

Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie Filière : Sciences biologiques

Référence / 2	2022
---------------	------

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par : SAYAH Maram et SEKSAF Ibtissem

Le: 29/06/2022

Effet antioxydant de quelques extraits de C*ucurbita pepo* L. (citrouille)

Mr. ATHAMENA Ahmed MCB Université de Biskra Président Mme. BENABDALLAH Fatima MCB Université de Biskra Rapporteur Zohra Mme. MARZOUGUI Imane MCB Université de Biskra Examinateur

Année universitaire: 2021/2022

Remerciements

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

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

Nous voulons à exprimer notre plus profonde gratitude va à notre encadreur Madame : **BENABDALLAH FATIMA ZOHRA.** Merci pour votre soutien, vos efforts et votre patience avec nous. Merci pour votre précieux conseils et pour avoir répondu à nos questions, et surtout pour votre gentillesse.

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

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

Grâce à Dieu, je dédie ce modeste travail :

À ma très chère mère, la lumière de mes yeux, LINDA

Il n'y a pas de mots pour décrire à quel point je vous suis reconnaissant, vous êtes une source de tendresse, vous m'encouragez toujours, priez pour moi, vous avez toujours été à mes côtés. Vos sacrifices et votre soutien m'ont permis de réussir tout au long des années de mes études, sans votre support je ne serai arrivé jusqu'ici. Puisse ALLAH vous bénir et vous protéger.

À mon cher père, BACHIR merci pour vous. Qu'ALLAH vous protège toujours.

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

À mes chers frères, MOHEMMED ABDEL MOUMEN et LAKHDHER Puisse dieu vous donne la santé, le bonheur et surtout la réussite.

À tous les membres de ma famille, **SEKSAF** et **HADID** spécialement à mon oncle, **ADEL** et sa femme **DALAL**. Que Dieu vous protège.

 \hat{A} tous mes amis, pour tous les bons moments que nous avons partagés ensemble.

À Dr. ABDERRAZAK KIRAM et BERREMDANI AMEL pour leurs conseils et leurs efforts pour nous aider. Que ALLAH les protège.

À mon binôme et ma chère amie, MARAM Qui partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail. Je le souhaite une bonne continuation et le succès dans sa vie.



Dédicace

Grâce à **DIEU**, je dédie ce travail à :

Ma très chère et tendre maman, FARIDA

La lumière de mon cœur et de ma vie et la source de tendresse, de patience et de sacrifice.

Vos prières et vos bénédictions m'ont beaucoup aidé.

Mon cher père, **FERHAT**

Qui a éclairé mes chemins, grâce à votre présence à mes côtés, vos conseils, votre soutien pour moi, aujourd'hui je suis à ce niveau.

Mes étoiles qui éclairent ma vie :

Mon seul frère, AHMED YAHYA et Mes sœurs, MALAK, ZINEB et son beau-fils HASNAOUI BAHA EDDIN. Qu'ALLAH vous protège.

Tous les membres de ma famille, SAYAH et SMAIN.

Mes amis et collègues de l'université. Qu'ALLAH vous protège.

Ma chère **BERREMDANI AMEL**

Qui m'a beaucoup aidée durant mon parcours universitaire, je vous souhaite une bonne chance dans votre vie.

Mon binôme et ma meilleure amie, IBTISSEM

Qui m'a soutenu et beaucoup aidé dans ce travail et durant les années universitaire. J'espère que **DIEU** te donne la santé et tout ce que tu souhaites dans ta vie.



MARAM

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1.1 Stress oxydatif	3
1.1.1 Radicaux libres	3
1.1.1.1 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	3
Sources des ERO	4
✓ Sources endogènes	4
✓ Sources exogènes	4
1.1.2 Stress oxydatif et pathologies	4
1.1.3 Activité Antioxydante	5
1.1.3.1. Système de défense enzymatique	5
Superoxyde dismutase	5
Catalase	5
Glutathion peroxydase	5
1.1.3.2. Système de défense non enzymatique	6
Caroténoïdes	6
Vitamine C (acide ascorbique)	6
Vitamine E	6
Polyphénols	6
Oligo-éléments	7
1.2 Cucurbita pepo L.	7
1.2.1 Citrouille	8
1.2.1.1 Classification systématique	8
1.2.1.2 Description botanique	8
1.2.1.3 Répartition géographique de la citrouille	9
1.2.1.4 Composition chimique et activités biologiques des différentes par	
citrouille.	9
1 2 1 5 Utilisation culinaire et cosmétique de citrouille	10

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Matériel	11
2.1.1. Échantillonnage	11
2.1.1.1. Récolte et préparation de poudre des feuilles	11
2.1.1.2. Récolte et préparation de poudre des fruits	11
2.2. Méthodes	12
2.2.1. Extraction solide-liquide à partir des feuilles et des fruits de la plante	12
2.2.1.1. Préparation des extraits des feuilles	12
2.2.1.2. Préparation de l'extrait hydroalcoolique des fruits	14
2.2.2. Dosage du contenu phénolique total	15
2.2.3. Dosage du contenu en flavonoïdes totaux	16
2.2.4. Tests de l'activité antioxydante	17
2.2.4.1. Capacité antioxydante totale (TAC)	17
2.2.4.2. Essai de piégeage des radicaux DPPH	18
Chapitre 3 : Résultats et discussion	
3.1. Résultats et discussion	21
3.1.1. Rendement d'extraction	21
3.1.2. Détermination du contenu phénolique total	22
3.1.3. Détermination du contenu de flavonoïdes totaux	24
3.1.4. Activité antioxydante	25
3.1.4.1. Détermination de la capacité antioxydante totale	26
3.1.4.2. Test de piégeage du radical libre DPPH	27
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographiques	33

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales espèces réactives de l'oxygène (ERO). 4
Tableau 2. Classification systématique de Cucurbita pepo L. 8
Tableau 3. Les principaux composants chimiques des différentes parties de citrouille et leurs
activités biologiques9
Tableau 4. Rendement des extraits de feuilles de Cucurbita pepo L. 21
Tableau 5. Résultats du contenu phénolique totale des extraits de feuilles de Cucurbita pepo
L. en (mg GAE /g d'extrait)
Tableau 6. Résultats du contenu phénolique totale d'extrait de fruits de Cucurbita pepo L. en
(mg GAE /g d'extrait). 23
Tableau 7. Résultats du contenu de flavonoïde total des extraits de feuilles de Cucurbita
pepo L. en (mg QE /g d'extrait)
Tableau 8. Résultats du contenu de flavonoïde total d'extrait de fruits de Cucurbita pepo L.
en (mg QE /g d'extrait)
Tableau 9. Résultats de la capacité antioxydante totale des extraits de feuilles de Cucurbita
pepo L. en (mg AAE /g d'extrait)
Tableau 10. Pourcentage d'inhibition des radicaux libres de divers extraits de feuilles de
Cucurbita pepo L
Tableau 11. Pourcentages d'inhibition des radicaux libres et la valeur d'IC50 d'extrait
hydroalcoolique de fruits de <i>Cucurbita pepo</i> L

Liste des figures

Figure 1. Formation de radicaux libres.	3
Figure 2. Les différents groupes du Cucurbita pepo L.	7
Figure 3. (A) Morphologie de citrouille, (B) Les grains de citrouille, (C) Feuilles et fleurs	de
citrouille.	9
Figure 4. Protocole d'extraction solide-liquide à partir des feuilles de Cucucrbita pepo L	. 13
Figure 5. Protocole d'extraction solide-liquide à partie des fruits de Cucurbita pepo L	. 14
Figure 6. Réaction entre le DPPH et le composé antioxydant pour former le DPPH	. 18
Figure 7. Organigramme des différents tests.	. 20
Figure 8. Valeurs d'IC ₅₀ de divers extraits de feuilles de <i>Cucurbita pepo</i> L	. 28

Liste des abréviations

AAE: Ascorbic Acid Equivalent (Équivalents d'acide ascorbique)

Abs: Absorbance

BHT: Butylhydroxytoluène

C. pepo L.: Cucurbita pepo L.

CAT: Catalase

CPL: Cucurbita pepo L.

DPPH: 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

EA: Extrait Aqueux

EAcOEt: Extrait d'acétate d'éthyle

EOA: Espèces Oxygénées Activées

En-BuOH: Extrait n-Butanolique

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

EtOH: Extrait éthanolique

FCR: Folin-Ciocalteu reagent (Réactif de Folin-Ciocalteu)

GAE: Gallic Acid Equivalent (Équivalent d'acide gallique)

GR: Glutathione Réductase

GSH: Glutathion réduit

GSHPx: Glutathion peroxydase

GSSG: Glutathion oxydé

GST: Glutathione S-transferase

IC₅₀: Inhibitory concentration 50% (Concentration inhibitrice de 50 %)

pH: Potentiel Hydrogène

QE: Quercetin Equivalent (équivalent quercétine)

ROS: Reactive oxygen species

RSA: Relations Structure-Activité

SOD: Superoxyde Dismutase

TAC : Capacité Antioxydante Totale

TFC: Contenu en Flavonoïdes Totaux

TPC : Contenu Phénolique Total



Introduction

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant » (Favier, 2003), ce dernier est un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires (ERO) et la capacité de défense antioxydant de l'organisme (Baudin, 2020). Le stress oxydatif est impliqué dans divers maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies neurodégénératives ainsi qu'au processus de vieillissement (Lendoye *et al.*, 2022).

De plus, l'une des causes les plus importantes de ces maladies est la malnutrition et une alimentation déséquilibrée, ce qui entraîne une diminution des antioxydants dans notre organisme (Favier, 2003). Et pour cela les gens ont recours aux médecins afin de leur donner des compléments alimentaires pour les compenser et satisfaire le besoin nutritionnel ou à rééquilibrer un régime alimentaire déficient. En effet, les apports excessifs en ces compléments peuvent avoir des effets néfastes sur la santé de l'homme. Pour éviter ces effets des antioxydants synthétiques, de nombreuses études ont investigué de nouveaux antioxydants d'origine naturelle. Par conséquent, un régime alimentaire riche en composants naturels et frais reste bénéfique et moins dangereux (Djenidi *et al.*, 2020).

D'une part, les plantes sont une source naturelle de composés biologiquement actifs connus sous le nom de phyto-nutriments. Les phyto-nutriments sont des métabolites secondaires qui ont des propriétés défensives ou préventives, la majorité des ingrédients alimentaires tels que les grains entiers, les fruits, les légumes et les herbes ont un énorme potentiel thérapeutique (Amutha *et al.*, 2014).

D'autre part, les fruits et les légumes sont sans aucune doute cruciaux pour un régime sain et équilibré, ils ont des effets bénéfiques contre les maladies courantes causées par le stress oxydatif. Les bienfaits des fruits et des légumes sur la santé ont été partiellement attribués à leurs composés phénoliques, qui ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leurs propriétés antioxydantes, parmi les fruits et légumes riche en composants antioxydants : l'orange, le raisin, le brocoli, l'oignon, la tomate et la citrouille...etc. (Defraigne et Pincemail, 2008 ; Tsiba *et al.*, 2020).

Cucurbita pepo L. (citrouille) est une plante comestible appartenant à la famille des cucurbitacées, et elle est connue dans le monde entier. En Algérie, Cucurbita pepo L. a été

largement cultivée dans plusieurs grandes régions productrices, y compris les zones agricoles de la wilaya de Biskra, où la citrouille est considérée comme l'une des principales cultures de légumes, peut être inclus dans notre alimentation quotidienne. Et grâce à ses composants bioactifs, la citrouille a des vertus médicinales tels que l'effet antidiabétique, anticancéreux, antimicrobien, anti-inflammatoire et antioxydant (Ratnam *et al.*, 2017).

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante de *Cucurbita pepo* L., et pour encourager et éduquer les consommateurs à adopter une alimentation saine.

Nous avons présenté et analysé des travaux réalisés par différents chercheurs et notre travail est réparti en deux parties essentielles comme suit :

-La première partie présente une étude bibliographique dans laquelle nous apportons un chapitre qui consiste à des généralités sur le stress oxydatif et l'activité antioxydante et sur la plante *Cucurbita pepo* L.

-La deuxième partie expérimentale, subdivisée en deux chapitres : un chapitre décrit le "Matériel et méthodes" basé sur des articles scientifiques abordant les détails des méthodes étudiés, afin de déterminer la teneur des polyphénols et des flavonoïdes totaux, puis d'évaluer ultérieurement le pouvoir antioxydant des différents extraits de feuilles et de fruits de *Cucurbita pepo* L. par différents tests *in vitro*. Et l'autre chapitre correspond aux résultats et à leurs discussions appropriées.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1.1 Stress oxydatif

Notre organisme produit de l'énergie à partir des aliments et de l'oxygène, une molécule nécessaire à la vie. Ce dernier, devient une pathologique pour l'organisme, lorsqu'il produit des composés très réactifs vis-à-vis des substrats biologiques, appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Defraigne et Pincemail, 2008). Le stress oxydatif est une perturbation de l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur du premier (Groussard, 2006).

1.1.1 Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome possède un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend hautement réactif (Merouane *et al.*, 2014). Il peut être formé soit par une réaction redox (gain ou perte d'un ou des plusieurs électrons), soit par la fission homolytique (rupture de la liaison covalente par laquelle chaque atome possède un électron) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Dans les conditions quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence par une faible quantité comme des médiateurs tissulaires, des résidus énergétiques ou de défense, cette production est physiologique (Favier, 2003) (Figure 1).

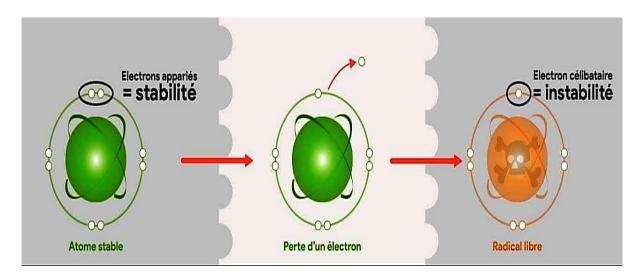


Figure 1. Formation des radicaux libres (Site web 1).

1.1.1.1 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des espèces chimiques électrophiles à courte durée de vie, faisant parties des systèmes ubiquitaires avec une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules (Bensakhria, 2018), les espèces réactives de l'oxygène sont majoritaires mais il existe aussi des radicaux soufrés, nitrogènes, phosphorés ou carbonés sont également formés (Constable et Housecroft, 2020). Ces ERO peuvent être radicalaires ou non radicalaires (Tableau 1).

Espèces réactive radicalaire

Anion superoxyde (O2*-)

Hydroxyle (HO-)

Hydroperoxyle (HO2-)

Ozone (O3)

Peroxyle (ROO*)

Espèces réactive non radicalaire

Peroxyde d'hydrogène (H2O2)

Acide hypochlorique (HClO)

Ozone (O3)

Oxygène singulet (¹O2)

Hydroperoxyde (ROOH)

Peroxynitrite (ONOO⁻)

Tableau 1. Principales espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Halliwell et Whiteman, 2004).

Sources des ERO

Dioxyde de carbone (CO₂•-)

Alkoxyle (RO')

Les radicaux libres peuvent avoir de nombreuses origines, ils proviennent du métabolisme physiologique, mais ils peuvent aussi être produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire. Ils sont classés en deux catégories :

✓ Sources endogènes

Le principal processus endogène de production d'EROs *in vivo* est la respiration cellulaire (la chaîne respiratoire mitochondriale) (Yu, 1994), même en cas d'hypoxie (chaîne respiratoire). Ainsi, les peroxysomes et le cytoplasme, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO (Barouki, 2006).

✓ Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, diverses pollutions, l'exposition aux rayonnements ionisants, la consommation de tabac, les additifs chimiques dans les aliments transformés et certains xénobiotiques tels que les pesticides, les herbicides et les fongicides (Ceballos *et al.*, 2021).

1.1.2 Stress oxydatif et pathologies

Le stress oxydatif est une cause majeure impliquée dans des nombreuses pathologies telles que l'obésité, le cancer, le diabète, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, Parkinson, sclérose latéral amyotrophique), pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire) et les maladies cardiovasculaires, ainsi qu'au processus de vieillissement (Saar *et al.*, 2015). Et peut également jouer un rôle très important dans le développement et la progression de l'endométriose (Wattier, 2018). Les ERO jouent de nombreux rôles importants dans le système immunitaire, sont impliqués dans divers

aspects de la réponse immunitaire tels que l'activation des cellules immunitaires et immunosuppression (Yang *et al.*, 2013). Mais l'élévation croissante (surproduction) des niveaux radicalaires avec l'âge, couplée avec la diminution progressive de la capacité de système immunitaire donc il devient incapable de jouer son rôle dans la lutte contre les infections et la protection de l'organisme contre les maladies (Amar, 2010).

1.1.3 Activité Antioxydante

Pour se protéger les effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense, ces défenses ayant la capacité de réguler parfaitement la production des ERO (Pincemail *et al.*, 2002). Sont désignées par le terme « Antioxydant » : Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules. (Göçer *et al.*, 2013). On distingue deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule, enzymatique et non enzymatique, produit soit par le corps ou apportée par l'alimentation (Haleng *et al.*, 2007).

1.1.3.1. Système de défense enzymatique

• Superoxyde dismutase

C'est un groupe des métalloenzymes (Cuivre, zinc, Fer, Manganèse) que l'on trouve dans l'organisme vivant, qui représente la première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Elle catalyse la dismutation du superoxyde radical libre anionique (O2*-) en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (H2O2) et réduit le niveau d'O2*- qui endommage les cellules à une concentration excessive (Younus, 2018).

$$O_2^{-} + 2H^{+} \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

Catalase

Est une enzyme antioxydante présente dans presque tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène. Cette enzyme utilise soit le fer soit le manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à l'eau et à l'oxygène moléculaire, elle se trouve principalement dans les peroxysomes et absent dans les mitochondries des cellules de mammifères (Ighodaro et Akinloye, 2018).

$$2 \text{ H}_2\text{O}_2 \quad \text{CAT} \quad \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

Glutathion peroxydase

Est un groupe d'enzymes antioxydantes qui catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et de peroxydase lipidique en eau et en alcools lipidiques, respectivement (Jana et Yaish, 2020). Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH)

comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG), protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif induit par les ROS. Les GSHPx connues sont des enzymes à sélénium, le sélénium est incorporé dans la protéine sous forme de sélénocystéine (Goudable et Favier, 1997).

$$2 \text{ H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH}$$
 $2 \text{ H}_2\text{O} + \text{GSSG}$
 $2 \text{ GSH} + \text{ROOH}$
 3 GSHPx
 $3 \text{ ROH} + \text{GSSG} + \text{H}_2\text{O}$

1.1.3.2. Système de défense non enzymatique

Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels caractérisés par la présence de doubles liaisons conjuguées qui permettent d'accepter les électrons des espèces réactives, puis de neutraliser les radicaux libres, dont les principaux sont (β-carotène, β-cryptoxanthine, α-carotène, lycopène, lutéine et zéaxanthine) (Zuluaga *et al.*, 2017). Le bêta-carotène est un nutriment essentiel connu pour son activité pro vitaminique A (précurseur de vitamine A) et son activité antioxydante (Gloria *et al.*, 2014), il a la capacité de terminer les réactions en chaine de lipoperoxydation par la captation d'oxygène singulet, et la protection des structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable et Favier, 1997).

• Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C est un antioxydant hydrophile le plus important et un excellent piégeur des EOA (HO ou O₂ · ·). Il inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (Haleng *et al.*, 2007).

• Vitamine E

La vitamine E (α-tocophérol), considéré comme le principal antioxydant membranaire (liposoluble), et est utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique. Durant la réaction antioxydante, l'α-tocophérol est converti en radical α-tocophéroxyl beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxyde) (Rouaki, et Kanane, 2019). Et régule à la hausse les enzymes antioxydantes telles que GSHPx, CAT du foie, SOD, GST, GR (Vertuani *et al.*, 2004).

• Polyphénols

Les polyphénols possèdent la structure chimique idéale pour l'activité de piégeage des radicaux libres, les propriétés antioxydantes des polyphénols proviennent de leur forte

réactivité en tant que donneurs d'hydrogène ou d'électrons, et de la capacité du radical dérivé du polyphénol à stabiliser et délocaliser l'électron non apparié (fonction de rupture de chaîne). Un autre mécanisme sous-jacent aux propriétés antioxydantes des composés phénoliques est la capacité des flavonoïdes à moduler la cinétique de peroxydation (Vertuani *et al.*, 2004).

• Oligo-éléments

Les oligoéléments tels que le cuivre, le zinc, le manganèse et le sélénium, jouent un rôle important en tant que cofacteurs enzymatiques, qui ont un effet protecteur vis-à-vis du stress oxydatif. Le sélénium présent dans le site actif de l'enzyme GSHPx jouerait également un rôle primordial dans la lutte contre les radicaux libres (Cartes *et al.*, 2005).

1.2 Cucurbita pepo L.

Cucurbita pepo L. est l'une des plus anciennes espèces connues qui appartient à famille Cucurbitaceae et au genre Cucurbita. Ses fruits immatures sont consommés comme légume, les fruits matures sont sucrés et utilisés pour faire des confiseries et des boissons. Ils sont de formes diverses, ils peuvent être ovale, cylindrique, aplati, globulaire, festonné, fusiforme. Il existe plusieurs couleurs : blanc, jaune, vert clair à vert foncé presque noir, crème et orange (Ratnam et al., 2017) (Figure 2). Ont classé C. pepo L. à fruits comestibles en 8 groupes : Citrouille, Zucchini, Cocozelle, Marrow, Cou tors, Gland, Coquille, Droite, et un non comestible : Gourde ornementale (Zraidi et al., 2007).



Figure 2. Les différents groupes du Cucurbita pepo L. (Paris et al., 2012).

1.2.1 Citrouille

C'est une plante très connue dans de vastes régions, plus important dans plusieurs domaines, elle porte différents noms : Citrouille (en français) (Lim, 2012), Yaqtîn (en arabe) (Goetz et Le Jeune, 2010).

1.2.1.1 Classification systématique

Tableau 2. Classification systématique de *Cucurbita pepo* L. (Mukherjee et Pal, 2021).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Violales
Famille	Cucurbitaceae
Genre	Cucurbita L.
Espèce	Cucurbita pepo L.

1.2.1.2 Description botanique

Les citrouilles sont des plantes vivaces monoïques, rampantes ou grimpantes. Ils varient en forme, taille, poids et couleur. La forme la plus courante est rond, mais elle est également oblongue à piriforme, avec une écorce dure et un intérieur charnu de couleur orange (Figure A). Les citrouilles mesurent de 5 cm à plus de 50 cm de diamètre, et un poids de moins de 0,5 kg à plus de 500 kg (Babadoost et Zitter, 2009). C'est une liane à vie courte de racine, dont la tige mesure 10 m de long, et une structure différente des fleurs mâle et femelles, les fleurs mâles sont longues (6-12 cm) que les fleurs femelles qui mesurent (3-5 cm) de long, et varient de couleur de jaune à orange pâle (Kaur, 2019). Les feuilles ont cinq lobes plus ou moins distincts, qui sont velues, à de longs pétioles et couvertes de poils raides (Figure C). Les graines sont aplaties, sans albumen, blanchâtres, amincie à l'un des torticolis d'une extrémité (Figure B) (Goetz et Le Jeune 2010).

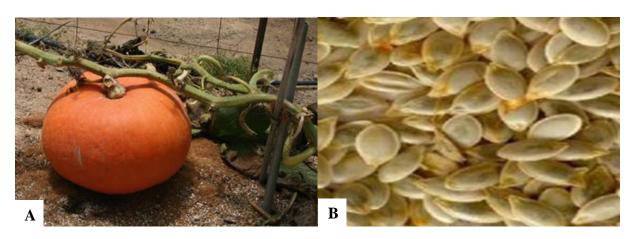




Figure 3. (**A**) Morphologie de citrouille (Lim, 2012), (**B**) Les grains de citrouille (Darrudi *et al*, 2018), (**C**) Feuilles et fleurs de citrouille (Site web 2).

1.2.1.3 Répartition géographique de la citrouille

Cette espèce peut s'adapter à différentes conditions environnementales, mais préfère les altitudes plus basses et les endroits chauds/humides (Salehi *et al.*, 2019).

La citrouille est une culture légumière majeure qui pousse dans presque toutes les régions tempérées fraîches à tropicales, il habite en Asie et la plupart dans l'Europe et l'Amérique du Nord, en la Chine et l'Inde. Il pousse également en Ukraine, aux États-Unis, en Égypte, au Mexique, en Iran, à Cuba, en Italie, en Turquie, en Afrique du Sud, en Espagne et en Argentine (Paris et Brown, 2005). On le trouve également dans de nombreuses régions du pays algérien.

1.2.1.4 Composition chimique et activités biologiques des différentes parties de citrouille

La citrouille a été considérée comme bénéfique pour la santé car elle contient divers composants bioactifs.

Tableau 3. Les principaux composants chimiques des différentes parties de citrouille et leurs activités biologiques (Ratnam *et al.*, 2017).

Parties	Composants chimiques	Activités biologiques	Références
Fruit	Glucides (66 %)	Antidiabétique (Hypoglycémiante aiguë)	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
	Protéines (3 %)	Anticancéreuse	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
	Oligo-éléments « Mn (0,5 mg/kg), Fe (1,37 mg/kg),	Antioxydant	(Mala et Kurian, 2016).

	Cu(mg/kg), Pb (0,29 g/kg),		
	Ni (0,5 mg/kg) »		2.5.1
	Minéraux « P (11,38	Antioxydant	(Mala et Kurian,
	mg/kg), Ca (179 mg/kg),		2016)
	Mg (190 mg/kg), Na (159		
	mg/kg), K (160 mg/kg) »		
Grains	Vitamines E (Tocophérols)	Antioxydantes, Antidiabétique	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
	Vitamines C	Antioxydant	(Mala et Kurian, 2016)
	Caroténoïdes	Antioxydant	(Bardaa <i>et al.</i> , 2016)
	Triterpénoïdes (Squalène)	Antioxydant, Anticancéreux	(Micera <i>et al.</i> , 2020), (Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
	L'acide γ-aminobutique	Antidépression, Antihypertension	(Cui et al., 2020)
	Acides gras saturés et insaturé	Anti-inflammatoire	(Thibaut <i>et al.</i> , 2021)
Peptides Antifongique, Ar	Antifongique, Antimicrobien	(Yadav <i>et al.</i> , 2010)	
	Les polysaccharides	Antioxydantes, antitumorales, Immunorégulatrices, Hypoglycémiantes, Hépatoprotectrices	(Ji et al., 2021)
Feuilles	Alcaloïdes	Antidiabétique	(Moraru <i>et al.</i> , 2018)
	Flavonoïdes	Antioxydant	(Valenzuela <i>et al.</i> , 2014)
	Tanins	Antioxydant	(Djenidi <i>et al.</i> , 2020)
	Saponines	Antimicrobien, Antifongique	(Salehi <i>et al.</i> , 2019)

1.2.1.5 Utilisation culinaire et cosmétique de citrouille

La citrouille est utilisée comme ingrédient principal dans les tartes et les pains. Leur poudre est utilisée comme un aromatisant dans de nombreux produits alimentaires notamment les bonbons, le café et les produits de boulangerie (Al-Ghamdi, *et al.*, 2020), consommé en particulier dans les soupes ou comme légume cuit (Bussmann *et al.*, 2019). Aussi on trouve dans le coté cosmétiques telles que les gommages de la peau, les masques corporels, le beurre corporel, les huiles de massage, les lotions de massage et les masques facial sec (Ratnam *et al.*, 2017).

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Échantillonnage

Les extraits de la plante ont été préparés à partir de poudre de deux parties de *Cucurbita pepo* L. la partie des feuilles et la partie des fruits :

2.1.1.1. Récolte et préparation de poudre des feuilles

La plante *Cucurbita pepo* L. a été récoltée dans la région de Pakpattan de la ville Pakistan (Dar *et al.*, 2017).

Les feuilles de *Cucurbita pepo* L. séchées à l'ombre pendant deux semaines. Les feuilles séchées sont broyées en poudre (Dar *et al.*, 2017), à l'aide d'un broyeur approprié, puis stockée jusqu'au début de l'analyse (Mondal *et al.*, 2017).

2.1.1.2. Récolte et préparation de poudre des fruits

Les fruits de *Cucurbita pepo* L. collectés dans les environs de Rasipuram, Tamilnadu, Inde au cours du mois de juillet et authentifiés par Botanical Survey of India (BSI), Coimbatore, Tamilnadu (Srividhya *et al.*, 2019).

Peu de temps après la collecte, les fruits nettoyés, séchés à l'ombre et broyés en une poudre grossière, stockés dans un récipient en plastique hermétique, jusqu'à leur utilisation ultérieure (Srividhya *et al.*, 2019).

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction solide-liquide à partir des feuilles et des fruits de la plante

✓ Principe

L'extraction solide-liquide c'est-à-dire qu'un solide, la matrice végétale est mélangée avec un liquide, le solvant d'extraction. Le mode d'extraction est par épuisements à l'aide de solvants de polarités différentes permet d'obtenir la quasi-totalité des produits solubles, le principe est fondé sur l'affinité des produits présents dans la plante à l'égard d'un solvant donné. L'hydrodistilation, la macération, le soxhlet, sont considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels (Naviglio *et al.*, 2019).

2.2.1.1. Préparation des extraits des feuilles

✓ Protocole expérimental

Divers extraits de feuilles ont été préparés en suivant le même protocole pour préparer les extraits dans divers solvants.

Tremper 30 g de feuilles broyées dans 250 ml acétate d'éthyle, de n-butanol, d'éthanol et d'eau séparément. Ce processus a été répété deux fois pour assurer l'extraction maximale, et une filtration a été effectuée (Dar *et al.*, 2017).

Les extraits ont été concentrés sous pression réduite sur un évaporateur rotatif (BüchiiRotavapor R-200, Suisse) et le résidu aqueux a été complètement séché (Dar *et al.*, 2017; El-Sayed *et al.*, 2017).

Les extraits de feuilles sont obtenus sous forme semi-solide, puis conservées à l'abri de l'humidité (Dar *et al.*, 2017).

Chapitre 2 Matériel et méthodes

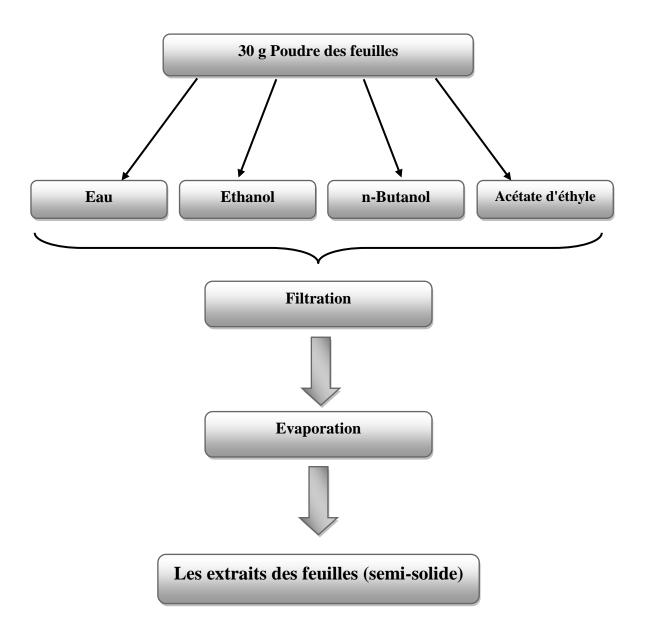


Figure 4. Protocole d'extraction solide-liquide à partir des feuilles de Cucurbita pepo L.

2.2.1.2. Préparation de l'extrait hydroalcoolique des fruits

✓ Protocole expérimental

Des fruits de *Cucurbita pepo* L. grossièrement réduits en poudre ont été dégraissés à l'aide d'éther de pétrole (60 à 80 ° C), puis extraite avec un mélange hydro-alcoolique (alcool+eau distillée) dans un appareil Soxhlet pendant environ 72 h à 40 ° C. Après cela, le sédiment a été filtré avec du papier filtre Whatman n ° 1 (Whatman Ltd, Angleterre), l'extrait de fruits a été ensuite concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide (Buchan R-V120, Suisse) à 40°C.

L'extrait brut obtenu a été stocké à 4 $^{\circ}$ C pour une analyse plus approfondie (Srividhya et al., 2019).

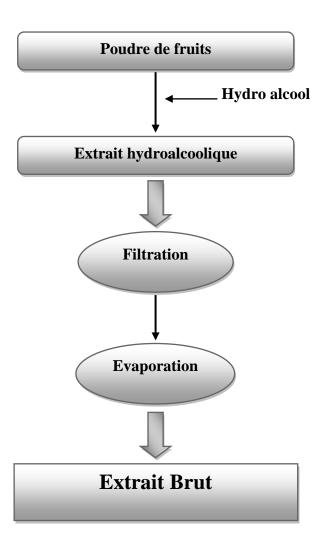


Figure 5. Protocole d'extraction solide-liquide à partie des fruits de *Cucurbita pepo* L.

2.2.2. Dosage du contenu phénolique total

✓ Principe

Les composés phénoliques totaux déterminés à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteau (FCR) et réalisé en suivant la méthode proposée par Slinkard et Singleton 1977. Le réactif de Folin-Ciocalteau est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006).

✓ Protocol expérimental

L'échantillon de chaque extrait des feuilles a été préparé en prenant 4,3 mg d'extrait dans 10 ml d'éthanol et irradié aux ultrasons pendant 5 min pour obtenir une solution homogène, plus tard 0,3 ml a été prélevé dans un tube à essai et 1 ml de méthanol. 3,16 ml d'eau distillée et 0,2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu a été ajoutés. Le mélange de tubes à essai est ensuite incubé 8 min à température ambiante. Ensuite 0,6 ml de solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (10 %) a été ajouté dans un tube à essai, recouvert d'un papier d'aluminium et incubé dans un bain-marie chaud pendant une demi-heure à 40°C (Dar *et al.*, 2017).

L'extrait hydroalcoolique des fruits a été dosé en suivant le même protocole déjà précité, avec quelques différences (dans les volumes de réactifs). Brièvement, 10 mg de l'extrait de fruit pesé avec précision a été dissous dans 10 ml d'eau et utilisés pour l'estimation. A un aliquote de 100 µl d'extrait (1mg/ml), 50 µl de réactif de Folin-Ciocalteau sont ajoutés, suivis de 860 µl d'eau distillée et le mélange est incubé 5 min à température ambiante. Puis 100 µl de carbonate de sodium à 20% et 890 µl d'eau distillée ont été ajoutés pour porter la solution finale à 2 ml. Il a été incubé pendant 30 min dans l'obscurité pour terminer la réaction (Srividhya *et al.*, 2019).

L'absorbance de différents extraits des feuilles et de fruits ont été mesurée à une longueur d'onde entre [725 à 765 nm] avec un spectrophotomètre de Shimadzu UV-VIS (Dar et al., 2017; Srividhya et al., 2019). Contre un blanc qui a été préparé en suivant les mêmes étapes mentionnées ci-dessus sans ajouter la solution d'extrait, les tests effectués en triple pour obtenir la moyenne des valeurs (Mondal et al., 2017; Srividhya et al., 2019).

La teneur totale en polyphénols a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et il a été exprimé en milligrammes équivalents d'acide gallique (GAE) par gramme d'extrait (Dar *et al.*, 2017 ; Srividhya *et al.*, 2019).

2.2.3. Dosage du contenu en flavonoïdes totaux

✓ Principe

Un dosage colorimétrique est basé sur la formation d'un complexe de couleur jaune, entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La soude forme de son côté un autre complexe qui rend la couleur rose dont l'intensité nous indique l'importance du contenu de l'extrait en flavonoïdes (Tajini *et al.*, 2020).

✓ Protocole expérimental

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par Gorinstein *et al.* 2007 (Chlopicka *et al.*, 2012).

Chaque extrait des feuilles a été dosé pour obtenir une solution claire en prenant 0,3 ml (0,3 mg/ml dans l'éthanol) et 3,4 ml d'éthanol aqueux (30 %) dans un tube à essai. Puis 0,15 µl de solution aqueuse de nitrite de sodium (0,5 M) a été ajouté suivi de 0,15 µl de solution de chlorure d'aluminium (0,3 M). Après un temps de 5 min, 1 ml de solution de NaOH (1 M) a été ajouté, et le contenu a été mélangé avant de mesurer son absorbance (Dar *et al.*, 2017).

Le dosage des flavonoïdes totaux dans l'extrait hydroalcoolique des fruits a été préparé par la même méthode au chlorure d'aluminium mais avec des différences dans le protocole déjà décrit précédemment. Brièvement, 10 mg de l'extrait pesé avec précision ont été dissous dans 10 ml d'éthanol et utilisés pour l'estimation. À une aliquote de 100 µl d'extrait, l'éthanol a été ajouté séparément pour compléter la solution jusqu'à 2 ml. Le mélange résultant a été traité avec 0,1 ml de chlorure d'aluminium à 10 %, 0,1 ml acétate de potassium 1 M et 2,8 ml d'eau distillée. Bien agiter et incuber à température ambiante pendant 30 minutes (Srividhya *et al.*, 2019).

L'absorbance de différents extraits des feuilles et des fruits ont été mesurée à une longueur d'onde comprise entre [415 à 506 nm] à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible (UV-1700 Shimadzu), contre un blanc qui a été préparé sans ajouter la solution d'extrait. La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par l'équation obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage standard de la quercétine. Les valeurs sont exprimées en milligrammes

équivalents de quercétine (QE) par gramme d'extrait. (Dar et al., 2017 ; Mondal et al., 2017 ; Srividhya et al., 2019).

2.2.4. Tests de l'activité antioxydante

Diverses méthodes ont été utilisées pour étudier la propriété antioxydante des échantillons. Dans cette analyse l'activité antioxydante de différents extraits de feuilles et de fruits a été évaluée par deux tests *in vitro* qui sont : La capacité antioxydante totale (TAC) et le test DPPH.

2.2.4.1. Capacité antioxydante totale (TAC)

✓ Principe

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

✓ Protocole expérimental

La capacité antioxydante totale de tous les extraits testés dans cette étude a été déterminée selon le protocole décrit par Prieto *et al.* 1999.

Une aliquote de 0,2 ml de chaque extraites de feuilles a été mélangé avec 2 ml de solution de réactif (28 mM de phosphate de sodium, 600 mM acide sulfurique et 4 mM molybdate d'ammonium), et 3 ml d'extrait de fruit a été mélangé avec 0,3 ml du même réactif.

Les mélanges de chaque extrait de feuilles et de fruits ont été incubés à 95°C environ (60 à 90 minutes) puis ils ont été refroidis à température ambiante, l'absorbance de chaque extrait a été enregistrée à 695 nm contre un blanc. (Dar *et al.*, 2017 ; Srividhya *et al.*, 2019).

L'expérience a été répétée 3 fois, et l'activité antioxydante des extraits a été exprimée en milligrammes équivalents d'acide ascorbique (AAE) par gramme d'extrait (Dar *et al.*, 2017).

2.2.4.2. Essai de piégeage des radicaux DPPH

✓ Principe

Le test de piégeage des radicaux DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) est une méthode d'évaluation du potentiel antioxydant des extraits des plantes (Mondal *et al.*, 2017), repose sur la théorie qu'un donneur d'hydrogène est un antioxydant. Le radical DPPH*, de coloration violette et qui présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm, accepte l'hydrogène qui est cédé par l'antioxydant pour former le DPPH (Fig. 6). L'effet de l'antioxydant est proportionnel à la disparition du radical DPPH* et à la décoloration de la solution du violet au jaune (Sarr *et al.*, 2015).

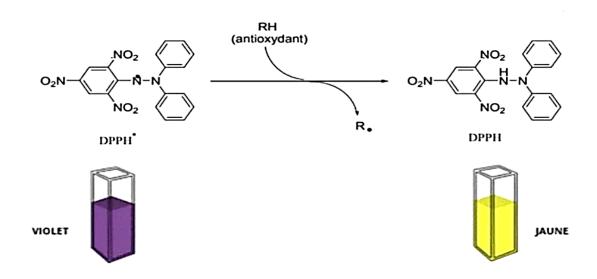


Figure 6. Réaction entre le DPPH et le composé antioxydant pour former le DPPH (Sarr *et al.*, 2015).

✓ Protocole expérimental

La capacité de piégeage des radicaux par les différents extraits de plantes a été mesurée à l'aide d'un test de piégeage de DPPH en suivant le protocole donné par Brand-Williams *et al.* 1995 (Dar *et al.*, 2017).

Les extraits des feuilles et des fruits ont été testés par le même protocole expérimental, mais avec des différences en termes de concentrations de réactifs et des extraits.

Une solution d'éthanol (1,0 ml) de tous les extraits de feuilles de différentes concentrations (0,01 à 1,5 mg/ml) a été ajoutée dans 1,0 ml (0,2 mg/ml) de solution de méthanol de DPPH (Dar *et al.*, 2017).

Une solution de 0,135 mM de DPPH dans du méthanol a été préparée et 1,0 ml de cette solution a été mélangé avec 1,0 ml d'extrait des fruits dans du méthanol (contenant 0,02 à 0,1 mg de l'extrait) (Srividhya *et al.*, 2019).

Le mélange réactionnel de chaque extrait est laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance du mélange a été mesurée par spectrophotométrie UV visible (UV-1700 Shimadzu) à 517 nm. L'acide ascorbique et le BHT ont été utilisés comme des standards (Dar *et al.*, 2017; Srividhya *et al.*, 2019).

Calcul de pourcentage de piégeage des radicaux DPPH

-Le pourcentage de piégeage des radicaux de différents extraits de feuilles a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

Pourcentage DPPH= 100 × [DPPH]extrait / [DPPH]standard (Dar et al., 2017).

Où: [DPPH]extrait: concentration de DPPH dans l'extrait.

[DPPH]standard: concentration de DPPH dans le standard.

-Le pourcentage de piégeage des radicaux d'extrait hydroalcoolique de fruits a été calculée par l'équation suivante :

Activité de piégeage des radicaux DPPH (%) =

[(Abs Control - Abs Echantillon)] / (Abs Control)] × 100 (Srividhya et al., 2019).

Où : Abs Control : l'absorbance du radical DPPH + méthanol.

Abs Echantillon : l'absorbance du radical DPPH + extrait d'échantillon/étalon.

L'activité antioxydante s'exprime par la valeur IC₅₀ qui indique la concentration d'échantillon nécessaire pour piéger 50 % des radicaux libres de DPPH (Mondal *et al.*, 2017).

Chapitre 2 Matériel et méthodes

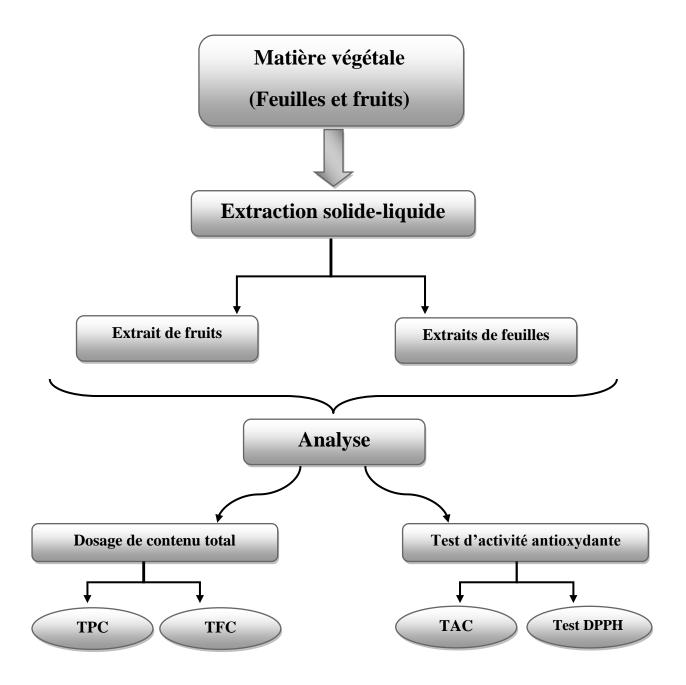


Figure 7. Organigramme des différents tests.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.1. Résultats et discussion

3.1.1. Rendement d'extraction

Les résultats du rendement des différents extraits de feuilles, sont regroupés dans le tableau 4 :

Tableau 4. Rendement des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. (Dar *et al.*, 2017).

Extraits	Masse (g)	Rendement (%)
Extrait éthanolique	5.97	19.9
Extrait aqueux	5.22	17.4
Extrait n-Butanolique	2.93	9.7
Extrait acétate d'éthyle	2.2	7.3

Les résultats de rendements des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. ont montré que : l'extrait éthanolique et aqueux a un rendement élevé 19.9 % et 17.4 %, respectivement, par rapport à l'extrait n-butanolique 9.7 % et l'extrait acétate d'éthyle 7.3 %.

Ces valeurs sont considérablement inférieures par rapport aux résultats présents dans les travaux de Chigurupati *et al.* (2021), ces derniers ont trouvé que le rendement égale à 30 % de l'extrait acétate d'éthyle de feuilles de *C. pepo* L. du Royaume d'Arabie Saoudite.

La différence dans les rapports de rendement entre les extraits de feuilles est due à plusieurs raisons et conditions, qui sont liées à l'extraction.

Par ailleurs, la différence de pourcentage de rendement de chaque extrait est due à la différence des propriétés et de la nature du solvant utilisé en termes de polarité et de la nature des composés actifs présents dans la plante (Daoudi *et al.*, 2015).

Les valeurs élevées des extraits éthanolique et aqueux, indiquent des concentrations plus élevées de composés tels que les glycosides, les flavonoïdes polaires et les saponines dans les feuilles de CPL. Tandis que L'extrait n-butanolique a montré la présence de composés de polarité légèrement élevée qui peuvent être des flavonoïdes et des acides phénoliques. En ce qui concerne le faible rendement dans l'extrait acétate d'éthyle indique que le matériel végétal a une faible concentration de composés partiellement polaires.

Par conséquent, le rendement peut être influencé par plusieurs paramètres, dépend de la composition chimique et les caractéristiques physiques de la matière végétale, ainsi que divers facteurs tels que les conditions expérimentales et les méthodes de préparation des échantillons (Lee *et al.*, 2003).

3.1.2. Détermination du contenu phénolique total

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique, qui est principalement utilisée en raison de sa simplicité et sa grande sensibilité, à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant une courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (GAE) par gramme d'extrait brut, qui sont représentés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5. Résultats du contenu phénolique totale des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. en (mg GAE/g d'extrait) (Dar *et al.*, 2017).

Extraits	TPC (mg GAE /g d'extrait)
Extrait Ethanolique	40.37
Extrait Aqueux	40.12
Extrait n-Butanolique	93.62
Extrait Acétate d'éthyle	85.12

Les résultats de contenu phénolique total des différents extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. ont montré que : La teneur de polyphénols totaux des extraits étudiés comprise entre 40.12 à 93,62 mg GAE /g d'extrait, l'extrait n-butanolique présentait la concentration la plus élevée de polyphénols et l'extrait aqueux présentait la teneur la plus faible.

Dans l'étude réalisé par Mondal *et al.* (2017) ils ont trouvé que le contenu phénolique total égale à 17,49 mg GAE/g de matière végétale séchée, dans l'extrait éthanolique de feuilles de *Cucurbita pepo* L., du Bangladesh, qui sont inférieure aux résultats trouvés.

D'autre part, l'étude d'El-Sayed *et al.* (2017) sur les feuilles de la même espèce provenant d'Egypte, ont montré que la teneur en polyphénols totaux égale à 62.37 mg GAE /g d'extrait et 29.83 mg GAE /g d'extrait dans les extraits n-butanolique et aqueux, respectivement, qui sont inférieure aux résultats trouvés. Par contre l'extrait acétate d'éthyle a présenté une teneur de polyphénols supérieure, qui est estimée à 99.70 mg GAE /g d'extrait.

D'un autre côté les résultats de Peng *et al.* (2021) sur l'extrait méthanolique de graines de citrouille du chine, ont montré que la teneur en polyphénols totaux était de 2.44 à 3.82 mg GAE/g de poudre de graines, ce qui est inférieur aux résultats touvés.

Tableau 6. Résultats du contenu phénolique totale d'extrait de fruits de *Cucurbita pepo* L. en (mg GAE /g d'extrait) (Srividhya *et al.*, 2019).

Extrait	TPC (mg GAE /g d'extrait)
Extrait hydroalcoolique	70.25

On trouve que la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait de fruits égale à 70.25 mg GAE /g d'extrait (Srividhya *et al.*, 2019).

Selon les résultats enregistrés par Hashash *et al.* (2017) la teneur en polyphénols totaux sur l'extrait méthanolique des fruits de *C. pepo* L. d'Egypte égale à 49.80±0.44 mg GAE /g d'extrait, ce qui est inférieure à la valeur calculée dans cette étude.

L'étude de Hamissou *et al.* (2013) indique que la teneur en polyphénols totaux sur l'extrait aqueux de fruits de C. pepo L., originaire de Géorgie (USA) était de 8.67 ± 1.59 mg GAE/g d'extrait, ce qui est inférieure à cette étude.

D'autre étude réalisée par Peiretti *et al.* (2017) ont montré que le contenu phénolique total sur l'extrait méthanolique des graines de *C. pepo* L. égale à 9.82 ± 0.51 mg GAE /g d'extrait, ce qui est inférieure à ces résultats.

D'après les résultats obtenus, on peut constater que tous les extraits des différentes parties de la plante étudiée, sont riches en polyphénols mais en quantités différentes.

Par ailleurs, les solvants les plus polaires étaient plus efficaces pour extraire les composés phénoliques de toutes les parties de la plante que les solvants moins polaires, le n-butanol et l'acétate d'éthyle sont les solvants les plus utilisés pour l'extraction des métabolites secondaires, principalement celles de nature phénolique, en fait, la solubilité des polyphénols est conditionnée par le type de solvant utilisé, pour une haute récupération des polyphénols (Daoudi *et al.*, 2015). La sélection de bon solvant affecte la quantité et le taux de polyphénols extraits (Dai et Mumper, 2010).

Par conséquence, L'addition d'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols, cette augmentation est peut-être due à l'affaiblissement des liaisons hydrogène dans les solutions aqueuses, qui permet une meilleure extraction des polyphénols (Mahmoudi *et al.*, 2013).

Grâce aux résultats obtenus, nous concluons qu'il existe plusieurs facteurs pouvant affecter sur la teneur des composés phénoliques, qui sont fortement influencés par des facteurs extrinsèques tels que (conditions climatiques, facteur géographique) et des facteurs intrinsèques (génétiques). Mais également de la partie utilisée de la plante, le degré de maturité, la durée de stockage et la méthode d'extraction. De plus, la modification de la teneur en polyphénols est due à une oxydation facile de ces polyphénols (Mahmoudi *et al.*, 2013; Rajbhar *et al.*, 2015; Khouchlaa *et al.*, 2017).

3.1.3. Détermination du contenu de flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode spectrophotométrie au chlorure d'aluminium, qui est une méthode facile et offre une bonne sensibilité, la quercétine a été utilisée comme un contrôle positif, ce qui a permis de réaliser une courbe d'étalonnage.

La teneur en flavonoïdes exprimée en mg équivalent de quercétine (QE) par gramme d'extrait de plante, les résultats sont représentés dans les tableaux 7 et 8.

Tableau 7. Résultats du contenu de flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. en (mg QE/g d'extrait) (Dar *et al.*, 2017).

Extrait	TFC (mg QE /g d'extrait)
Extrait Ethanolique	50.76
Extrait Aqueux	38.46
Extrait n-Butanolique	67.69
Extrait Acétate d'éthyle	76.92

Les valeurs obtenues du contenu de flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L., étaient comprises entre 38.46 et 76,92 mg QE/g d'extrait. L'extrait acétate d'éthyle présentait la teneur en flavonoïdes la plus élevée, tandis que la teneur en flavonoïde la plus faible a été observée dans l'extrait aqueux.

Ces résultats ont montré que la teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles est similaire à l'étude d'El-Sayed *et al.* (2017) qui ont trouvé des valeurs égales à 22.27±0.91,

 49.47 ± 1.19 et 79.30 ± 1.51 mg RE /g d'extrait dans les extraits aqueux, n-butanolique et acétate d'éthyle pour les feuilles de *C. pepo* L., respectivement. Aussi, il est presque similaire à une autre étude réalisée par Chigurupati *et al.* (2021) qui ont trouvé que la teneur en flavonoïdes égale à 80.5 ± 0.02 mg RE/g d'extrait dans l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *C. pepo* L.

Tableau 8. Résultats du contenu de flavonoïdes totaux d'extrait de fruits de *Cucurbita pepo* L. en (mg QE /g d'extrait) (Srividhya *et al.*, 2019).

Extrait	TFC (mg QE /g d'extrait)
Extrait hydroalcoolique	26.03

Le contenu de flavonoïdes totaux d'extrait hydroalcoolique de fruits égale à 26.03 mg QE /g d'extrait (Srividhya *et al.*, 2019). Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus dans l'étude de Djenidi *et al.* (2020) sur l'extrait méthanolique de fruits de *C. pepo* L., provenant de Biskra (Algérie). En effet, ils ont déterminé une valeur de 19.93 µg QE /mg d'extrait.

D'un autre coté la teneur est inférieure par rapport à celui de Yadav *et al.* (2016) qui ont réalisé un dosage de flavonoïdes totaux à partir de fruits de *Cucurbita pepo* L. d'origine d'Inde, et qui ont trouvé des valeurs égales à 45.03 ± 0.90 ; 64.34 ± 1.37 et 56.83 ± 0.59 mg QE/100 g dans les extraits n-butanolique, méthanolique et éthanolique, respectivement.

L'acétate d'éthyle a été utilisé comme solvant et il présentait la teneur en flavonoïdes la plus élevée parmi tous les autres solvants d'extraction des feuilles de *Cucurbita pepo* L. dans une étude plus récente (Chigurupati *et al.*, 2021).

Les résultats de la détermination des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les extraits de feuilles et de fruits montrent que la teneur en polyphénols était beaucoup plus élevée que celle des flavonoïdes, ce qui indique que les polyphénols existants ne sont pas tous des flavonoïdes, et il peut s'agir de la présence d'autres polyphénols tels que les coumarines et les tanins (Al Khateeb *et al.*, 2012).

3.1.4. Activité antioxydante

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des matières végétales nécessite le développement de plusieurs méthodes. Ces méthodes consistent à mélanger des espèces

oxydantes, tels que les radicaux libres, avec un échantillon contenant des antioxydants capables d'inhiber la production des radicaux libres. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes principaux : soit par le transfert d'atomes d'hydrogène, ou par le transfert des électrons (Prior *et al.*, 2005 ; Djenidi *et al.*, 2020).

Les résultats d'activité antioxydante obtenus ont été déterminés par deux méthodes *in vitro* sur les différents extraits : La capacité antioxydante totale et le test de piégeage du radical libre DPPH.

3.1.4.1. Détermination de la capacité antioxydante totale

Un dosage de phosphomolybdate a été réalisé pour déterminer la capacité antioxydante totale (TAC) des extraits de la plante, ce test implique un mécanisme de transfert d'électrons.

Les résultats ont été évalués par un spectrophotomètre à 695 nm et exprimés en milligrammes équivalents d'acide ascorbique (AAE) par gramme d'extrait. Ils sont mentionnés dans le tableau 9.

Tableau 9. Résultats de la capacité antioxydante totale des extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. en (mg AAE /g d'extrait) (Dar *et al.*, 2017).

Extrait	TAC (mg AAE /g d'extrait)
Extrait Ethanolique	221.25
Extrait Aqueux	236.75
Extrait n-Butanolique	484.75
Extrait Acétate d'éthyle	383.50

Les résultats montrent que la capacité antioxydante totale (TAC) variait entre 221.25 et 484,75 mg AAE /g d'extrait, l'extrait n-butanolique a montré une activité maximale tandis que l'extrait éthanolique a montré la moindre activité antioxydante.

D'après El-Sayed *et al.* (2017) ils ont trouvé que la capacité antioxydante totale est égale à 92.60, 179.13 et 210.96 mg AAE /g d'extrait dans les extraits aqueux, n-butanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *C. pepo* L., respectivement. Qui sont inférieurs aux résultats obtenus dans l'étude de Dar *et al.* (2017).

Nous avons comparé ces résultats avec d'autre travaux de Hashash *et al.* (2017), qui ont étudié la capacité antioxydante totale sur les extraits de deux parties différentes (les fruits et les grains) de *Cucurbita pepo* L., où ils ont trouvé une valeur égale à 201.37±1.30 mg AAE/g

d'extrait dans l'extrait méthanolique des fruits, et une valeur égale à 222.1±1.40 mg AAE/g d'extrait dans l'extrait méthanolique des graines, qui sont inférieurs aux résultats trouvés.

Par contre, l'étude de Badu *et al.* (2020) a trouvé que la capacité antioxydante total d'extrait éthanolique des graines égale à 179.49 ± 2.54 mg AAE/g d'extrait.

Nous avons constaté que la capacité antioxydante augmente avec l'augmentation de la quantité de polyphénols totaux.

3.1.4.2. Test de piégeage du radical libre DPPH

La capacité de piégeage des radicaux par les différents extraits de *C. pepo* L. a été mesurée à l'aide du test de piégeage DPPH. Cette méthode est largement utilisée pour tester la capacité des composés à agir comme piégeurs de radicaux libres ou donneurs d'hydrogène (Proestos *et al.*, 2013).

Le paramètre IC₅₀ est utilisé pour l'interprétation des résultats de la méthode à DPPH, ce paramètre est défini comme la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% des molécules de DPPH. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité d'extrait testé est élevée (Hebi et Eddouks, 2016).

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition, et l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Ils sont mentionnés dans les tableaux 10 et 11.

Tableau 10. Pourcentage d'inhibition des radicaux libres de divers extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. (Dar *et al.*, 2017).

Constant and the second	Pourcentage d'inhi		'inhibition	
Concentration — (mg/ml)	Extrait Aqueux	Extrait Acétate d'éthyle	Extrait n- Butanolique	Extrait Ethanolique
50	11.48±0.70	19.9±0.00	3.04±1.76	6.04 ± 0.02
100	22.84 ± 0.02	27.1±0.00	11.45±1.41	14.62±0.70
150	30.94±0.00	40.6±0.00	23.04±0.70	21.83±1.41
250	42.92±2.34	56.71±1.41	40.45±0.00	30.4±0.00
500	59.96±0.70	79.44±0.70	68.9±0.00	54.66±1.41

Il y a une augmentation du pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH avec l'augmentation des concentrations [de 50 à 500 mg/ml] des extraits de feuilles de *C. pepo* L.,

où on a trouvé que le pourcentage d'inhibition maximale était dans la concentration 500 mg/ml.

Les résultats ont montré que : l'extrait acétate d'éthyle représentait le pourcentage d'inhibition le plus élevé 79.44 ± 0.70 % par rapport aux autres extraits n-butanolique 68.9 ± 0.00 %, aqueux 59.96 ± 0.70 % et éthanolique 54.66 ± 1.41 %.

D'après, Mondal *et al.* (2017) le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH maximale dans la concentration 100 μ g/ml, égale à 93.55 % dans l'extrait éthanolique de feuilles de *C. pepo* L.

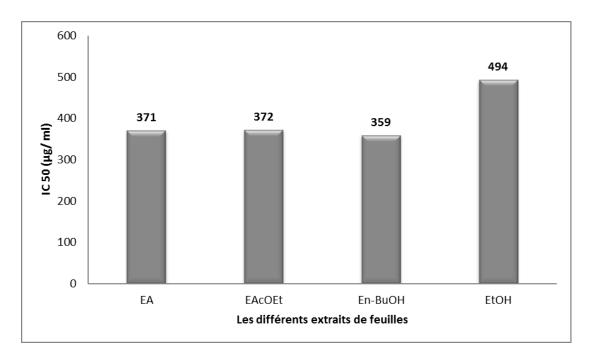


Figure 8. Valeurs d'IC₅₀ de divers extraits de feuilles de *Cucurbita pepo* L. (Dar *et al.*, 2017).

Selon les résultats enregistrés dans la figure 8, la valeur d' IC_{50} de l'extrait n-butanolique (359 μ g/ ml) a montré que cet extrait possède un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus élevée que les extraits éthanolique (494 μ g/ ml), acétate d'éthyle (372 μ g/ ml) et de l'extrait aqueux (371 μ g/ ml).

D'après Tsiba *et al.* (2020), la valeur d'IC₅₀ de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Cucurbita pepo* L., originaire de Brazzaville égale à une valeur de $18,28 \pm 0,02$ mg/ml qui montre un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus faible que les résultats de cette étude.

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition	IC ₅₀ (μg/ml)	
20	35.68		
40	47.86		
60	68.54	33.74	
80	89.45		
100	94.74		

Tableau 11. Pourcentages d'inhibition des radicaux libres et la valeur d'IC₅₀ d'extrait hydroalcoolique de fruits de *Cucurbita pepo* L. (Srividhya *et al.*, 2019).

Ces résultats indiquent que le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH de l'extrait hydroalcoolique de fruits de C. pepo L. augmente avec l'augmentation des concentrations de 20 à $100 \,\mu g/ml$, où l'on trouve que le pourcentage d'inhibition maximale dans la concentration $100 \, mg/ml$ égal à $94.74 \, \%$.

L'IC₅₀ de *Cucurbita pepo* L. a été rapportée par les travaux de Hashash *et al.* (2017) sur l'extrait méthanolique de fruits qui égale à 643.09±6.3 µg/ml, cette valeur a montré un effet antioxydant plus faible que le résultat obtenu (33.74 µg/ml).

D'un autre côté l'étude de Boujemaa *et al.* (2020) sur les graines de *Cucubita pepo* L. a montré que la valeur d'IC₅₀ d'extrait méthanolique égale à 586.47 ± 15.73 μg/ml, ce qui indique un pouvoir antioxydant faible que ces résultats. Et dans un autre travail réalisé par Amutha *et al.* (2014) sur le même extrait et la même partie de la plante utilisé par Boujemaa *et al.* (2020), montre que la valeur d'IC₅₀ égal à 40.8 μg /ml, qui possède une puissante activité antioxydante.

D'après tous les résultats obtenus à partir de différentes parties de *Cucurbita pepo* L. dans plusieurs extraits, ont montré qu'ils ont une activité de piégeage des radicaux libres très intéressante, où les fruits de la plante présentaient une activité antioxydante supérieure à celle des feuilles.

Cependant, ces activités antioxydantes sont différentes selon le degré de solubilité des composés phénoliques dans chaque extrait.

En effet, l'activité antioxydante n'est pas seulement dose-dépendante des polyphénols, mais également structure-dépendante (Fadili *et al.*, 2015), c'est ce qu'on appelle la relations structure-activité (RSA) (Balasundram *et al.*, 2006).

La principale caractéristique structurelle responsable de l'activité antioxydante des composés phénoliques dérivés est le groupe hydroxyle phénolique. Une augmentation du nombre de groupes hydroxyle dans le cycle phényle augmente l'activité de piégeage des radicaux, en raison au fait que plus d'atomes d'hydrogène du composé phénolique des groupes hydroxyle peuvent être donnés pour stabiliser les radicaux libres (De Pinedo *et al.*, 2007).

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques, capable d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (Ghedira, 2005). Cependant, la variation structurale des mêmes flavonoïdes affecte dans une large mesure cette activité, les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants : la présence de la groupement catéchol (la structure ortho-dihydroxy) dans le cycle B qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe dans la délocalisation des électrons, la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo, et la présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3 (Belhadj Tahar *et al.*, 2015).

A titre d'exemple, l'acide gallique et la quercétine, possède une forte activité antioxydante, qui sont les composés les plus actifs de la famille des polyphénols.

Cucurbita pepo L. contient une plus grande quantité de composés phénoliques, ces composants augmentent l'activité des enzymes qui ont l'action antioxydant, tel que le superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase. Ces enzymes ont en elles-mêmes un rôle contre les radicaux libres pour réduire les maladies chroniques (Ratnam *et al.*, 2017).

Toutefois, la meilleure synergie et la diversité des composés bioactifs englobées dans les extraits comme les tocophérols, les saponines, les polysaccharides et l'acide ascorbique, pourraient aussi contribuer à cette bonne activité antioxydante (Brglez Mojzer *et al.*, 2016).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

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

L'analyse de différents travaux de recherche sur l'activité antioxydante de feuilles et de fruits de la plante *Cucurbita pepo* L. (citrouille) a permis d'obtenir différents résultats.

La quantification par des méthodes spectrophotométriques de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux de la plante *Cucurbita pepo* L. a montre des valeurs importantes dans les différents extraits de feuilles par rapport à l'extrait hydroalcoolique de fruits.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antioxydante de *Cucurbita pepo* L. a été affirmée dans cette étude par les deux tests : La capacité antioxydante totale et le test de piégeage des radicaux libres DPPH sur différents extraits, montre que les deux parties de la plante (feuilles et fruits) présentaient une activité antioxydante, où on trouve que l'extrait hydroalcoolique de fruits possède la meilleure capacité antioxydante par rapport à celle trouvé dans les différents extraits de feuilles de la même plante.

Les piégeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs d'IC₅₀ les plus basses. L'extrait hydroalcoolique de fruits de cette plante a signalée la concentration la plus faible ce qui a montré l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH la plus élevée.

Donc, nous avons conclu que *Cucurbita pepo* L. possède une activité antioxydante très importante, et elle peut être considérée comme une bonne source de composés phénoliques nécessaires dans la prévention du stress oxydatif et l'amélioration de la santé humaine. C'est ce qui lui fait l'un des aliments les plus intéressants dans un régime alimentaire naturel et sain.

Afin de pouvoir approfondir nos résultats et mettre en place de nouvelles démarches, il est possible de suggérer les perspectives suivantes.

- Procéder différentes méthodes d'extraction et de dosage pour des rendements plus élevés.
- Etudier d'autres substances bioactives naturelles des différentes parties de la plante (Tanins, coumarines, caroténoïdes...etc.).

- Appliquer d'autre tests *in vitro* et *in vivo* pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés dans ce travail et d'autre extraits.
- Evaluer les autres activités thérapeutiques de *Cucurbita pepo* L. (anti-inflammatoire, antimicrobienne, antidiabétique...etc.).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Al Khateeb, W., Hussein, E., Qouta, L., Alu'datt, M., Al-Shara, B., Abu-Zaiton, A. 2012. In vitro propagation and characterization of phenolic content along with antioxidant and antimicrobial activities of *Cichorium pumilum* Jacq. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 110(1): 103-110.

Al-Ghamdi, S., Hong, Y. K., Qu, Z., Sablani, S. S. 2020. State diagram, water sorption isotherms and color stability of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Journal of food Engineering, 273, 109820.

Amar, C. 2010. Stress oxydatif, calcium et thermalisme. La Presse Thermale et Climatique, 147(2): 121-138.

Amutha, M., Geetha, A., Amutha, M., Monika, P. 2014. Determination of secondary metabolites, ID50 value and antioxidant activity of seed extract of *Cucurbita pepo* Linn. Asian J Pharm Clin Res, 7(3): 173-177.

Babadoost, M., Zitter, T. A. 2009. Fruit rots of pumpkin: A serious threat to the pumpkin industry. Plant disease, 93(8): 772-782.

Badu, M., Pedavoah, M. M., Dzaye, I. Y. 2020. Proximate composition, antioxidant properties, mineral content and anti-nutritional composition of *Sesamum indicum*, *Cucumeropsis edulis* and *Cucurbita pepo* seeds grown in the savanna regions of Ghana. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 26(4): 329-339.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry, 99(1): 191-203.

Bardaa, S., Ben Halima, N., Aloui, F., Ben Mansour, R., Jabeur, H., Bouaziz, M., Sahnoun, Z. 2016. Oil from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds: evaluation of its functional properties on wound healing in rats. Lipids in health and disease, 15(1): 1-12.

Barouki, R. 2006. Stress oxydant et vieillissement. Médecine/sciences, 22(3): 266-272.

Baudin B. 2020. Stress oxydant et protections antioxydantes. Revue Francophone des Laboratoires, 2020 (522): 22-30.

Belhadj Tahar S., Hadj-Mahammed M., Yousfi M. 2015. Study of the antioxidant activity of phenolic extracts of A. halimusL and Haloxylon scoparium Pomel northern Sahara. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(11): 258-264.

Bensakhria, A. 2018. Le stress oxydatif. Toxicologie générale, pp. 70-86.

Boizot, N., Charpentier, J. P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.

Boujemaa, I., El Bernoussi, S., Harhar, H., Tabyaoui, M. 2020. The influence of the species on the quality, chemical composition and antioxidant activity of pumpkin seed oil. OCL, 27: 40.

Bouzidi, N., Bouhadi, D. 2022. Évaluation de la stabilité oxydative de l'huile de tournesol aromatisée par l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso. Revue Nature et Technologie, 14(1): 14-22.

Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., Bren, U. 2016. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. Molecules, 21(7): 901.

Bussmann, W. R., Batsatsashvili, K., Kikvidze, Z., Paniagua-Zambrana, N. Y., Khutsishvili, M., Maisaia, I., Sikharulidze, S., Tchelidze, D. 2020. Ethnobotany of the Mountain Regions of Far Eastern Europe, Ural, Northern Caucasus, Turkey, and Iran, pp. 347-351.

Caili, F. U., Huan, S., Quanhong, L. I. 2006. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. Plant foods for human nutrition, 61(2): 70-77.

Cartes, P., Gianfreda, L., Mora, M. L. 2005. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. Plant and Soil, 276(1): 359-367.

Ceballos, G., Meaney, E., Ortiz-Flores, M., Nájera, N. 2021. Free radicals, oxidative stress and the Pandora box. Cardiovascular and Metabolic Science, 32(Suppl. 3): 164-167.

Chigurupati, S., AlGobaisy, Y. K., Alkhalifah, B., Alhowail, A., Bhatia, S., Das, S., Vijayabalan, S. 2021. Antioxidant and antidiabetic potentials of *Cucurbita pepo* leaves extract from the gulf region. Rasayan Journal of Chemistry, 14(4): 2357-2362.

Chlopicka, J., Pasko, P., Gorinstein, S., Jedryas, A., Zagrodzki, P. 2012. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. LWT-Food Science and Technology, 46(2): 548-555.

Constable, E. C., Housecroft, C. E. 2020. Before Radicals Were Free—the Radical Particulier of de Morveau. Chemistry, 2(2): 293-304.

Cui, Y., Miao, K., Niyaphorn, S., Qu, X. 2020. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review. International journal of molecular sciences, 21(3): 995.

Dai, J., Mumper, R. J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15(10): 7313-7352.

Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., Nassiri, L. 2015. Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea Poiret* et *Urtica pilulifera* L. Journal of Applied Biosciences, 87(1): 8094-8104.

Dar, P., Farman, M., Dar, A., Khan, Z., Munir, R., Rasheed, A., Waqas, U. 2017. Evaluation of antioxidant potential and comparative analysis of antimicrobial activity of various extracts of *Cucurbita pepo* L. leaves. Journal of Agricultural Science and Food Technology, 3(6): 103-109.

Darrudi, R., Nazeri, V., Soltani, F., Shokrpour, M., Ercolano, M. R. 2018. Genetic diversity of *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* Duchesne accessions using fruit and seed quantitative traits. Journal of applied research on medicinal and aromatic plants, 8: 60-66.

De Pinedo, A. T., Pen alver, P., Morales, J. C. 2007 Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. Food Chemistry, 103(1): 55–61.

Defraigne, J. O., Pincemail, J. 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Revue médicale de Liège, 63: 10-19.

Djenidi, H., Khennouf, S., Bouaziz, A. 2020. Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria. Progress in Nutrition, 22(1): 224-235.

El-Sayed, M. M., Hashash, M. M., Abdel-Hady, A. A., Abdel-Hady, H., Abdel-Lateef, E. E., Morsi, E. A. 2017. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of *Lantana*

camara and *Cucurbita pepo* (Squash) extracts as well as GC-MS analysis of Lantana camara essential oils. World J Pharm Res, 6(1): 137-153.

Fadili, K., Amalich, S., N'dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., El Hilali, F., Zair, T. 2015. Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. International journal of innovation and Scientific Rechearch, 17(1): 24-33.

Favier, A. 2003. Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10): 863-832.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., Oueld-Mokhtar, S. M. 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie, 13(2): 118-129.

Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4): 162-169.

Ghedira, K., Goetz, P. 2013. *Cucurbita pepo* L. (*Cucurbitaceae*) Graine de courge ou citrouille. Phytothérapie, 11(1): 46-51.

Gloria, N. F., Soares, N., Brand, C., Oliveira, F. L., Borojevic, R., Teodoro, A. J. 2014. Lycopene and beta-carotene induce cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cell lines. Anticancer research, 34(3): 1377-1386.

Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., Gülçin, İ. 2013. Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-Related Compounds. Archiv der pharmazie, 346(11): 783-792.

Goetz, P., Le Jeune, R. 2010. Huile de graine de courge, *Cucurbita pepo* convar. *Citrullina* var. *styriaca*. Phytothérapie, 8(2): 1-5.

Goudable, J., Favier, A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition clinique et metabolisme, 11(2): 115-120.

Groussard, C. 2006. Stress oxydatif et exercice anaérobie. Science & sports, 21(2): 62-67.

Gupta, M., Kanti Mazumdar, U., Gomathi, P., Sambath Kumar, R. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activities of Ervatamia coronaria Stapf. leaves. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 3(2): 119-126.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. 2007. Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, 62(10): 628-638.

Halliwell, B., Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. British journal of pharmacology, 142(2): 231-255.

Hamissou, M., Smith, A. C., Carter Jr, R. E., Triplett II, J. K. 2013. Antioxidative properties of bitter gourd (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). Emirates Journal of Food and Agriculture, 25 (9): 641-647.

Hashash, M. M., El-Sayed, M. M., Abdel-Hady, A. A., Hady, H. A., Morsi, E. A. 2017. Nutritional potential, mineral composition and antioxidant activity squash (*Cucurbita pepo* L.) fruits grown in Egypt. inflammation, 9(10): 11-12.

Hebi, M., Eddouks, M. 2016. Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. Phytothérapie, 14(1): 17-22.

Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria journal of medicine, 54(4): 287-293.

Jana, G. A., Yaish, M. W. 2020. Genome-wide identification and functional characterization of glutathione peroxidase genes in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) under stress conditions. Plant gene, 23(100237): 1-12.

Ji, X., Peng, B., Ding, H., Cui, B., Nie, H., Yan, Y. 2021. Purification, structure and biological activity of pumpkin polysaccharides: a review. Food Reviews International, 1-13.

Kaufmann, B., Christen, P. 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, 13(2): 105-113.

Kaur, C., Kapoor, H. C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science & Technology, 37(2): 153-161.

Kaur, S., Panghal, A., Garg, M. K., Mann, S., Khatkar, S. K., Sharma, P., Chhikara, N. 2019. Functional and nutraceutical properties of pumpkin–a review. Nutrition & Food Science, 50(2): 384–401.

Khouchlaa, A., Talbaoui, A., El Yahyaoui El Idrissi, A., Bouyahya, A., Ait Lahsen, S., Kahouadji, A., Tijane, M. 2017. Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique *in vitro* sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. Phytothérapie, 1-6.

Koechlin-Ramonatxo, C. 2006. Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme, 20(4): 165-177.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., Lee, C. Y. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. Journal of agricultural and food chemistry, 51(25): 7292-7295.

Lendoye, E., Makoyo, O., Bekale, S., Ndong, J. E., Edzang, R. N., Ngou-Milama, E. 2022. Évaluation de l'Activité Anti-oxydante du Sang Total, du Plasma, du Sérum et des Globules Rouges par Piégeage de l'Ion Radicalaire ABTS+. Health Sciences And Disease, 23 (2 Suppl 1): 8-13.

Lim, T. K. 2012. *Cucurbita pepo*, In Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, vol. 2, pp. 281-294.

Liu, X., Ardo, S., Bunning, M., Parry, J., Zhou, K., Stushnoff, C., Stonikerc F., Yub L., Kendall, P. 2007. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. LWT-Food Science and Technology, 40(3): 552-557.

Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technology, (9): 35-40.

Mala, K. S., Kurian, A. E. 2016. Nutritional composition and antioxidant activity of pumpkin wastes. International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences, 6(3): 336-344.

Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., Saadi, A. 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. International journal of biological and chemical sciences, 8(4): 1865-1870.

Micera, M., Botto, A., Geddo, F., Antoniotti, S., Bertea, C. M., Levi, R., Gallo, M. P., Querio, G. 2020. Squalene: More than a step toward sterols. Antioxidants, 9(8): 688.

Mondal, S., Hossain, I., Islam, M. N. 2017. Determination of antioxidant potential of *Cucurbita pepo* Linn. (An edible herbs of Bangladesh). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(5): 1016-1019.

Moraru, D. I., Ploscutanu, G., Stoica, M. 2018. Health benefits of edible round-fruited types of *Cucurbita pepo*-a short review. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 24(3): 202-206.

Mukherjee, S., Pal, D. 2021. *Cucurbita pepo* and Cucurbitacin in the Management of Anti-proliferation by JAK/STAT Pathway. Indian journal of pharmaceutical education and research, 55(1): 1-10.

Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., Gallo, M. 2019. Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. Foods, 8(7): 245.

Paris, H. S. 2016. Germplasm enhancement of *Cucurbita pepo* (pumpkin, squash, gourd: *Cucurbitaceae*): progress and challenges. Euphytica, 208(3): 415-438.

Paris, H. S., Lebeda, A., Křistkova, E., Andres, T. C., Nee, M. H. 2012. Parallel evolution under domestication and phenotypic differentiation of the cultivated subspecies of *Cucurbita pepo (Cucurbitaceae)*. Economic Botany, 66(1): 71-90.

Paris, H.S., Brown, R.N. 2005. Genes of pumpkin and squash. HortScience, 40(6):1620–1630.

Peiretti, P. G., Meineri, G., Gai, F., Longato, E., Amarowicz, R. 2017. Antioxidative activities and phenolic compounds of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seeds and amaranth (*Amaranthus caudatus*) grain extracts. Natural Product Research, 31(18): 2178-2182.

Peng, M., Lu, D., Liu, J., Jiang, B., Chen, J. 2021. Effect of roasting on the antioxidant activity, phenolic composition, and nutritional quality of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. Frontiers in Nutrition, 8: 647354.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J. O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme, 16(4): 233-239.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269(2): 337-341.

Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of agricultural and food chemistry, 53(10): 4290-4302.

Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, V. J. 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. Antioxidants, 2(1): 11-22.

Rajbhar, K., Dawda, H., Mukundan, U. 2015. Polyphenols: Methods of extraction. Sci. Revs. Chem. Commun, 5(1): 1-6.

Ratnam, N., Naijibullah, M., Ibrahim, M. D. 2017. A review on *Cucurbita pepo*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 9(9): 1190-1194.

Rolnik, A., Olas, B. 2020. Vegetables from the *Cucurbitaceae* family and their products: Positive effect on human health. Nutrition, 78, 110788.

Rouaki, F., Kanane, A. 2019. Modifications biochimiques et histologiques du foie de rat soumis à un régime contenant une huile oxydée et supplementé en vitamine E. agrobiologia, 9(1): 1188-1199.

Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A. K., Calina, D., Docea, A. O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Şen, S., Acharya, K., Bashiry, M., Selamoglu, Z., Martorell, M., Sharopov, F., Martins, N., Namieśnik, J., Cho, W. C. 2019. *Cucurbita* Plants: From Farm to Industry. Applied Sciences, 9(16): 3387.

Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., Diop, Y. M. 2015. Etude de l'activité antioxydant des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (*Verbenacea*). Int. J. Biol. Chem. Sci. 9(3): 1263-1269.

Srividhya V, Sengottuvel Thangavel, Gopala Satheeskumar K, Kanupriya J, Arihara Sivakumar G. 2019. Antioxidant potential and Phytochemical analysis of fruit extract of

Cucurbita pepo. International journal of current research in chemistry and pharmaceutical sciences. Sci, 6(3): 22-32.

Tajini, F., Bouali, Y., Ouerghue, A. 2020. Etude de la qualité nutritionnelle de fruit de *Phænix dactylifera* L.: mesure des paramètres biochimiques. Nature & Technology, 12(2): 39-49.

Thibaut, R., Laubert, M., Ejlalmanesh, T., Alzaid, F. 2021. L'élongase 2 et les acides gras polyinsaturés-Acteurs majeurs de l'inflammation. Médecine/sciences, 37(11): 987-992.

Tsiba, G., Yoca, J. E., Blondy, M. B., Thimoleon, A. B., Ongoka, P., 2020. Chemical characterization and anti-radical activity of fruits and vegetables commonly consumed in Brazzaville. Food and Nutrition Sciences, 11(8): 773.

Valenzuela, G. M., Cravzov, A. L., Soro, A. S., Tauguinas, A. L., Giménez, M. C., Gruszycki, M. R. 2014. Relación entre actividadantioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucúrbitas*pp. Dominguezia, 30(1): 19-24.

Vayssières, J. F., Carel, Y. 1999. Les Dacini (Diptera:Tephritidae) inféodés aux *Cucurbitaceae* à la Réunion: gamme de plantes-hôtes et stades phénologiques préférentiels des fruits au moment de la piqûre pour des espèces cultivées. Annales de la Société Entomologique de France, 35: 197-202.

Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. 2004. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. Current pharmaceutical design, 10(14): 1677-1694.

Wattier, J. M. 2018. Antalgiques et alternatives thérapeutiques non médicamenteuses pluridisciplinaires, RPC Endométriose CNGOF-HAS. Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie, 46(3): 248-255.

Yadav, B. S., Yadav, R., Yadav, R. B., Garg, M. 2016. Antioxidant activity of various extracts of selected gourd vegetables. Journal of food science and technology, 53(4): 1823-1833.

Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G. B. K. S., Yadav, H. 2010. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. Nutrition research reviews, 23(2): 184-190.

Yang, Y., Bazhin, A. V., Werner, J., Karakhanova, S. 2013. Reactive Oxygen Species in the Immune System. International Reviews of Immunology, 32(3): 249–270.

Younus, H. 2018. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. International Journal of Health Sciences, 12(3): 88–93.

Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiological reviews, 74(1): 139-162.

Zraidi, A., Stift, G., Pachner, M., Shojaeiyan, A., Gong, L., Lelley, T. 2007. A consensus map for *Cucurbita pepo*. Molecular Breeding, 20(4): 375-388.

Zuluaga, M., Gueguen, V., Pavon-Djavid, G., Letourneur, D. 2017. Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. Bioimpacts, 7(1): 1-3.

Site web

1. https://www.pensersante.fr/les-radicaux-libres-quest-ce-que-cest.

2.https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/422/potiron?fbclid=IwAR1vIJtW38Dr8f1PypeySVpl U30cT6k3wWgimSDNW8INZjp3DChiyqs4Hzc.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد للأكسدة في المختبر لأوراق وثمار نبات ... Cucurbita pepo L (اليقطين) في مستخلصات مختلفة. أظهر تحديد إجمالي البوليفينول بواسطة كاشف فولين سيوكالتو والفلافونويد الكلي بواسطة ثلاثي كلوريد الألومنيوم أن مستخلص ن- بوتانول، الذي تم الحصول عليه من الأوراق، قدم أعلى محتوى من البوليفينول (93.62 مجم GAE / جم من المستخلص)، وأن أسيتات الإيثيل لمستخلص الأوراق أعطى أعلى محتوى من الفلافونويد (76.92 ملجم QE / جم من المستخلص) مقارنة بالمستخلصات الأخرى المختبرة. أعطت نتائج القدرة الكلية المضادة للأكسدة لأوراق النبات أعلى قيمة في مستخلص ن- بوتانول والتي تقدر بقيمة 1C₅₀ تساوي 350 ميكروجرام / مل في مستخلص ن-بوتانول للأوراق والمستخلص المائي الكحولي للثمار على التوالي. أكدت نتائج هذا العمل أن جميع مستخلصات نبات النوالي. أكدت نتائج هذا العمل أن جميع مستخلصات نبات المدووسة لها خصائص مضادة للأكسدة جيدة جدًا.

الكلمات المفتاحية: التأثير المضاد للأكسدة، في المختبر، .DPPH ، Cucurbita pepo L. إجمالي البوليفينول.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antioxydant *in vitro* des feuilles et des fruits de la plante *Cucurbita pepo* L. (citrouille) dans différents extraits. Le dosage de polyphénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteau et de flavonoïdes totaux par le trichlorure d'aluminium a montré que l'extrait n-butanolique, obtenu à partir des feuilles, a procuré le taux en polyphénols le plus élevé (93.62 mg GAE/g d'extrait), et que l'extrait acétate d'éthyle des feuilles a donné la teneur en flavonoïdes le plus remarquable (76.92 mg QE /g d'extrait) par rapport aux autres extraits testés. Les résultats de la capacité antioxydante totale de feuilles de la plante ont donné la valeur la plus élevée dans l'extrait n-butanolique qui est estimée par une valeur de 484.75 mg AAE /g d'extrait. Ainsi que les résultats du test de DPPH ont montré des valeurs d'IC₅₀ égales à 359 μg/ ml et 33.74 μg/ ml dans l'extrait n-butanolique des feuilles et l'extrait hydroalcoolique de fruits, respectivement. Les résultats de ce travail ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de *Cucurbita pepo* L. étudiés présente de très bonnes propriétés antioxydantes.

Mots clé: Effet antioxydant, *In vitro*, *Cucurbita pepo* L., DPPH, Polyphénols totaux.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant effect *in vitro* of the leaves and fruits of the plant *Cucurbita pepo* L. (pumpkin) in different extracts. The dosage of total polyphenols by the Folin-Ciocalteau reagent and total flavonoids by aluminum trichloride showed that the n-Butanolic extract, obtained from the leaves, provided the highest polyphenol content (93.62 mg GAE/g of extract), and that the ethyl acetate extract of the leaves gave the most remarkable flavonoid content (76.92 mg QE/g of extract) compared to the other extracts tested. The results of the total antioxidant capacity of plant leaves gave the highest value in the n-Butanolic extract which is estimated by a value of 484.75 mg AAE / g of extract. As well as the results of the DPPH test showed IC50 values equal to 359 μ g/ml and 33.74 μ g/ml in the n-butanol extract of the leaves and the hydroalcoholic extract of the fruits, respectively. The results of this study have confirmed that all extracts of *Cucurbita pepo* L. studied have excellent antioxidant properties.

Keywords: Antioxidant effect, *In vitro*, *Cucurbita pepo* L., DPPH, Total polyphenols.