**Duval, 1995**).

Chapitre II

Métabolisme secondaire

1. Généralité

Le métabolisme secondaire se définit comme l'ensemble des voies de synthèse de la plante non communes a toutes les plantes supérieures, se différenciant en fonction de leurs appartenances taxonomiques. Les composes issu de se métabolisme, contrairement a ceux issus du métabolisme primaire, ne sont pas considères comme des nutriments pour les insectes et les autres organismes vivants en général. Définit le rôle de cette substance comme celui de composes associes a un système de défense des plantes contre les insectes et les autres organismes. il est actuellement admis que le métabolisme secondaire est associe non seulement aux mécanismes de résistance des plante, aux stress biotique, mais également aux stress de l'environnement. **(Nicolas et *al*., 2013).**

2. Fonctions des métabolites secondaires chez les végétaux

Les métabolites secondaires (MS) sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques...ect.

Exemples :

Les pigments isoprénoides et les parfums (isoprénoides volatils) des plantes attirent les insectes pollinisateurs, ils sont essentiels pour la reproduction.

Moyens de défense contre des agressions d'origines biotiques et abiotiques, comme les alcaloides.

Les phytohormones sont des substances organiques produites par les plantes qui régulent la croissance des différents végétaux ou qui peuvent intervenir pour d'autres actions telles que la communication entre plantes

Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (exp. menthe)

Attraction des agents pollinisateurs et disséminateurs.

Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et la croissance) **(Bennadja, 2013).**

3. Classification de métabolite secondaire

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

1- Les alcaloïdes et composés azotes
2- Les composés phénoliques
3- Les composés terpéniques

3.1 . Les alcaloïdes et composés azote

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine - à partir de l'opium en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes **(Mauro, 2006).**

3.1.1. Classification des alcaloïdes :

a. Les alcaloïdes vrais

b. Les pseudo-alcaloïdes

c. Les proto–alcaloïdes

3.2. Les composes phénoliques

Composés phénoliques dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définis comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupement phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol poly hydroxylé. Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétiser par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales **(Buchanan et al, 2000).** Il s'agit des

dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés **(Lobstein, 2010).**

3.2.1. Classification

3.2.1. a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont désignes sous le nom de vitamine P (P étant la premier lettre de mot perméabilité), en raison de leur efficacité a normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins **(Nijveldt et *al.* 2001).**

Les flavonoïdes peuvent être subdivises en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, chalcones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes **(Effendi et Yajun ,2008) .**

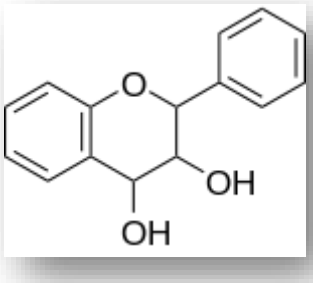


Figure N°05 : Structure de flavonoïde.

1) Classification des flavonoïdes

- Les flavones et flavonols

Les flavones sont une sous-famille des flavonoides dont la structur est bases sur (2-phenyl-1-benzopyran-4-on ou 2-phenylchromen-4-one) **(Cermak et Wolffram,2006).**

- Les flavanes

Ce sont des composés dont l'hétérocycle central C est saturé et qui n'ont pas de fonction cétone. Les flavanes sont répondus dans les écorces des végétaux (**Jakupovic et *al.*, 1988**). **–**

-Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature **(Buchanan et *al*.,G 2000).** Les anthocyanes les plus connus sont la pélargonidine responsable de la couleur rouge ou orangé chez certaines plantes. Deuxième anthocyane connu c'est la cyanidine qui donne une coloration rouge ou rose et enfin la delphinidine responsable de la coloration mauve **(Heller et Forkmann, 1993).**

-Les chalcones

Les flavanones

-Les flavonols

3.2.1. b. Les Tanins

Les tanins sont des molecules fortement hydroxyles et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associès aux protèines et aux enzymes digestives, rèduisant ainsi la digestibilitè des aliments **(Alkurd et *al*,. 2008).**

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique.

- **Tanins Hydrolysables**
- **Tanins Condensées**

3.2.1 .c. Saponines

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal **(Vincken et *al*., 2007)** . Le nom «saponine» est dérivé du mot latin sapo, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire **(Bruneton, 2009**). Il est intéressant de noter que des organismes marins comme le concombre de mer contiennent des saponines, par exemple le frondoside A isolé de Cucumariafrondosa, l'eximisoside A isolé de Psoluseximius, les thyonosides A et B isolés de Thyoneaurea, et le neothyonidioside isolé de Stichopus mollis (**Girard et al., 1990 ; Kalinin et *al*., 1997 ; Bonnard et Rinehart, 2004 ; Moraes et *al*., 2004).**

3.2.1.d. Les coumarines

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo-α-pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures **(Bourgaud et *al*., 2006)**.

- **Les coumarines simples** (benzo-α-pyrones)

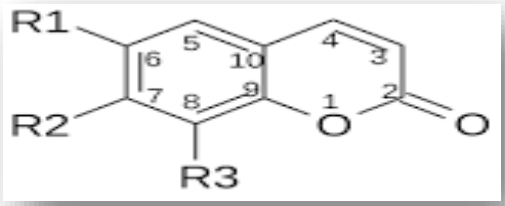


Figure N°06 : Structure de coumarine.

1-Les furocoumarines : (furobenzo-α-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple **(Bourgaud et *al*., 2006)**.

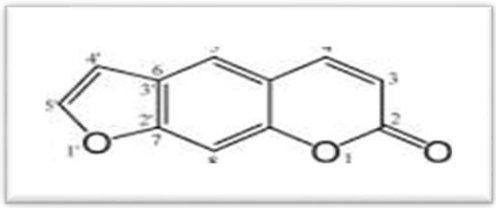


Figure N°07 : Structure de furoumarine .

2-Les pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires **(Bourgaud et *al*., 2006).**

3-Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple et sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement

aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse **(Bourgaud et *al*., 2006).**

3.2.1.e. Les Lignanes

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol constituent les principales lignanes d'origine végétale **(Axelson et *al*., 1982) .**

La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre. Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais surement elle est très complexe **(Buchanan et *al*., 2000).**

3.2.1.f. Les Stilbenes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène. Il existe deux formes isomériques : (E)-1,2-diphényléthylène ((E)-stilbène) et (Z)-1,2-diphényléthylène ((Z)-stilbène) . La forme cis (Z) est obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme trans (E) étant la forme la plus stable et bioactive **(Mérillon et *al*., 1997**), elle est en général plus abondante dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes **(Hart, 1981).**

3.3. Les composés terpéniques :

Tous les terpénoïdes proviennent des précurseurs simples à 5 atomes de carbone, l'isopentényldiphosphate (IPP) et son isomère le dimethylallyldiphosphate (DMAPP) assemblés et modifiés de milliers de façons **(Dewick, 1999).** La remarquable diversité de la chimiothèque "terpenome" contredit ainsi ses racines simples avec des précurseurs universels à 5 carbones, l'IPP et le DMAPP **(Christianson, 2007).**

Les terpénoïdes sont la plus large famille de produits naturels, et sont présents et souvent abondants dans tous les phylums du vivant. un nombre relativement faible mais quantitativement important des terpénoïdes sont impliqués dans le métabolisme primaire. Cependant, la grande majorité des terpénoïdes sont classés comme des métabolites secondaires,

composés non-requis pour la croissance et le développement cellulaire, mais présumés avoir une fonction écologique **(Harborne, 1991).**

Chapitre III

Activité biologique

L'étude des activités biologique des substances bioactives des plantes médicinales se trouve a la base des médecines dites alternative, de nombreux procèdes utilises dans la conservation des produits alimentaire crus ou crits, de substances actives exploitées dans les produite pharmaceutiques. Laprésente étude, s'intéresse particulièrementà l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits de citrouille (**Hammoudi, 2015**).

1. L'activité antioxydant

1.1 Les antioxydants

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Dans l'organisme, la respiration cellulaire génère des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les radicaux libres en excès sont responsables de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies. À l'inverse, les antioxydants luttent contre lestress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire. Ils auraient donc un effet anti-âge

Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β-carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les poly phénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques **(Hercberg el *al*., 2004).**

Les antioxydants sont des composes qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif **(Kim et Lee., 2004).**

a) Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (lasuperoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS **(Garait, 2006).**

b) Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytrochrome c et les vitamines E et C **(Garait, 2006).**

1.2. Le stress oxydant

Ce type de stress est généré par l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau cellulaire. Les ERO primaires se subdivisent en deux groupes : le groupe des dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électrons célibataires) mais très toxiques comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, l'anion peroxyde O^2 2-, le peroxynitrite $ONOO^-$ et les radicaux libres oxygénés qui eux possèdent un électron célibataire sur leurs couches externes. C'est l'exemple de l'anion superoxyde (O^{2-}) , le radical hydroxyle (OH^-) et l'oxyde nitrique (NO) **(Beckman and Ames, 1998).**

.1.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif**.**

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène.

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 **(Vansant, 2004)**.

1.1.3. a Les principaux radicaux libres

- **radical superoxyde** : est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène. Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome c (Fe^{3+}), l'ascorbate et surtout le superoxydedismutase.
- **radical hydroxyle :** et à l'anion basique non radicalaire OHen présence d'un catalyseur (réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^- + Fe^3 + OH^-$). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique.
- **radical perhydroxy :** est obtenu après protonation de ce dernier à pH inférieur à 4,8 (pKa (HO^2 / O^{2-}) = 4,8). **(Hennebelle, 2006).**

1.1.3.b La production de radicaux libres

A-La production intracellulaire : La production des EOR dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles mais est essentiellement d'origine enzymatique.

B-La production extracellulaire.

2. L'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)**

2.1. Description des souches bactériennes étudiées

1) *Bacillus*

Est une bacterie aérobie à Gram positif, sporogéne, se présentant sous forme de bâtonnets généralement mobiles. Ce germe parfois responsable de toxi-infections alimentaires ou d'infections opportunistes chez l'homme, peut être aisément manipule de manière sure en laboratoire l'intérêt de son utilisation dans nos tests de routine réside dans le fait qu'une espèce voisine (**Julien, 2002**).

Figure N°08 : Bactérie *Bacillus.*

2) Pseudomonas aeruginosa

C'est un germe appartenant au groupe des *Bacilles* a gram negatif, il poussz facilement sur les milieux usuels, cette espece se caracterise par la pigmentation bleu-vert de ces colonies.

Ces microorganismes vivent dans le tube digestif de l'homme, ils sont mobiles et possedent une ciliature polaire. Ce germe est considere comme germe-type des infections hospitalieres ou nosocomiales. Les pseudomonas vivent a l'etat saprophytique dans l'eau, les

sol humide et sur les vegeaux et sont utilisees dans les applicatuon des recherches biologique **(Berreghioua, 2016).**

Figure N° 9 : *Bacterie* ***Pseudomonas aeruginosa***

2) L'Escherichia coli

C'est une bactérie de gram négative Son réservoir naturel est l'homme et tous les animaux à sang chaud.

Escherichia coli, fait partie de la flore commensale. Il représente 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte, et on le retrouve aussi au niveau de différentes muqueuses. De simple bactérie commensale, *Escherichia coli* peut aussi devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites. Il peut aussi être impliqué dans des infections nosocomiales.

La transmission peut se faire par contact direct ou via des contaminations fécales (**flandrois, 2000**).

Figure N° 10 : Bactérie *Escherichia coli.*

2) ***Staphylococcus aureus***

C'est une espèce de la famille de *micrococcaceae* constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposees en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec. Ces bactéries survivent et prolifeent 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 N°11 : Bactérie *Staphlococcus aureus* .

Partie 02

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Pour l'évaluation de l'activité biologique In vitro de l'espèce étudie.

L'extraction a été faite dans laboratoire de biotechnologie végétal, département de science de la nateur et de la vie, faculté des sciences université de Mohamed Boudiaf â M'sila.

L'objectif

Cette étude expérimentale de divise en parties

- Le 1er partie : l'extraction mèthanolique et aqueuse (solide-liquide et liquide-liquide).
- Le 2ème partie : CCM.
- Le 3 ème partie : l'activité antioxydant des différents extrait (méthanolique _ aqueuse) en utilise le technique du piégeage du radical libre DPPH.
- La 4 ème partie : évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de disque.

1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les parties aériennes (fruit) du Citrouille ces parties du cette plante été cueillies en 2022 de la wilaya m'sila, que les fruite ont été récoltées en mois de mars 2022.

2. Extraction

2.1 .Le principe de macération

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïde).

2.2. L'extraction des principes actifs

$$R(\%)=M/M0 \times 100$$

R(%) : Rendement exprime en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M0 : masse en gramme de matériel végétal à traiter.

2.2.1. Extraction de l'extrait mèthanolique par extraction type solide -liquide (ESL)

Préparation de l'extrait brut par extraction type solide-liquide

lavons bien de fruit de la citrouille, puis la coupons en fines tranches, la séchons dans un endroit à labri de la lumière et du soleil, puis la broyons.

Une quantité de 50 g de poudre de fruite de la plante de citrouille macéré dans un solution contient de 20 ml de méthanol et 80 ml d'eau distillé (doble de la couantité), après 24 heure mélange est laisser reposer un 24 heures, l'extrait est ensuite filtré par papier filtre puis est répétée trois fois.

Après filtrage évaporé le liquide sous pression réduit à sec (t=45c°) par un évaporateur rotatif (rotavap) (BÜCHI–R- 120). et conservé à+4c°, à fine de cette méthode on obtenait donc l'extrait hydrométhanolique brut des fruite citrouille.

2.2.2. Préparation de l'extrait aqueuse par extraction type solide -liquide (ESL)

Une quantité de 50 g de poudre de fruite de la plante de citrouille macéré dans une solution contient de 100 ml d'eau distillé (ajouté la contuté 300 ml), après 24 heure mélange est laisser reposer une 24 heure, l'extrait et ensuite filtré par papier filtre puis et répètes cette opération 3 fois.

Après filtrage on met la solution en boit pitre et on laisse sécher à l'air, à fine de cette méthode on obtenait donc l'extrait aqueuse brut des fruite Citrouille.

2.2.3. Préparation de l'extrait hydromethanolique par extraction type liquide-liquide (ELL)

L'extraction liquide-liquide est basée sur la distribution d'un soluté entre deux solvants en fonction de sa solubilité dans chacun d'entre eux.

On pose l'extrait brut de la plante dans un bécher et on ajoute 80 ml de l'eau distillé chaude, en mélanges bien et mettre dans le frigo 24 h.

Et après en mélanges l'extrait avec (80 ml) d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter, après la décantation (2 h), il ya deux phases la phase supérieur c'est la phase d'acétate d'éthyle (phase organique) et la phase inferieur (la phase aqueuse). nous répétons les mêmes étapes une deuxième foisavec (40 ml) d'acétate d'éthyle, nous passons en rotavapor.

- Cette extraction a permet d'obtenir un extrait d'acétate d'éthyle.

Figure N°12 : Extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

2.3. Extraction des coumarines

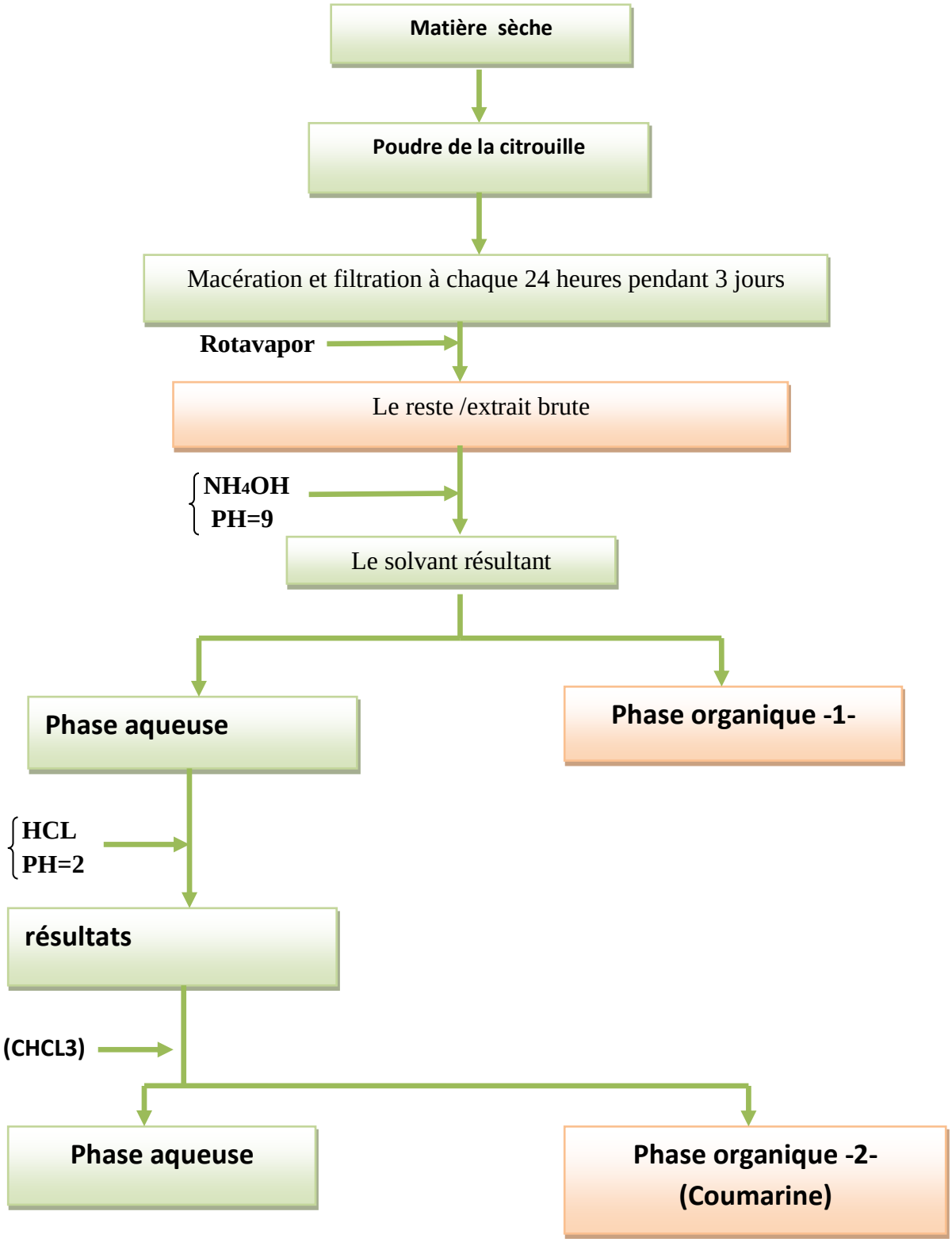


Figure N°13 : L'extraction de la coumarine de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

(Ciuel.N. 1983).

Poser l'extrait brute de la plante dans un bécher, on ajoute quelques gouttes de (NH_4OH) jusqu'à l'obtention de PH basique (PH=9). Aprèsla régulation de PH en mélanges l'extrait avec (80 ml) de chloroforme dans une ampoule à décanter on attendre pendant (2h) jusqu'à se sépare a deux phases, phase aqueuse et phase organique (1).

On ajoute l' Hcl diluer (2%) a la phase aqueuse pour obtention de PH acide (PH=2), on pose l'extrait dans une ampoule à décanter et ajouter (40 ml) de chloroforme .on attendre pendant (2h) jusqu'à se sépare a deux phases, phase aqueuse et phase organique (2) (coumarine).

Figure N°14 : Extraction liquide-liquide de coumarine

3. Analyses qualitatives de déférence extrait de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

La chromatographie est une méthode biochimique très utilise en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange. Le principe de cette méthode est base sur la répartition sélective des constituants àséparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composes phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus.

3.1. Préparation des plaques de CCM

Ce sont des plaques en gel de silice de 0.25 mm d'épaisseur, déposées sur feuille d'aluminium. Pour utiliser ces plaques on coupe selon les dimensions : 4 cm de large et 10cm de long.

3.2. Les différents systèmes utilisent pour la CCM

Tableau N°02 : Les différents systèmes utilisent pour la CCM.

Système solvants	N°	Proportion
Acétate d'éthyle / chloroforme	1	(8 / 2 v /v)
Heptane / Acétate d'éthyle	2	(2 / 6 v /v)
Heptane / Acétate d'éthyle	3	(2 / 8 v /v)
n-butanol/Aétate d'ethyle/l'eau	4	(5/1/ 0,5 v /v)

4. Activités biologique

4.1 Evaluation de l'activité anti bactérien de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

On a prépare 4 concentration déférent 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml et 2ml/mg.

Figure N°15 : les tubes des concentration.

Dans un second temps en fait dessouder de la JELOSE dans un bain marie.

Après la préparation des 4 tubes sen se déplace sous la Haut en prenant une bavette deux bec-ben zain sons oublié, les gants pour travailler dans un milieux stérile.

Figure N°16 : la préparation des les tubes dans la Haut

Toujours dans notre milieux stérile (sous la Haut) en repartie notre JELOSE dans (4) boite de pétrie et les laisser sécher durant 30min.

Puis en a pris (4) type de bactérie :

1-*Staphlococcus aureus.*

2-Pseudomonas aeurginosa.

3-Escherichia coli.

4-Bacillus cereus.

Nous écouvillonnons verticalement et horizontalement dons les deux diagonale sons oublies les bords ; avec de la bactérie ; puis mettre les (4) boites dans un frigo pendant 2h

Après les 2h fait stérilisée une pipette pasteur pour créé 4 trous par boites

En utilisant une micro pipette (100) pour prélever nos concentration (16mg/ml), (8mg/ml), (4mg /ml) et (2mg/ml) et les mètre dans les boites a traves les (4) trous précédemment créé.

Puis les boites seront mises dans des étuves bactériologiques dans des conditions de (37°) et pas moins de 48 h ce sont les conditions nécessaires pour le développement de milieux de culture.

Les souches testées

Les souches testées proviennent de laboratoire de microbiologie de l'université de M'sila elles représentent dans le tableau suivant :

Tableau N°03 : les souches teste

Nom de bactérie	Code	Gram
Staphylococcus aureus	ATCC 25933	+
E-coli	ATCC 25922	-
Psendomonasaeurginosa	ATCC 27853	-
Bacillus cereus	ATCC 10876	+

4.2. Evaluation de l'activité antioxydants de Cucurbita maxima (Citrouille).

L'activité antioxydants des différents composes extrait a été évaluée in vitro, par le test au DPPH.

Teste de radical libre DPPH (2,2-diphenol 1-1 –picrylhydrazyl)

Le test DPPH mesure l'activité antioxydant des composés capables de transférer des atomes d'hydrogène. Le composé ($DPPH^+$) est un cation radical coloré et stable de couleur pourpre qui montre un maximum d'absorbance à 517 nm. Les composés antioxydants, qui sont capables de transférer un électron à $DMPD^+$, provoquent une décoloration de la solution. Cette réaction est rapide et proportionnelle à la capacité antioxydant de l'échantillon.

Dans une tube on met 20 mg de l'extrait méthanolique on ajoute 5 ml méthanol.

Dans un autre tube on met 20 mg de l'extrait aqueus on ajoute 5 ml méthanol.

On mixer bien les tube jusqu'à obtenir un mélange homogène puis, on obtient 2 autres tubes, et on met dans les premiers tubes 2 ml du tube 1 et on met dans le deuxième tube de 2ml du tube 2

Tube 1 ⟹ 2ml ⟹ extraits méthanolique.

Tube 2 ⟹ 2ml ⟹ extrait aqueuse.

- **Préparation de DPPH**

Nous prenons 100 ml méthanols, en ajoutons 4mg de DPPH en agitant puis l'utiliser après une demi-heure de passage.

- **Préparation des concentrations**

NB : nous la préparation labri de la lumière et emballons chaque tube dans du papier d'aluminium. La préparation dans activité antioxydant par pipât pasteure.

1- Extrait aqueuse

Nous prépares 4 tubes de déférent concentration 10, 25,50 et 100 ml.

2-Extrait méthanolique

On fait le même principe de l'extrait aqueuse.

Control négative :

Nous prépare méthanol et DPPH ensuite on le mesure par spectre mettre et mesurons le reste.

Expression des résultats

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante **(Burits et Bucar, 2000).**

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{test}}) \times 100 / \text{Abs}_{\text{Contrôle}}$$

Avec :

Abs control : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 517 nm.

Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517 nm.

Calcule des concentrations inhibitrices à 50% IC_{50}

IC_{50} (concentration inhibitrice de 50%), aussi appelée IC_{50} (concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC_{50} sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différente concentration des extraits testées **(Torres et *al*, 2006).**

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Evaluation des techniques d'extraction

1.1. Extraction des polyphénolsla *Cucurbita maxima* (Citrouille).

1.1.1. Rondement des extraits

La méthode d'extraction par macération des différents parties de Citrouille a réalisée par les solvants suivant : méthanol, acétate d'éthyle, aqueuse.

Cette méthode a permis d'obtenir des extraits de chaque partie :

- L'extrait brut (EBr).
- L'extrait d'acétate d'éthyle (EAcOEt).
- L'extrait aqueuse.

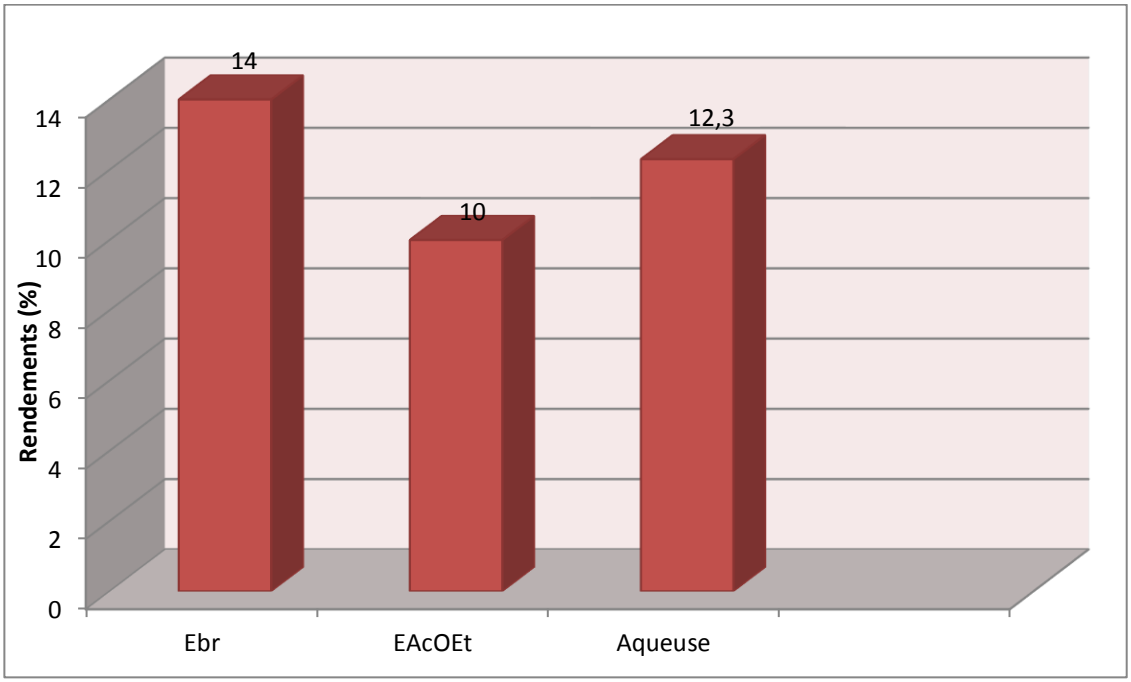


Figure N°17 : Rendement des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

Le rendement a été détermine par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage.

Les résultats obtenus montrent que les rendements des extraits sont variables dans la plante Citrouille. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut

(14%), le rendement de l'extrait aqueuse est (12.3%) et le rendement de l'extraite d'acétate d'éthyle (10%).

Le rendement de l'extrait aqueuse faible par rapport l'extrait méthanolique, le plus grand rendement détermine raisonnablement celui de l'extrait brut (l'extrait méthanolique).

Le rendement de nous résulta de l'extrait d'acétate d'éthyle (10%) et l'extrait brute méthanolique (14%) est inferieure de les résulta obtenu par (**Adjila, et Azzoug., 2021**).et ce rendement de l'extrait aqueuse (32%) est inferieure a nous résulta (12%) a couse de défirent espace.

1.2. Extraction des coumarines de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

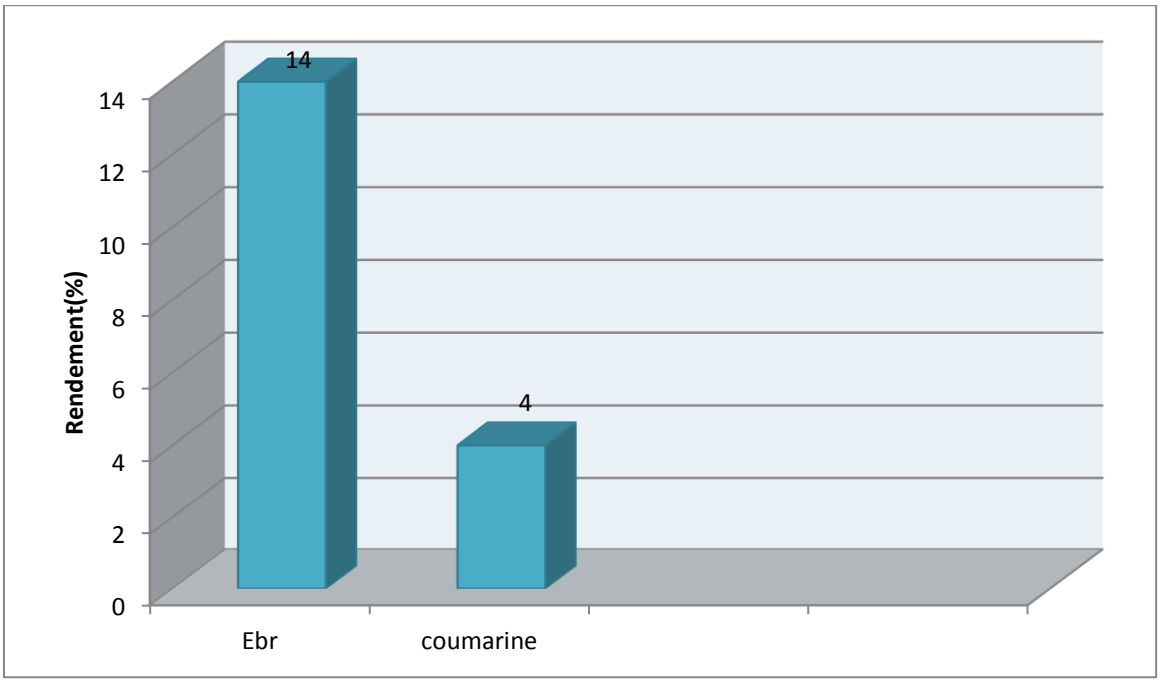


Figure N°18 : Rendement des coumarines de ***Cucurbita maxima*** **(Citrouille)**.

Dans les résultats obtenus le plus grand rendement de l'extrait brute (14%), les résultats faible obtenus par extrait de coumarine (4%)

On observe nous résulta de rendement d'extraction de coumarine est faible (4%) par rapporte le résulta trouve par (**Soufane, 2018)** (8,35%).

2. Analyse quantitative des extraits de la plante *Cucurbita maxima* (Citrouille)

2.1.Chromatographique sur couche mince CCM

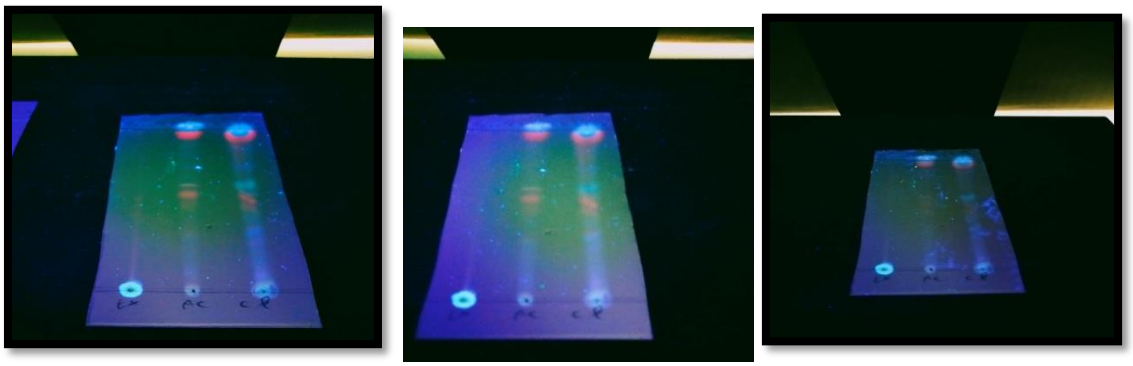


Figure N°19 : Révélation de plaque CCM de système n°2(b) sous lampe UV365 nm

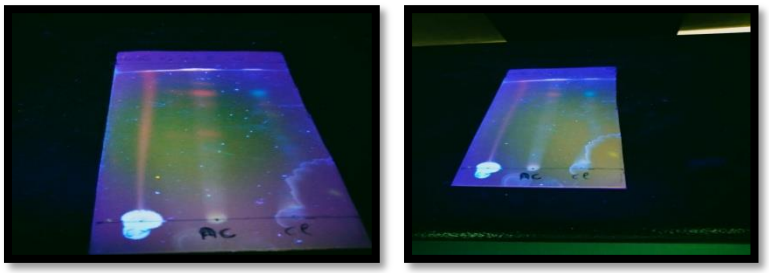


Figure N°20 : Révélation de plaque CCM de système n° 2 sous lampe UV365 nm

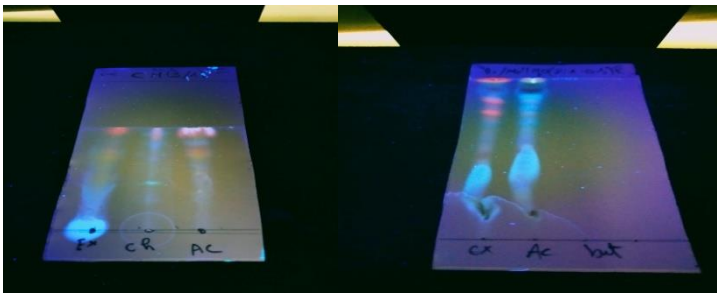


Figure N°21 : Révélation de plaque CCM de système n° 3 sous lampe UV365 nm

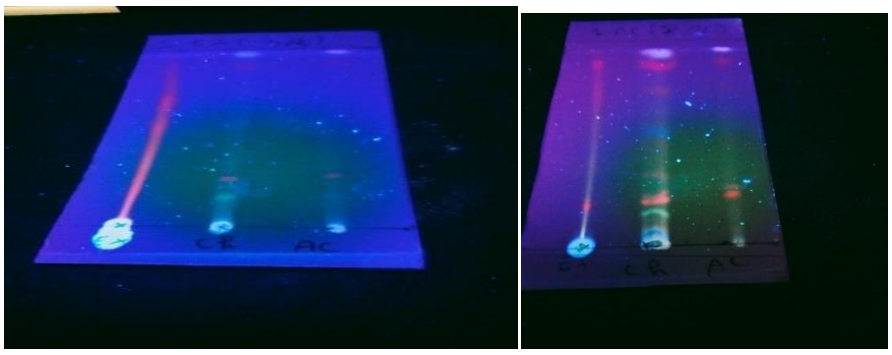


Figure N°22 : Révélation de plaque CCM de système n° 1 sous lampe UV365 nm

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant 4 systèmes solvants. Sous lumière UV à 365 nm Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs Rf observés sous UV suite à une analyse par CCM, dans le résultat obtenu de la différente partie de la plant (fruit) de citrouille. On observe plusieurs taches avec plusieurs taches avec différent coloration.

Tableau N° :04 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de ***Cucurbita maxima*** **(Citrouille)**.

N° des systèmes de solvants	**Extrait d'acétate d'éthyle**		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1	Bleu	0,01
	2	Rouge	0,31
	3	Rosse	0,35
	4	Rosse	0,89
	5	Mauve	0,96
2	1	Rosse	0,50
	2	Rosse	0,68
	3	Rouge	0,77
	4	Rosse	0,85
3	1	Rosse	0,47
	2	Rosse	0,53
	3	Rouge	0,9
	4	Bleu	0,97
4	1	Mauve	0,62
	2	Jeune	0,68
	3	Mauve	0,81
	4	Rosse	0,91

Dans le système de solvants n°01 : Acétate d'éthyle /chloroforme (8/2)

Le nombre des spots est (5 spots) dans fruits de citrouille, avec variabilité des Rf et différents couleur.

Dans le système de solvants n°02 : heptane /acétate d'éthyle (2/6), Le nombre des spots dans la fraction d'acétate d'éthyle est (4 spots) de fruits citrouille aves variabilité des Rf de différent couleurs.

Dans le système de solvants n°03 : heptane/acétate d'éthyle (2/8), le nombre des spots est (4 spots) de fruits citrouille avec variabilité des Rf des différents couleurs.

Dans le système de solvants n°04 : n-butanol / acétate d'éthyle /l'eau distillé (5/1 /0,5)

Le nombre des spots est (4 spots), avec variabilité des Rf des différents couleurs.

Dans le système Dichloromèthane / méthanol (97 :3) des travaux par (**Arima, O., 2005**). Présentent 3spote pour la fraction de AcOEt sont different que notre travail 5 spote dans les systèmes n°1.

Tableau N° :05 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 4 systèmes par CCM dans les coumarines de plante Citrouille.

N° des systèmes de solvants	Extrait des coumarines		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1	Bleu	0.02
	2	Vert	0.14
	3	Rouge	0.21
	4	Rosse	0.23
	5	Bleu	0.59
	6	Rosse	0.71
	7	Rouge	0.85
	8	mauve	0.93
2	1	Bleu	0.78
3	1	Bleu	0.26
	2	Rosse	0.43
	3	Vert	0.47
	4	Bleu	0.52
	5	Rouge	0.87
	6	Bleu	0.95
4	1	Vert	0.39
	2	Rosse	0.87
	3	mauve	0.91

Dans le systèmes N°01 : acétate d'éthyle/chloroforme (8/2), le fruit sont riche en composée phénolique (8 spots), avec variabilités de Rf et différents couleurs.

Dans le système de solvants N°02 : heptane/acétate d'éthyle (2/6), le nombre des spots (1 spots), avec variabilité de Rf et de différents couleurs.

Dans le système de solvant N°03 : heptane/acétate d'éthyle (2/8), le nombre des spots (6 spots), avec variabilité de Rf et de différents couleurs.

Dans le système de solvant N°04 : n-butanol/acétate d'éthyle/ l'eau distillé (5/1/0,5) le nombre des spots dans la faction de coumarines de citrouille est (3 spots) avec variabilité de Rf et différents couleurs.

Dans le système chloroforme/acétate d'éthyle/n-hexane; (10/10/4) des travaux par (**Soufane; 2018)** trouve des spote fluorescence cette résulta faible par rapporte nous résulta 8spot dans le système n°1.

Tableau N° :06 Les Rfs et les couleurs des spots obtenus dans les 2 systèmes par CCM dans l'extrait brute de plante Citrouille.

N° des systèmes de solvants	Extrait brute		
	N° des spots	Couleur des spots	RF cm
1	1 2 3	Rouge Rosse mauve	0.17 0.73 0.89
4	1 2 3 4 5	Bleu Jaune Vert Bleu Rouge	0.31 0.41 0.62 0.70 0.93

Dans le système de solvant N°01 : acétate d'éthyle/chloroforme (8/2) le nombre des spots (3 spots) avec variabilité des Rf et de différents couleur.

Dans le système n-butanol/acétate d'éthyle/l'eau distillé (5/1/0,5) le nombre des spots dans la fraction de l'extrait brute de fruits citrouille (5 spots), avec variabilité de Rf, et de différents couleur.

Dans le système Dichloromèthane 100% des travaux par (**Arima, O., 2005)** Présentent 5 spots pour la fraction de L'extrait brute sont le même résulta que notre travail 5 spots dans le systèmes n°4.

3. Résultats d'activité biologiques de *Cucurbita maxima* (Citrouille)

3.1. : Activité antibactérienne

Tableau N°07 : Diamètre de zone d'inhibition de différents concentration de plante la Citrouille sur la croissance de 4 Souche bactérienne.

	Concentration d'extrait mèthanolique			
Souche bactérienne	**16mg/ml**	**8mg/ml**	**4mg/ml**	**2mg/ml**
	Diamètre Zoned'inhibition en mm			
Staphylococus aureus	0	4	0	0
Sensibilité	_	+	_	_
Pseudumonas aeruginosa	0	15	0	2
Sensibilité	_	+	_	+
Bacillus cereus	0	0	0	0
Sensibilité	_	_	_	_
Escherichia coli	0	0	0	0
Sensibilité	_	_	_	_

Les résultats d'activité antimicrobienne des différentes concentrations sont présentées dans le tableau au-dessous dans 8mg/ml sont sensible contre *staphilocoaus aureus* avec diamètre (4mm) par rapport concentration16mg/ml ,4mg/ml et 2mg/ml est non sensible.

Le résultat de notre travail de fruit de *Cucurbita moschata* (12mm) que les résulta trouve par (**Bouamar, 2019**).et faible que le résultat de notre travail (4mm).

Les résultats obtenus dans le tableau au-dessous montrent que 8mg/ml et 2mg/ml sont sensible contre *Pseudumonas aeruginosa* avec diamètre (15 ; 2 mm)

Les résultats de l'autre deux souches *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*, il n'yapasd'réactionavce les extraits (non sensibles).

D'apres les resultats de **Bouferioua et *al* ,. (2020)** la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de (128,8mm) est *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de (90mm) et les souches rèsistantes sont *E .coli* et *Staphylococcus aureus* .cette déferons a cause de les concentration.

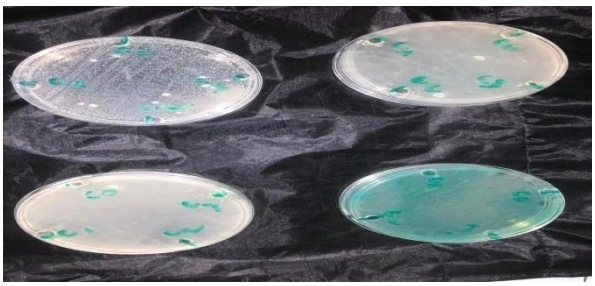


Figure N°23 :L'effet de l'extrait brut sur les souches bactériennes testées en présence différent concentration d'extraits.

3.2. Activité antioxydant

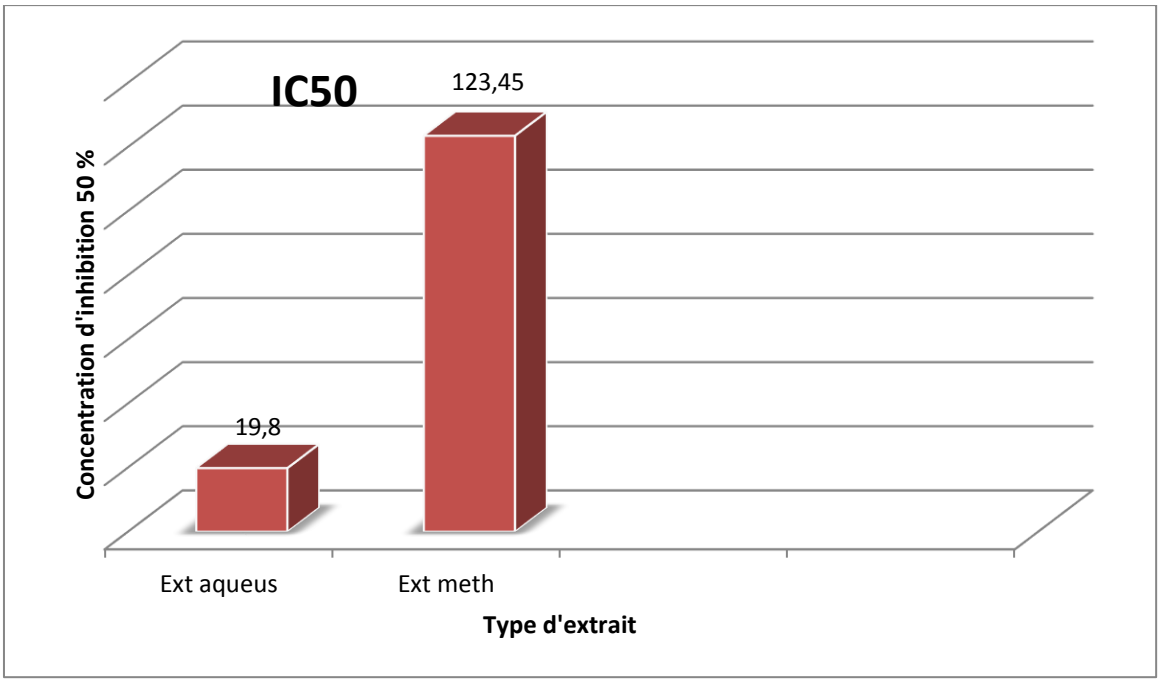


Figure N°24 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC_{50} des différents extraits de *Cucurbita maxima* (Citrouille).

Les résultats obtenus de IC_{50} de notre extraits montre que l'extrait extraits aqueux de la Citrouille .présent une meilleure activité antioxydant d'IC_{50} = 19 ,8 µg /ml, respectivement par contre l'extraite méthanoïque possèdent une faible activité antioxydant IC_{50}

D'après **Silu et *al*., (2015)** L' IC_{50} =20 ,98 µg /ml d'extraite méthanoïque possède une activité antioxydant plus importante que le résultat de notre travail (IC_{50}=123 , 45) =123,45µg /mL .

D'après les résultats de **Benariba et *al*., (2015**) IC_{50}=61 µg /ml d'extraite aqueux possède une activité antioxydant plus faible que le résultat de notre travail (IC_{50}=19,80) .

Conclusion

Conclusion

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, voire animale.

Cucurbita maxima (Citrouille). est une plante annuelle appartenant au genre *Cucurbita maxima* et à la famille des cucurbitacées, couleur orange moyen. ressemble un peu au orange carotte mais tirant légèrement sur le jaune, dont les tige rampent à terre, une citrouille appartient à la plant médicinale.

Est très peu énergétique. Il est extrêmement riche en vitamines et plus particulièrement en A, B et C.

Il renferme également un bon taux de Sels mineraux et olIgo-elemens, et principalement du calcium, du fer, du magnésium, du phosphore et du potassium.

A noter qu'il est plus riche en vitamines et en sels minéraux que le potiron, et que sa teneur en carotène est deux fois plus élevée que celle des carottes.

Dans laboratoire biologique nous avons déterminé le rendement de l'extrait brut méthanolique et aqueuse, CCM, l'activité antioxydant et l'activité antibactériennes des les espèces de la Citrouille.

La détermination de rendement en extrait le bon résultat est remarques chez l'extrait méthanolique brut avec un pourcentage (14%) Ensuite le rondement aqueuse avec un pourcentage 12,3% et ensuite le rondement d'acétate d'éthyle avec pourcentage 10% et pour l'extrait de coumarine ce son l'extrait le plus faible avec un pourcentage 4%.

L'analyse de chromatographie CCM indique la présence avec différentes nombres des spots et des couleurs avec des 4 systèmes solvant. Le système N°1 est le système qui donné une meilleure séparation des molécules avec 5 spots.

Les résultats possèdent dans l'activité antioxydant de deux extrait le bien intéressant de l'extrait aqueuse IC_{50} = 19,80 para pore l'extrait méthanolique IC_{50} = 123,45 .

Dans l'activité antibactérienne enfié 4 souches bactérienne : *Staphylococcus aureus* ,*Bacillus* , *E-coli* et *Pseudomanas aeruginosa*, le bons résultat c'est la bacterie *Pseudomanas aeruginosa* et *staphylococcus* dans l'extrait brut avec diamètre 15 mm et 4mm.

Références

Références

1. **Adjila,Z., Azzoug, A (2021).**Etude de l'acitate antioxydon des extrait de bryonia dioica.
2. **Alkurd A., Hamed, T. R. & Al-sayyed, H**. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 4: pp 265-274.
3. **Arima, O**.**2005** Etude *phytocchimique* et de l'activite anti paludique in vivo et in vitro de nomordica balsamine Linn (*Cucurbitaceae*).
4. **Axelson, M., Sjovall, J., Gustafsson, B. E. & Setchell, K.D.R**. (1982) Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. Nature (Lond.) 298: 659-660.
5. **Basile, A. ; Giordano, S. ; López-Sáez, J. A. et Cobianchi, R. C. (1999).** Antibacterial activity of pure flavonoids isolatedfrommosses. *Phytochemistry*, 52:1479-1482
6. **Becckman K.B., Ames B.N**. The free radical theory of aging matures. Physiol. Rev., 1998, 78, 547-581.
7. **Bedjadj N., Houari., M (2019**). Etude phtochimique des extrait des capsule des gossypium Arboreum et leur activité biologique.
8. **Bennadja S.(2013) .** *Métabolites secondaires* Université Badji Mokhtar, Annaba. p1
9. **Berreghioua,(2016).**Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : Moricandiaarvensis et Zillamacroptera.These de doctorat en Chimie Organique, Université de Tlemcen, p208.
10. **Berreghious, A. (2016**). Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae medicinales du sud algerien : moricandia arvensis et Zilla macroptera. These de doctorat en chimie organique,Universite de Tlemcen, p37-38.
11. -**Blamey M., Grey-Wilson C**. (**2003).** La flore d'Europe occidentale. Plus de 2400 plantes décrites et illustrées en couleurs. *Flammarion* Paris.
12. **Bonnard, I., Rinehart, K. L. (2004).**Thyonosides A and B, two new saponinsisolated from the holothurians Thyoneaurea. Tetrahedron, 60:2987–92.
13. **Botineau M**. (**2010)** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Tec & Doc Lavoisier* Paris,
14. **Bouamar, (2019) .**Activitesbiologques des carotenoides et des polyphenols de la courg (cucurbitaMoschataD).
15. **Bourgaud F, Hehn A, Larbat R, Doeper S, Gontier E, Kellner S, Matern U**.(2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be

unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5: 293-308.

16. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie – Phytochimie, Plantes médicinales, Tec & Doc, Médicales internationales (Eds.), 4e édition.

17. **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones J. (2000).** American Society of Plant Physiologists Natural Products (Secondary Metabolits): *Biochemistry & Molecular Biology* of plants.

18. **Bumlik, M.(1995)**. Botanique, systématique des spermaphytes. Office des publication universitaire. Alges. P :58-60.

19. **Burits, M., Bucar, F.(2000)**. Antioxydant activity of Nigellasativa essential ou.phytother.Res : 14, 323-328.

20. **Cermak ., Wolffram S.(2006)<<**The potential of flavonoids to influence drug metabolism and pharmaco kinetics by local gastrointestinal mechanisms>>, dans curr Prug Metab., vol.7.n(°7).P.729-44

21. **Chabrier, J.Y., (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.

22. **Christianson, D. W. (2007).**Roots of biosyntheticdiversity. *Science* 316, 60-61.

23. **Ciuel. N. (1983)**. Methodelogy for analysis of vegetale drugs, Romania. P :1-26.

24. Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène, Université Médicale Virtuelle Francophone **(2014).**

25. **Dewick, P. M. (1999).** The biosynthesis of C5–C25 terpenoidcompounds. *Nat. Prod. Rep*. 16, 97-130.

26. **Dupont F., Guignard J.-L. (2015)**. Botanique, Les familles de plantes - 16e éd. *Elsevier Masson*
Issy-Les-Moulineaux,

27. **Garait, (2006).** Le stess oxydant induit par voie métabolique (Régime alimentaire) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin p23.

28. **Gazengel, J.M., Orecchioni. A.M.(2013).** Le préparateur pharmacie. ISBN 978-2-7430-1371-4 ,2émé Ed. Lavoisier,paris ,p1255 .

29. **Girard, M., Belanger, J., Apsimon, J. W., Garneau, F.,-X., Harvey, C., Brisson, J.-R. (1990).**Frondoside A. A noveltriterpene glycoside from the holothurian Cucumariafrondosa. Canadian Journal of Chemistry, 68:11–18.

30. **Hammoudi, R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits dequelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de Doctorat en biologie Université Kasdi Merbah-Ouargla, p 57.

31. **Harborne, J. B. (1991).** *Recentadvances in the ecologicalchemistry of plant terpenoids*. In *EcologicalChemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids*, Harborne, J.B. and Tomas-Barberan, F.A. eds (Oxford.: ClarendonPress,), pp 396-426.

32. **Hart J.H. (1981).** Role of phytostilbenes in decay and diseaseresistance .AnnualReview of Phytopathology, 19: 437-458.

33.**Heller, W., Forkmann, G., (1993).**Biosynthesis of Flavonoids. In The Flavonoids: Advances in researchsince

34. **Hennebelle, T. (2006).** "Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants." Chimie Organiqueet Macromoléculaire Docotrat: 303.

35. **Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A &Briancon S (2004)** The SU.VI.MAX Study: arandomized, placebo-controlled trial of the healtheffects of antioxidantvitamins and mineraIs. Archlntern Med 164, 2335-2342.

36. **Heywood HV**(**1996).** Les plantes à fleurs - 306 familles de la flore mondiale. Nathan Paris

37. **Julien, F. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : Gnidia involucrata Steud. Ex A. Riche. Thèse de doctorat, Université de Lausanne, p178-180.

38. **kallnin, v. i., Avilov, S. A., kalinina, e. Y., korolkova, O. G., kalinovsky, A. I., StonIk, V. A., Riguera, R., Jimenez, C. (1997).**Structure of Eximisoside A, anoveltriterpene glycoside from the far-Eas ternseacucumber Psoluseximius.Journal of Natural Products, 60:817–19

39. **Lobstein, A., (2010).** *Substances naturelles et pharmacognosie*, les alcaloïdes, pp 3-25.

40. **Martin PA., Blackburn M., Schroder RF., Matsuo K., Li BW. (2002).** Stabilization of cucurbitacin E-glycoside, a feeding stimulant for diabroticite beetles, extracted from bitter Hawkesbury watermelon. *J Insect Sci*. 2:19

41. Mauro,(2006) Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine p 13

42. **Mérillon J.M., Fauconneau B., WaffoTeguo P., Barrier L., Vercauteren J. et Huguet F. (1997).** Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted fromVitisvini fera Cell Cultures .Clinical Chemistry, 43(6): 1092-1093

43. **Moraes, G., Norhcote, P. C., Kalinin, V. I., Avilov S. A., Silchenko, A. S., Dmitrenok, P. S., StoNik, V. A., Levin, V. S. (2004).**Structure of the major triterpene glycoside from the sea cucumber Stichopusmollis and evidence to reclassifythi sspeciesinto the new genus Australostichopus.Biochemical Systematics and Ecology, 32:637–650

44. **Nicolas, S., Paul, Andre, C., Denis, T., Frederic, M. (2013).**Interactions-plantes, Ed.Quae, France, p218.

45. **Nijveldt R.J., Van Nood E., Van Hoorn D.E.C., Boelens P.G., Van Norren K., Van Leeuwen P.A.M**. (2001). Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr*., 74,418-425.

46. **Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., Douadi, K.(2016).** Ethnobotanical investigation pn plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria).

47. **Quezel, P., Santa, S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiquesméridionales. Tome 2.P :920

48. **SHENG-JI P.(2001).**Ethnobotanical Approches of Traditional Medicine Studies: Some Experiences fromAsia. Pharmaceutical Biology, 39: 74-79

49. **SiluBaasumatary ,Ajitkumarpas , RaamanNanjan , Gauriduttsharma, (2015).**In vitro Evaluation of antioxydant properties of hodgsoniaheteroclita (*cucurbitaceae*) fruit.

50.**Soufane,S,.(2018**). Etude de la toxicite des fruits de citrullus colocynllis.

51. Spichiger RE., Figeat M., Jeanmonod D., Clerc P., Gautier L., Loizeau P.-A(2016) Botanique systématique avec une introduction aux grands groupes de champignons. *Presses polytechniques et universitaires romandes* Lausanne,

52. **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,

53. Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : Gnidia involucrata Steud. Ex

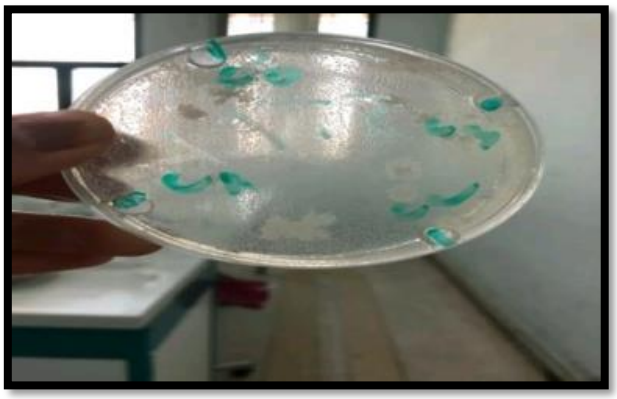
54. **Torres, R., Faini ,F., Modak ,B., Urbina, F., Labbe, C., Guerrero, J.(2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonolsfrom the resinousexudate of Haplopappusmultifolius. phytochemistry.67 : 984-987.

55. Vansant G. (2004) Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone,

56.**Vincken, J.-P., Heng, L. DE groot, A., Gruppen, H. (2007).**Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. Phytochemistry, 68:275–297.

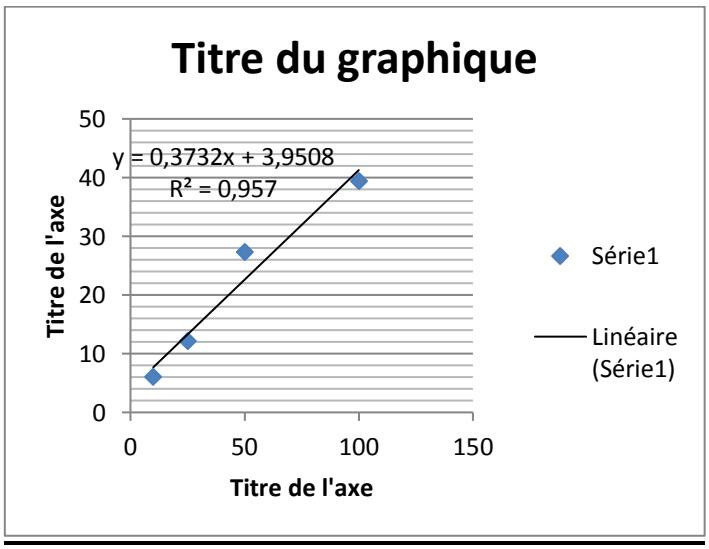
La source: https://burea-uinsurance.com/fr/description-botanique-de-la-citrouille

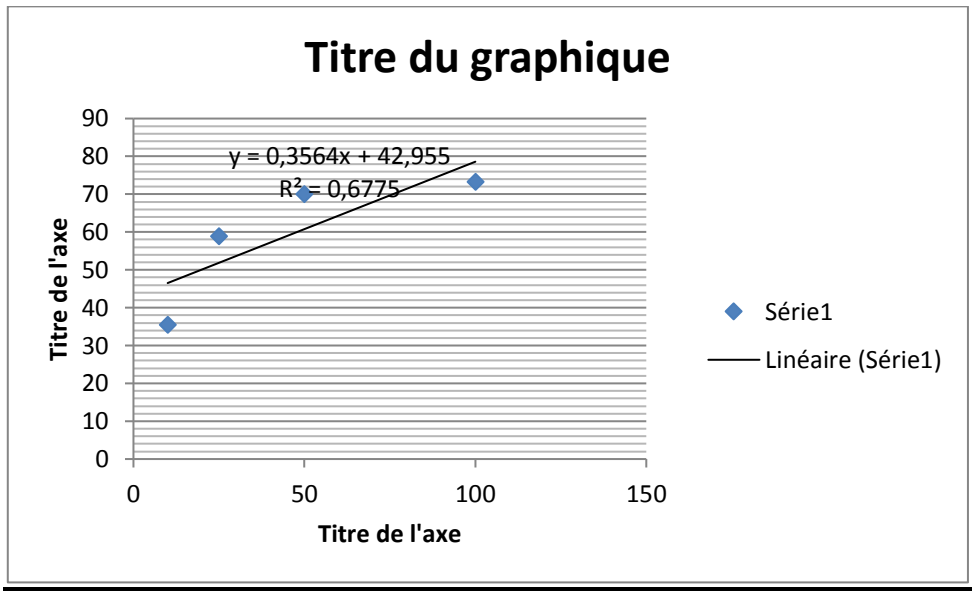
Annexe

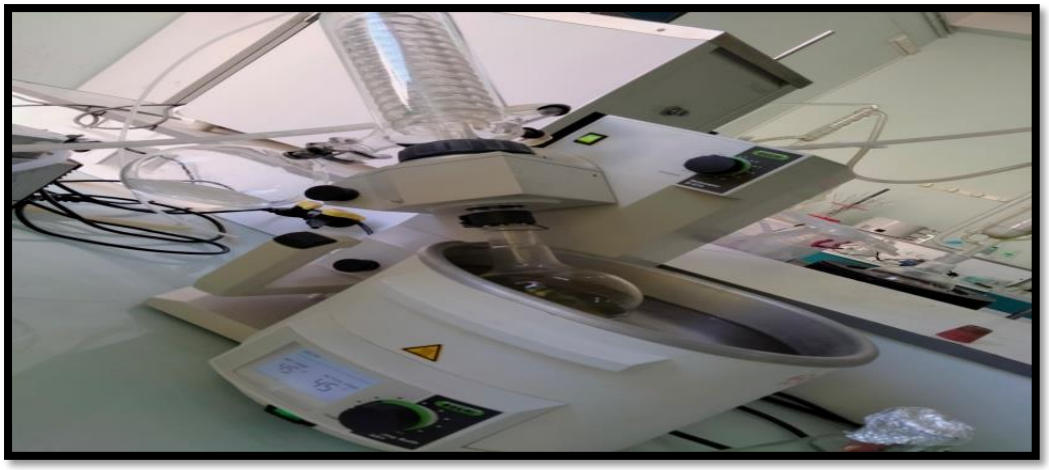


L’effet de l’extrait brutsur la souche bactérienne testée Staphilocoaus aureus en présence différent concentration d’extraits

L’effet de l’extrait brutsur la souche bactérienne testée pseudumon as aeruginosaen présence différent concentration d’extraits







Appareil du rota vapeurde type **(BÜCHI R- 120)**

Appareil de spectrophotométrie

Résumé

La phytothérapie proposant des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme. La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutique.

Notre étude a pour buts d'évaluer différents extraits de Citrouille, est une plante médicinale appartenant a la famille des Cucurbitacée, et très connues pour ses vertus thérapeutiques variées et Considéré comme une Source de β-carotène et excellente source de vitamine (A, C, B6, D et B2) et Riche en fibres.La Citrouille est un aliment nutritif pour l'homme, permet de faire le plein de nutriments antioxydants, il renforcer ses défenses immunitaires et c'est un anti-inflammatoire efficace.

La détermination du rendement de fruit et l'extrait bruit methanolique (14%) et l'extrait aqueuse (12.3%). Et pour les coumarines le rondement dont (4%) respectivement le screening photochimique.

L'analyse qualitative par la méthode de CCM indique la présence des déférents composées phénoliques dans les déférentes extraits de plante testée avec une variabilité des nombres des spots et des couleurs avec des trois systèmes solvant.

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits de plante restée ont montre une forts pouvoir de réduction de radical libre DPPH avec IC_{50} comprises entre 19.80 et 123.45 µg /ml.

L'activité antioxydant été estimée a laide de la DPPH les résultats montrent que les extraits aqueuse possèdent une activité antioxydant bien intéressant dan la partie fruit avec une IC_{50} =19 ,80.

Les déférents extraits ont de bonnes activités antibactériennes contre Pseudomanas et Aeurginosa avec diamètre 15 mm.

Mots clés : Cucurbitaceae, Citrouille, phytochimique, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

الملخص

الأدوية العشبية التي تقدم العلاجات الطبيعية مقبولة جيداً من قبل الجسم. يظل اكتشاف الموارد الطبيعية من المملكة النباتية ضرورياً لتطوير علاجت علاجية جديدة.

تهدف دراستنا إلى تقييم مستخلصات مختلفة من القرع، وهو نبات طبي ينتمي إلىn bعائلة القرعيات، ومعروف جيداً بخصائصه العلاجية المتنوعة ويعتبر مصدراً اللبيتاكاروتين ومصدراً ممتازاً لفيتامين (أ،ج،ب 6 ،د. و (B2وغنية بالألياف. اليقطين غذاء مغذي للإنسان، يسمح لمغذيات المضادة بالأكسدة، ويقوي دفاعاتك المناعية وهو مضاد فعال للالتهابات.

تقدير حاصل الثمار و مستخلص الميثانول الضجيج (14٪) والمستخلص المائي (12.3٪). وبالنسبة للكومارين استدارة (4٪) منها على التوالي الفرز الضوئي الكيميائي.

يشير التحليل النوعي بواسطة طريقة TLC إلى وجود مركبات فينولية مختلفة في المستخلصات النباتية المختلفة التي تم اختبارها مع تباين في عدد البقع و الألوان مع ثلاثة أنظمة مذيبات.

أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية المتبقية قدر ةقوية على تقليل الجذورالحرة DPPH مع IC50 بين 19.80 و 123.45 ميكروغرام / مل.

تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة باستخدام DPPH وأظهرت النتائج أن المستخلصات المائية لها نشاط مضاد للأكسدة مثير للاهتمام فيجزء الفاكهة مع تركيز.IC50 = 19.80

الأسهر المستخرجة لها نشاط مضاد للبكتيريا جيد ضد Pseudomana و Aeurginosa بقطر 15 ملم

الكلمات المفتاحية : القرعيات اليقطين , الضوئي الكيميائي, النشاط المضاد للاكسدة ,النشاط المضاد للبكتيريا .

Herbal medicine offering natural remedies is well accepted by the body. The discovery of natural resources from the plant kingdom remains essential for the development of new therapeutic remedies.

Our study aims to evaluate different extracts of Pumpkin, is a medicinal plant belonging to the Cucurbitaceae family, and well known for its varied therapeutic virtues and Considered as a Source of β-carotene and excellent source of vitamin (A, C , B6, D and B2) and Rich in fibre. Pumpkin is a nutritious food for humans, allows you to fill up with antioxidant nutrients, it strengthens your immune defenses and it is an effective anti-inflammatory.

Determination of fruit yield and noise methanolic extract (14%) and aqueous extract (12.3%). And for the coumarins the roundness of which (4%) respectively the photochemical screening.

Qualitative analysis by the TLC method indicates the presence of the deferent phenolic compounds in the deferent plant extracts tested with a variability in the number of spots and colors with three solvent systems.

The evaluation of the antioxidant activity of the remaining plant extracts showed a strong power of reduction of free radical DPPH with IC_{50} between 19.80 and 123.45 µg / ml.

The antioxidant activity was estimated using the DPPH the results show that the aqueous extracts have a very interesting antioxidant activity in the fruit part with an IC_{50} = 19.80.

The extracted vas have good antibacterial activities against Pseudomanas and Aeurginosa with diameter 15mm.

Keywords: Cucurbitaceae, Pumpkin, antioxidant activity, antibacterial activities.