

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biochimie appliquée

Département : Biologie

Thème

Evaluation pharmacologique d'une plante médicinale algérienne

Présenté par :

- Taleb Ikram
- Tlidjani Warda

Devant la commission composée de :

Président : Dr. Braik . A M.C.B Université de 08 mai 1945 Guelma

Examineur : Dr. Yakhlef . M M.C.B Université de 08 mai 1945 Guelma

Encadreur : Dr. Aissani . F M.C.B Université de 08 mai 1945 Guelma

Juin 2024

Remerciement

En premier lieu, nous rendons grâce à « dieu » tout puissant pour nous avoir donné la force, le courage, la volonté, la santé et surtout la patience d'aller jusqu'à au bout de notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury :

Mme Braik.A, Maître-de conférence à l'université de Guelma, pour nous avoir honorai de sa présidence du jury de notre mémoire de master.

Mme Yakhlef.M, Maître-de conférence à l'université de Guelma, pour avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et gratitude à notre encadreur MADAME Aissani. F, pour nous avoir proposé ce thème de recherche, pour son suivi et son encadrement et diriger ce travail par excellence, aussi bien pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils et suggestions.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire de notre faculté, surtout madame Nassima, Ratiba, Hannane et Mr MEHDI pour avoir été à notre écoute et avoir mis à notre disposition les moyennes nécessaires à la réalisation de ce projet et ils ont été un grand soutien moral au cours de ces mois de travail.

Nous témoignant enfin notre sincère remerciement et gratitude à nos parents, nos frères et sœurs et à nos amies.

A toutes personnes qui a participé de près ou de loin, durant l'élaboration de ce travail.

Merci à tous

Dédicace

Grace à l'aide d'Allah, le tout puissant, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A ma très chère mère

Mon amour éternel, tout au long de ce parcours tu as été la source de ma force et de ma détermination. Tu as toujours eu confiance en moi et tu as été ma plus grande admiratrice. Ce travail témoigne de ton amour, de ton sacrifice et de ton soutien.

A mon cher père

Qui m'a toujours poussé dans mes études, pour ton sacrifice, tes conseils, encouragements et tes soutiens merci pour tous.

A vous mes parents, je dis merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui. aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects et ma grande admiration pour vous, que dieu vous garde pour moi.

A ma sœur Lina, qui m'a toujours soutenu, je vous souhaite tout le bonheur du monde. Je suis fière d'avoir la meilleure sœur au monde.

A ma belle Ismahane, pour ton soutien moral, tes efforts et encouragements.

A mes frères Youcef et Mohammed Ali, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour qu'ALLAH les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mes tantes Salima, Latifa, Ghania, Hakima

Spécialement à mes fidèles amies: Rayen, Nawel, Sara, Imane, Amina et Wiem

A mon binome Warda pour ta sympathie

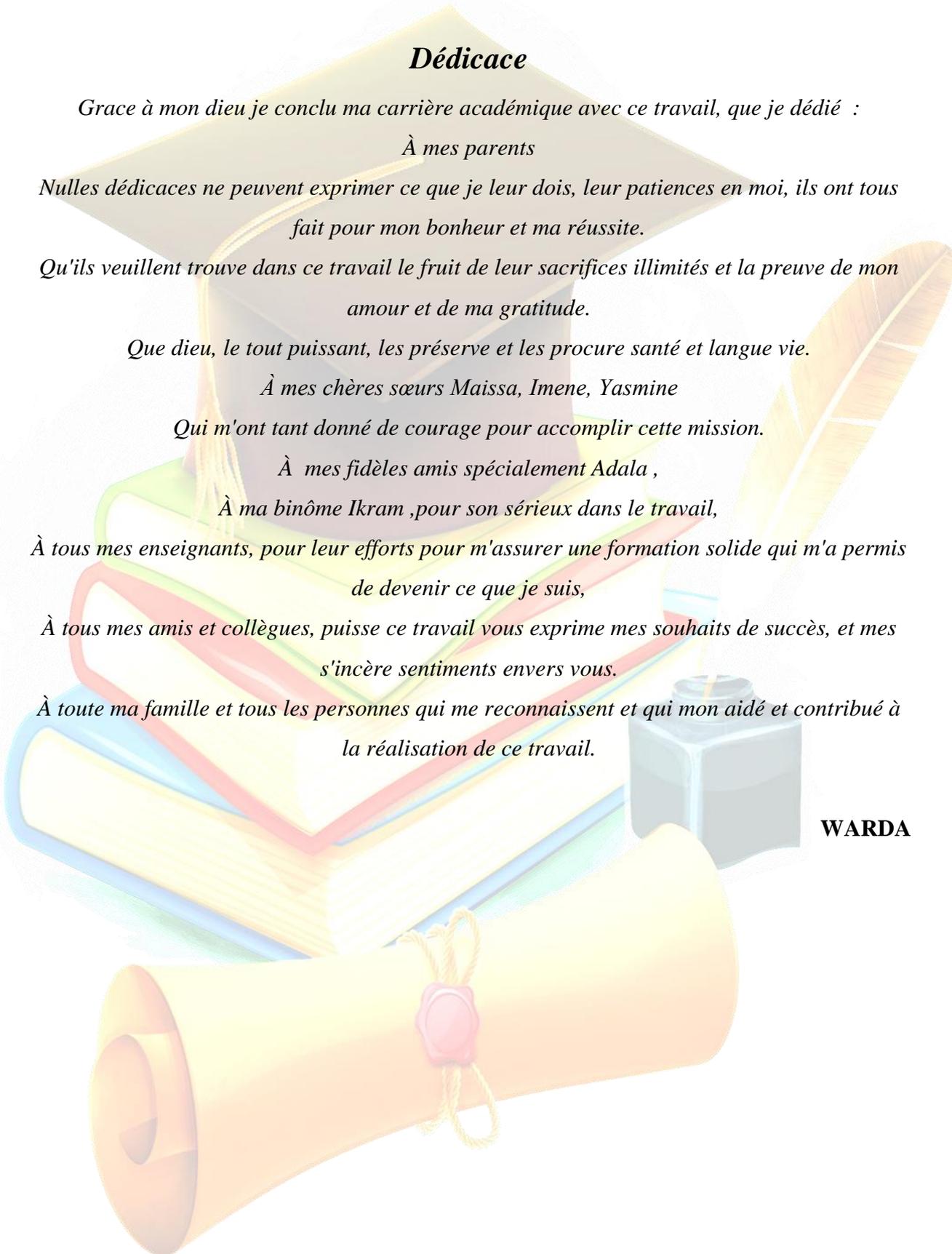
A tous les enseignants qui nous suivi au long de notre parcours universitaire

A tous les personnes qui m'ont vraiment soutenu et aidé de près ou de loin

Pour finir, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dédie ce mémoire.

Que dieu vous paye pour tous vos bienfaits.

Ikram



Dédicace

Grace à mon dieu je conclu ma carrière académique avec ce travail, que je dédié :

À mes parents

Nulles dédicaces ne peuvent exprimer ce que je leur dois, leur patiences en moi, ils ont tous fait pour mon bonheur et ma réussite.

Qu'ils veuillent trouve dans ce travail le fruit de leur sacrifices illimités et la preuve de mon amour et de ma gratitude.

Que dieu, le tout puissant, les préserve et les procure santé et langue vie.

À mes chères sœurs Maissa, Imene, Yasmine

Qui m'ont tant donné de courage pour accomplir cette mission.

À mes fidèles amis spécialement Adala ,

À ma binôme Ikram ,pour son sérieux dans le travail,

À tous mes enseignants, pour leur efforts pour m'assurer une formation solide qui m'a permis de devenir ce que je suis,

À tous mes amis et collègues, puisse ce travail vous exprime mes souhaits de succès, et mes s'incère sentiments envers vous.

À toute ma famille et tous les personnes qui me reconnaissent et qui mon aidé et contribué à la réalisation de ce travail.

WARDA

Tableau des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction 1

Partie bibliographique

Revue Bibliographique

1.1 Le stress oxydatif et les antioxydants..... 6

1.1.1 Le stress oxydatif 6

1.1.2 Les radicaux libres..... 6

1.1.3 Les cibles moléculaires des radicaux libres 7

1.1.4 Les antioxydants naturels 8

1.1.4.1 Défense enzymatique 8

1.1.4.2 Défenses non enzymatiques 8

1.2 L'inflammation 11

1.2.1 Définition 12

1.2.2 Les types d'inflammation et les phases du processus inflammatoire..... 12

1.2.2.1 L'inflammation aiguë..... 12

1.2.2.2 L'inflammation chronique 12

1.2.3 Les anti-inflammatoires 13

1.2.4 Les anti-inflammatoire stéroïdiens (corticoïdes) 13

1.2.5 Les anti-inflammatoire non stéroïdiens..... 13

1.2.6 Les anti-inflammatoire d'origine végétale 14

1.2.7. La dénaturation des protéines (BSA) 14

1.2.8. Activité analgésique..... 14

1.3 Citrouille..... 14

1.3.1 Description botanique et noms vernaculaires 15

1.3.2 Répartition géographique de la citrouille 16

1.3.3 Classification systématique 16

1.3.4 . Composition phytochimique 17

1.3.5 Usage traditionnel et activité biologique des différentes parties :.....	17
1.3.6. La toxicité de la citrouille	19

Deuxième partie

Matériels et méthodes

1.1. Matériel végétal.....	21
1.1.1. Préparation de la poudre des écorces et des pulpes.....	21
1.1.2. Préparation de la poudre des graines	22
1.2. Matériel animal.....	22
2.2. Méthodes expérimentales.....	22
2.2.1. Extraction par Ultrasons (UAE) des différentes parties de la plante	22
2.2.2. Extraction des caroténoïdes par macération (MAC).....	23
2.2.3. Extraction du polysaccharide brut de la citrouille	23
2.2.4. Extraction d'huile des graines de citrouille	24
2.4. Quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux	26
2.4.1. Dosage des polyphénols totaux (TPT)	27
2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFT)	27
2.5. activité antioxydant	28
2.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	28
2.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines	28
2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	29
2.7.1. Méthodes d'étude de l'activité analgésique (Test du writhing)	29
2.8. La toxicité aiguë	31
2.9. Analyse statistique	32

Résultats et discussion

3.1. Rendement de l'extraction	34
3. 2. Criblage phytochimique.....	35
3.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)	36
3.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux (TPT).....	36
3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFT).....	38
4. Activité antioxydante.....	40

4.1. Piégeage du radical libre DPPH	40
5. Activité Anti-inflammatoire.....	41
5.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro.....	41
5.1.1. Inhibition de la dénaturation du BSA	41
6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo.....	42
6.1. Activité analgésique (test du writhing)	42
7. La toxicité aiguë	43
Conclusion	45
Références bibliographiques.....	45
Annexes	

Liste d'abréviations

%: pourcentage.

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BSA : Sérum Bovine Albumine

AA : acide ascorbique

AG : acide gallique

ADN : Acide désoxyribonucléique

DPPH : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

ERO : Espèces réactives oxygénées

SOD: Superoxyde dismutase

RNS : espèces réactives de l'azote

EX : Extraits

MAC : macération

UAE : ultrasons

FCR : Folin-Ciocalteu

H₂O: Eau

HCl: Acide chlorhydrique

NaOH: Hydroxyde de sodium

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄: Acide Sulfurique

FeCl₃ : Chlorure de fer

Fe: Fer

UV: Ultra-violet

R : rendement

i.p : intra-péritonéale

ns : non significatif

A: Absorbance

I%: pourcentage d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50%

mg EAG/g E : milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme d'extrait

mg EQ/g E : milligramme Equivalent quercéteine par gramme d'extrait

TFT: Teneur en Flavonoïdes Totaux

TPT: Teneur en Polyphénols Totaux

C.pepo L : Cucurbita pepo L

Liste des figures

Figure 1 : Molécule d'α-tocophérol, biologiquement la molécule la plus active de la vitamine E	9
Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C	10
Figure 3 : Structure chimique de vitamine A.	10
Figure 4 : Morphologie de la citrouille	15
Figure 5 . Les feuilles et fleurs de la citrouille	15
Figure 6 : Aspects morphologique de Cucurbita pepo L. (Photo originale).....	21
Figure 7 : Répartition géographique de la plante Cucurbita pepo L.	21
Figure 8 :Pulpe (A) et écorce (B) de C. pepo L pendant le séchage.	22
Figure 9 : Extraction par ultrason 'UAE' des différents parties du C.pepo L.	23
Figure 10 : Injection intra-péritonéale d'huile des graines de C. pepo L.	31
Figure 11 : Administration par voie orale d'huile de C.pepo L.	31
Figure 13 : Teneurs des polyphénols totaux dans les différents extraits bruts de la plante étudiée. ...	37
Figure 14 :Teneurs des flavonoïdes totaux dans les différents extraits bruts de la plante étudiée.	38
Figure 15 :Effet toxique d'huile des grains de C.pepo L sur les organes de Mus musculus...	44

Liste des tableaux

Tableau n° 1: Classification systématique de Cucurbita (Vanier, 2007).....	16
Tableau n° 2: Les principaux composants chimiques des différentes parties de la citrouille.	17
Tableau n° 3: Les principaux usages traditionnels des différentes parties de la citrouille et leurs activités biologiques (Ratnam et al., 2017 ; Adnan et al.,2017).....	18
Tableau n° 4: Rendement d'extraction (%) de C.pepo L par différents solvants et méthodes d'extraction.....	34
Tableau n° 5: Profils phytochimiques des différents extraits de Cucurbita pepo L.....	36
Tableau n° 6: Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS) des différents extraits.....	37
Tableau n° 7: Teneurs en Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS) des différents extraits.....	39
Tableau n° 8: Pourcentages d'inhibition des radicaux libres et la valeur d'IC50 des extraits de C.pepo L.	40
Tableau n° 9: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits de C.Pepo.L.	41
Tableau n° 10: Effets de l'aspirine et l'huile des graines de C.pepo L sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les souris.	42



Résumé

Résumé

Résumé

La citrouille, traditionnellement employée en médecine pour traiter des affections inflammatoires, a été au cœur de notre étude visant l'évaluation *in vitro* et *in vivo* (sur des souris *Mus musculus*) de ses propriétés antioxydantes, analgésiques, anti-inflammatoires, ainsi que de sa toxicité.

L'expérimentation a comporté l'extraction de composés à partir de différentes parties de *C.pepo L*, en utilisant des méthodes de macération et d'ultrasons avec des solvants binaires et ternaires, ainsi que l'extraction d'huile essentielle des graines par ultrasons, suivie d'un screening phytochimique. Les rendements atteints par macération et ultrasons étaient de 21,53 % et 20,26% respectivement, tandis que l'extraction d'huile a affiché 62,50% avec l'UAE.

Le screening phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, stérols, triterpènes, et coumarines, mais une absence de polyphénols, tanins, saponosides, gommes et mucilages. Cependant, des teneurs conséquentes en polyphénols et flavonoïdes ont été observées, avec respectivement $3,32 \pm 0,48$ mg EAG/g d'extrait et $5,09 \pm 0,62$ mg EQ/g d'extrait.

L'activité antioxydante, mesurée via le test de DPPH, a démontré une efficacité notable des extraits, avec un IC_{50} variant de 7,28 à 36,97 $\mu\text{g/mL}$. L'activité anti-inflammatoire *in vitro*, évaluée par l'inhibition de la dénaturation des protéines BSA, a indiqué que l'extrait de polysaccharide de pulpe présentait une importante activité, avec un taux d'inhibition de $129,8 \pm 63,9$ %.

Les tests *in vivo* sur l'activité analgésique, réalisés via la méthode de writhing, ont montré que l'huile de *C.pepo L* réduit efficacement les crampes abdominales à hauteur de $91,23 \pm 2,5$ %. Les études sur la toxicité aiguë ont révélé que la LD_{50} de l'huile excédait 2000 mg/kg PC, sans manifester de toxicité ni mortalité.

En conclusion, notre étude confirme la viabilité de *C.pepo L* comme source naturelle de composés ayant des effets bénéfiques en termes antioxydants, analgésiques et anti-inflammatoires, avec une absence de toxicité, soutenant son usage traditionnel et son potentiel pharmaceutique.

Mots-clés : *Cucurbita pepo L*, Etude phytochimique, polyphénols totaux, antioxydant, anti-inflammatoire, activité analgésique, toxicité aiguë, DL_{50} .

Abstract

Abstract

Pumpkin, traditionally used in medicine to treat inflammatory conditions, was the focus of our study aiming at the evaluation of its antioxidant, analgesic, anti-inflammatory properties, as well as its toxicity, both *in vitro* and *in vivo* (on *Mus musculus* mice).

The experimental work involved extracting compounds from different parts of *C.pepo L*, using maceration and ultrasonic methods with binary and ternary solvent mixtures, as well as extracting essential oil from the seeds via ultrasonics, followed by a phytochemical screening. The yields achieved by maceration and ultrasound were 21.53% and 20.26% respectively, while the oil extraction showed a yield of 62.50% with UAE.

The phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, sterols, triterpenes, and coumarins, but a total absence of polyphenols, tannins, saponins, gums and mucilages. However, significant contents of polyphenols and flavonoids were observed, with 3.32 ± 0.48 mg GAE/g extract and 5.09 ± 0.62 mg QE/g extract, respectively.

The antioxidant activity, measured via the DPPH free radical scavenging test, demonstrated a notable efficacy of the extracts, with an IC_{50} ranging from 7.28 to 36.97 $\mu\text{g/mL}$. The *in vitro* anti-inflammatory activity, evaluated by the inhibition of BSA protein denaturation, indicated that the polysaccharide pulp extract had significant anti-inflammatory activity, with an inhibition rate of $129.8 \pm 63.9\%$.

The *in vivo* analgesic activity tests, conducted through the writhing method, showed that the oil from *C.pepo L* effectively reduced abdominal cramps by up to $91.23\pm 2.5\%$. Acute toxicity studies revealed that the LD_{50} of the oil exceeded 2000 mg/kg BW, without showing any toxicity or mortality.

In conclusion, our study confirms the viability of *C.pepo L* as a natural source of compounds with beneficial antioxidant, analgesic, and anti-inflammatory effects, and without toxicity, supporting its traditional use and pharmaceutical potential.

Keywords : *Cucurbita pepo L*, Phytochemical study, Total polyphenols, Antioxidant, Anti-inflammatory, Analgesic activity, Acute toxicity, LD_{50} .

ملخص :

اليقطين، الذي كان يُستخدم تقليديًا في الطب لعلاج الالتهابات، كان محور دراستنا التي هدفت إلى تقييم خصائصه المضادة للأكسدة، والمسكنة، والمضادة للالتهاب، بالإضافة إلى سميته داخل الجسم وخارجه (على فئران موس مسكولوس).

أشرفت التجربة على استخلاص المركبات من أجزاء مختلفة من *C. pepo L* ، باستخدام طرق الماصرة والموجات فوق الصوتية مع مذيبات ثنائية وثلاثية، وكذلك استخلاص الزيت العطري من البذور بواسطة الموجات فوق الصوتية، تلاه فحص فيتوكيميائي. وكانت العوائد المحققة من الماصرة والموجات فوق الصوتية 21,53% و 20,26% على التوالي، بينما أظهر استخلاص الزيت نسبة 62,50% باستخدام الـ UAE.

كشفت الفحص الفيتوكيميائي عن وجود الفلافونويدات، والألكالويدات، والستيرولات، والترانترينينات، والكومارينات، ولكن لم يتم العثور على البوليفينولات، والتانينات، والسابونينات، والصبوغ والموسيلاج. ومع ذلك، تم ملاحظة محتويات كبيرة من البوليفينولات والفلافونويدات، بنسبة 3,32±0,48 mg EAG/g و 5,09±0,62 mg EQ/g.

أظهر النشاط المضاد للأكسدة، المقاس عن طريق اختبار DPPH يتراوح من 7,28 إلى 36,97 ميكروغرام/مل. تمت تقييم النشاط المضاد للالتهاب بواسطة تحليل تثبيط بروتين BSA ، كفاءة ملحوظة للمستخلصات، وأظهرت النتائج أن مستخلص البوليسكاريد من اللب يتمتع بنشاط مضاد للالتهاب قوي، بمعدل تثبيط 63,9 ± 129,8%. أظهرت الاختبارات داخل الجسم على النشاط المسكن، المجراة باستخدام طريقة الـ writhing ، أن زيت *C. pepo L* يقل بشكل فعال من تقلصات البطن بنسبة 2,5±91,23%.

كشفت الدراسات حول السمية الحادة أن LD50 للزيت تفوق 2000 ملغ/كغ من وزن الجسم، دون إظهار أي سمية أو وفيات .

في الختام، تؤكد دراستنا على قابلية *C. pepo L* كمصدر طبيعي للمركبات التي لها تأثيرات إيجابية كمضادات للأكسدة، ومسكنات، ومضادات للالتهاب، دون وجود سمية، مما يدعم استخدامها التقليدي وإمكانية استخدامها في الصيدلة.

الكلمات المفتاحية: *Cucurbita pepo L* ، دراسة فيتوكيميائية، مجموع البوليفينولات، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهاب، نشاط مسكن، السمية الحادة، LD50.



Introduction

Introduction

Le stress oxydatif et l'inflammation constituent des facteurs clés dans le développement de maladies chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde (RA). Le stress oxydatif, en particulier, est essentiel dans l'émergence et l'évolution des troubles articulaires (**Knigh**, 2000). Les lésions oxydatives sont provoquées par l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) au cours de la vie. Ces lésions, associées aux radicaux présents dans l'ADN, les protéines et les lipides, jouent un rôle primordial dans le processus de développement de ces affections (**Anderson et al**, 2012).

L'inflammation joue un rôle crucial en tant que mécanisme de défense pour maintenir l'intégrité du corps humain. Cependant, elle est également associée à de nombreuses pathologies. De son côté, le stress oxydatif est impliqué dans une variété de maladies, incluant l'inflammation, le cancer, les maladies cardiovasculaires et la polyarthrite rhumatoïde. Par conséquent, l'identification de composés d'origine végétale aux effets anti-inflammatoires et antioxydants est essentielle pour promouvoir la santé et minimiser les risques liés à l'utilisation de substances synthétiques (**Meziti**, 2018).

À l'heure actuelle, le traitement de l'inflammation repose sur l'utilisation d'agents anti-inflammatoires, y compris les stéroïdes (glucocorticoïdes) et des médicaments non stéroïdiens comme l'aspirine. Malgré leur efficacité, les effets secondaires associés à ces substances peuvent limiter leur usage sur le long terme (**Belkacemi**, 2014).

L'intérêt porté aux plantes médicinales pour le traitement des maladies s'explique souvent par leur faible toxicité, en raison de leur provenance naturelle. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, près de 80 % de la population mondiale se tourne vers la médecine traditionnelle pour ses besoins de santé (**Gomes et al**, 2012). De plus, les plantes sont une source riche en phyto-nutriments, des composés biologiquement actifs dotés de propriétés préventives ou protectrices, qui jouent un rôle clé dans la défense de l'organisme (**Amutha et al**, 2014).

Au cours des dernières années, l'utilisation des déchets de fruits et légumes pour réduire la pollution environnementale a considérablement progressé, notant que ces rebuts sont d'importantes sources de polyphénols. Les résidus issus de l'agriculture et de l'industrie représentent une opportunité précieuse pour l'extraction d'antioxydants naturels et de fibres alimentaires (**Al-Sayed & Ahmed**, 2013).

Les recherches ont mis en lumière la présence de composants bioactifs en quantités notables dans les graines, écorces, tiges, feuilles et noyaux. Face à la demande croissante pour

Introduction

des aliments fonctionnels et des alternatives saines, l'industrie agroalimentaire a reconnu l'importance d'incorporer des additifs naturels dans leurs produits pour en augmenter la valeur nutritionnelle et apporter des bienfaits pour la santé. L'exploration des composants bioactifs, notamment ceux de nature phénolique, a donc gagné en intérêt pour valoriser les déchets agro-alimentaires en produits bénéfiques (**Kandemir et al, 2022**).

Cucurbita pepo L. (citrouille), une plante alimentaire de la famille des *Cucurbitacées*, est reconnue mondialement et largement cultivée en Algérie, où elle représente une culture légumière majeure pouvant s'incorporer facilement dans notre régime alimentaire quotidien. En raison de ses multiples composants bioactifs, la citrouille est réputée pour ses propriétés médicinales, incluant des actions antidiabétiques, anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes (**Ratnam et al, 2017**).

Il est important de noter que l'étude de *Cucurbita pepo L.* comme source d'extraction est un domaine encore peu exploré, d'où l'existence limitée de références sur le sujet et des résultats relativement nouveaux.

Notre étude vise précisément à évaluer les effets antioxydants et anti-inflammatoires des différents extraits de *Cucurbita pepo L.* Pour ce faire, notre travail est structuré comme suit :

- Un premier chapitre comprenant une revue bibliographique détaillée, subdivisée en trois parties : le stress oxydatif et les antioxydants, l'inflammation, et un aperçu général sur *Cucurbita pepo L.* (citrouille).
- Une partie expérimentale ciblant les objectifs suivants : préparation des extraits de *Cucurbita pepo L.* via diverses méthodes d'extraction, analyse phytochimique pour identifier les composés phénoliques et quantification par spectrophotométrie des polyphénols et flavonoïdes, évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante via la méthode DPPH, évaluation *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire via l'inhibition de la dénaturation protéique, mesure *in vivo* de l'impact anti-inflammatoire de l'huile de la plante par le test de contorsions et évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë de l'huile.
- Présentation et discussion des résultats à la lumière de la littérature scientifique existante.

Nous concluons par un résumé des découvertes majeures de notre recherche.

Introduction



Partie bibliographique



Revue Bibliographique

1.1 Le stress oxydatif et les antioxydants

Le stress oxydatif et les antioxydants sont des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et le grand public. Ces concepts ne sont pas nouveaux car dans les années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà mentionné la toxicité de l'oxygène pour expliquer le processus de vieillissement. Le mode de vie actuel, comme le tabagisme et l'obésité, ainsi que les mauvaises habitudes alimentaires, augmentent considérablement la production de radicaux libres dans le corps. À long terme, cela peut entraîner des effets néfastes sur l'organisme. De nos jours, il y a un intérêt croissant pour la biologie des radicaux libres en raison de leur implication dans de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Ghanem et al, 2019**).

1.1.1 Le stress oxydatif

Le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre la production d'oxydants, également appelés espèces réactives de l'oxygène (ROS), et les molécules antioxydantes, en faveur des oxydants (**Lavoie, 2012**). Il se produit lorsque les molécules oxydantes, appelées radicaux libres, sont générées à un rythme plus élevé que ce que l'organisme peut neutraliser (**Tremellen, 2008**). Cette situation peut être causée par un manque ou une défaillance des systèmes antioxydants, des problèmes de production, de distribution ou une augmentation excessive des prooxydants (**Brenneisen et al, 2005**).

Le terme "prooxydant" fait référence à toute substance réactive composée d'oxygène et d'azote, qu'elle soit radicale ou non radicale (**Achach, 2006**).

1.1.2 Les radicaux libres

La stabilité d'un composé chimique, qu'il s'agisse d'un atome, d'une molécule ou d'un ion, est déterminée par l'arrangement des électrons présents dans sa couche externe. Dans un composé stable, tous les électrons sont appariés (**Émérite.J et al, 1986**).

Les radicaux libres, y comprennent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS) proviennent de deux sources : endogènes (mitochondries, peroxysomes, réticulum endoplasmique, phagocytes, etc.) et de sources externes (pollution, alcool, fumée de tabac, métaux lourds, métaux carbonés, métaux de transition, les solvants industriels, les pesticides, certains médicaments (comme l'halothane), acétaminophène et radiations) (**Phaniendra et al., 2015**).

Un radical libre est une espèce chimique dont la couche périphérique est équipée d'un électron célibataire. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent

partagent une caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène. C'est pourquoi on les appelle espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou de l'azote (ERA ou RNS). (**Serteyn 2002**)

Rôle des radicaux libres

- Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans notre organisme en régulant la circulation sanguine dans nos artères, en luttant contre les infections et en maintenant notre cerveau vigilant et concentré.
- Les cellules phagocytaires, qui jouent un rôle dans la défense de l'organisme, génèrent et utilisent des radicaux libres d'oxygène pour éliminer les bactéries et autres cellules étrangères qu'elles ingèrent.
- De la même manière que les antioxydants, certains radicaux libres à faible concentration sont des molécules de signalisation, c'est-à-dire qu'ils activent ou inhibent des gènes.
- Certaines cellules immunitaires produisent en grande quantité des radicaux libres tels que l'oxyde nitrique et le superoxyde pour neutraliser les virus et les bactéries.
- Certains radicaux libres sont capables de tuer les cellules cancéreuses. En réalité, certains médicaments anticancéreux visent à augmenter la présence de radicaux libres dans le corps (**Khan et al., 2018**).

1.1.3 Les cibles moléculaires des radicaux libres

Lorsque les phénomènes radicalaires fondamentaux sont perturbés, cela peut entraîner des dysfonctionnements dans le corps (**Boubekri, 2014**). L'augmentation anormale de l'intensité de ces phénomènes dépasse la quantité disponible d'antioxydants. À la suite de ce déséquilibre, une agression connue sous le nom de "stress oxydatif" se produit. (**Benhamou, 2012**).

Les concentrations élevées d'ERO, en raison de leur nature instable, sont extrêmement réactives et peuvent servir de médiateurs importants de dommages cellulaires, causant ainsi des dégâts considérables (**Saidi, 2019**). En effet, elles peuvent :

- Désactiver les protéines et les enzymes,
- Oxyder les sucres (glucose),

Revue bibliographique

- Provoquant des ruptures et des mutations dans l'ADN,
- Induire les processus de peroxydation lipidique dans les acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire (**Heim et al., 2002**)

1.1.4 Les antioxydants naturels

Notre organisme possède des systèmes de défense antioxydants propres pour lutter contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) nocives, (**Saffidine, 2015**). Les défenses antioxydants comprennent toutes les molécules capables de résister aux ERO excessifs et de protéger les cellules et les tissus contre les dommages oxydatifs. Cela comprend des molécules non enzymatiques et plusieurs systèmes enzymatiques (**Laouafa, 2018**).

1.1.4.1 Défense enzymatique

Ce système immunitaire utilise principalement trois enzymes :

a. Super oxyde dismutase (SOD)

Il décompose l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène (**Benhamou, 2012**).



b. La catalase

La catalase est une enzyme capable de convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en molécules d'oxygène (**Gueye, 2007**).



c. Glutathion peroxydase

En raison de leur capacité à détoxifier le peroxyde d'hydrogène, les glutathions peroxydases sont sans doute l'un des principaux systèmes enzymatiques de protection (**Gueye, 2007**).

Enzyme à cofacteur du sélénium se localisent dans le cytoplasme et la matrice mitochondriale. Son activité est de dégrader les peroxydes organiques (ROOH) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Benhamou, 2012**).

1.1.4.2 Défenses non enzymatiques

1.4.2.1 Les vitamines

a. La vitamine E ou tocophérol

Revue bibliographique

L'une des familles de tocophérols est la vitamine E. Cette famille est composée de quatre substances : l' α -tocophérol, qui est la vitamine E en soi le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol. Ces substances partagent de nombreuses similitudes structurales avec quatre autres molécules de la famille des tocotriénols (l' α -tocotriénol, le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et le δ -tocotriénol) (Guiga, 2019).

Les propriétés anticoagulantes et antioxydantes de cette vitamine liposoluble sont évidentes. Il s'agit d'un agent réducteur car il protège les lipides des membranes cellulaires de l'oxydation. C'est le principal antioxydant des milieux lipidiques (membrane plasmique, lipoprotéine). Elle réduit les intermédiaires radicalaires, ce qui empêche la chaîne d'oxydation de fonctionner (Guillouty, 2016).

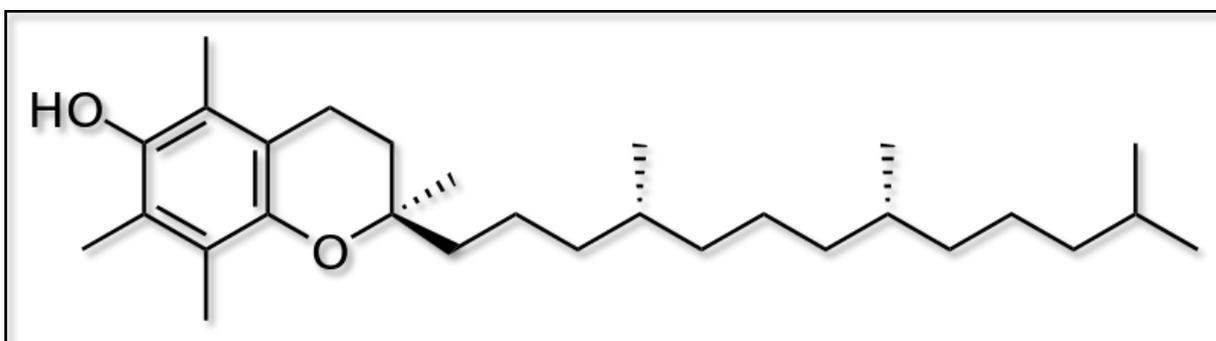


Figure 1 : Molécule d' α -tocophérol, biologiquement la molécule la plus active de la vitamine E (Guillouty, 2016).

b. La vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C, également appelée acide ascorbique, est un antioxydant qui combat les radicaux libres (Thomas, 2020). Il s'agit d'une molécule hydrophile présente dans de nombreux fruits tels que les oranges, les citrons et les fraises. Le fait qu'il soit hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire (Desmier, 2016).

La vitamine C renforce les défenses naturelles de l'organisme et participe à de nombreux métabolismes. Bien que la vitamine C puisse capturer les radicaux libres, son principal pouvoir antioxydant réside dans sa capacité à régénérer la vitamine E dans la membrane (Guillouty, 2016).

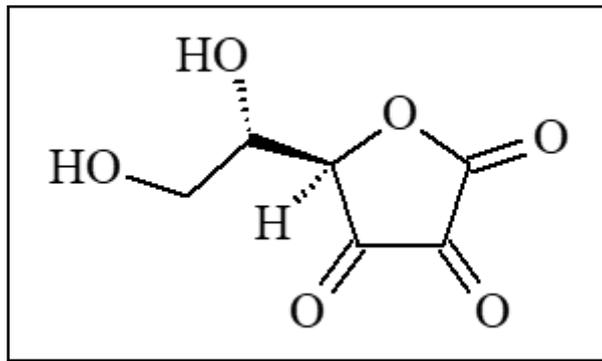


Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C (Guillouty, 2016).

c. La vitamine A ou Rétinol

Représente un groupe de molécules qui sont proches et interconnectées biologiquement, y compris le rétinol (en forme alcool) et ses formes oxydées, le rétinol (en forme aldéhyde) et l'acide rétinoïque (en forme acide). C'est également un antioxydant liposoluble dont la forme la plus active est le rétinol.

Les précurseurs de la vitamine A sont des caroténoïdes, dont le bêta-carotène le plus connu. Beaucoup de fruits et de légumes les utilisent comme colorants jaunes à rouge.

Il existe principalement deux groupes de caroténoïdes qui sont des puissants neutraliseurs des ERO : Les caroténoïdes porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et cryptoxanthine) et ceux qui n'ont pas d'oxygène sont les deux groupes les plus puissants de neutraliser les ERO. Comme ils sont plutôt lipophiles, ils sont présents dans les compartiments lipidiques (Guillouty, 2016).

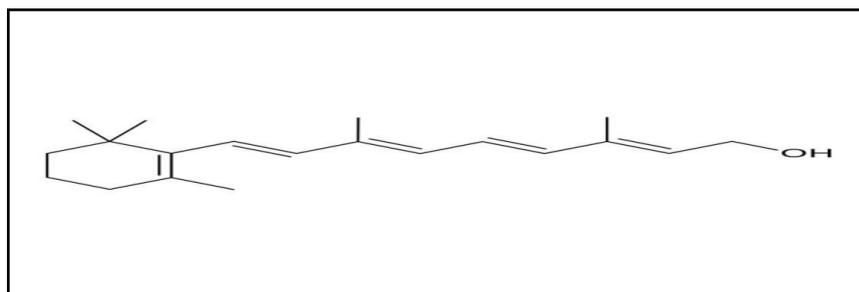


Figure 3: Structure chimique de vitamine A (Desmier, 2016).

1.4.2.2 Les oligo-éléments

a. Le sélénium

Le sélénium est un oligoélément retrouvé dans tous les organes du corps humain mais il est tué principalement dans le foie, les reins, le sang, le cerveau et les muscles cardiaques et

les testicules. Le sélénium sert principalement à des fins biologiques en tant qu'antioxydant (Guillouty, 2016).

b. Le cuivre

Étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé, le cuivre est l'un des cofacteurs essentiels du superoxyde dismutase (SOD). Le cuivre est principalement présent dans le foie, les huitres et le chocolat noir.

Néanmoins, en raison de ses propriétés métalliques de transition, tout comme le fer, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ERO. Cependant, une forte concentration en cuivre pourrait indiquer un stress oxydant (Desmier, 2016).

c. Le zinc

Le zinc est présent dans les huitres, le foie de veau et la viande de bœuf. Le zinc protège également le groupement thiol des protéines. De plus, il a la capacité de prévenir la formation d'ERO causée par le fer ou le cuivre. Par conséquent, l'évaluation du rapport taux sanguin cuivre/zinc permet d'évaluer le stress oxydant d'une personne (Desmier, 2016).

1.4.2.3 Les polyphénols

Un groupe important de substances naturelles largement répandues dans le règne végétal sont les polyphénols. Plus de 8000 ont été identifiés par les scientifiques, allant de molécules simples à des composés extrêmement complexes. L'accumulation dans les plantes varie quantitativement et qualitativement entre les différentes parties de la plante et entre les espèces végétales (Saffidine, 2015).

Les polyphénols jouent un rôle important car ils peuvent interagir avec les métaux de transition, notamment le fer et le cuivre. En effet, les ERO sont fréquemment générés par la réduction de l'O₂ par Fe²⁺ ou Cu⁺, ce qui entraîne la création de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyde (réaction de Fenton). En conséquence, la formation de complexes chélateurs inertes et stables est un mécanisme antioxydant (Desmier, 2016).

1.2 L'inflammation

La peau et les muqueuses sont des barrières physiques qui protègent efficacement l'organisme des agressions extérieures. Les corps étrangers peuvent parfois franchir cette barrière en raison d'une blessure, d'une attaque microbienne, virale ou fongique ou d'un dysfonctionnement des cellules de l'organisme. Les cellules immunitaires alertées détectent automatiquement l'envahisseur et déclenchent une série de réactions biochimiques pour

empêcher l'agent agresseur de se propager. C'est ce qu'on appelle une réaction inflammatoire (Diallo, 2019).

1.2.1 Définition

L'inflammation est une réponse de défense immunitaire initiée par l'organisme suite à une menace, à une agression physique, chimique ou biologique pour préserver son intégrité (Diallo, 2019). Elle peut se produire en cas de blessure, par exemple, suite à une entorse, provoquant une douleur, gonflement, chaleur, rougeur, œdème et même perte de fonctionnalité. Elle peut être le résultat d'une agression interne (comme un cancer) ou externe (comme une infection).

Cependant, l'inflammation est composée d'une série de phénomènes qui se produisent dans les systèmes circulatoires, parties au sein des tissus, se combinent les uns avec les autres de différentes manières (Ghislain, 2023).

1.2.2 Les types d'inflammation et les phases du processus inflammatoire

L'inflammation joue un rôle actif dans la réaction du système immunitaire face aux dommages et aux infections. De manière générale, la phase d'inflammation comprend deux phases distinctes : aiguë et chronique (ou proliférative) (Neha et Wakode, 2021).

1.2.2.1 L'inflammation aiguë

Il s'agit d'une réaction immédiate à une agression par un agent pathogène, qui est de courte durée et qui se manifeste brusquement et marquée par des manifestations vasculo-exsudatives intenses. En règle générale, l'inflammation aiguë se guérit de manière spontanée ou avec un traitement (Diallo, 2019).

1.2.2.2 L'inflammation chronique

L'inflammation chronique se produit lorsque l'inflammation aiguë échoue. La prolongation de l'inflammation entraînera des conséquences anatomiques et fonctionnelles qui rendent les maladies inflammatoires chroniques plus graves. C'est cette réaction inflammatoire qui est présente dans de nombreuses maladies chroniques majeures. L'inflammation persistante et sa présence dans différents organes sont responsables des maladies systémiques, où l'auto-immunité joue un rôle crucial dans la régulation de l'inflammation (Agnero, 2019).

- **Les différents processus inflammatoires**

La réponse inflammatoire peut être divisée en trois phases :

1. Une phase d'initiation (phase vasculaire) se produit suite à un signal de danger provenant d'une source extérieure (exogène) ou intérieure (endogène) et qui met en place une première

série d'acteurs. Cette première étape varie en fonction de l'agression (endogène, exogène) qui s'applique à l'organisme.

2. Une phase d'amplification qui se déroule en mobilisant et en activant d'autres facteurs.

3. Une phase de résolution et la réparation qui visent à rétablir l'intégrité du tissu endommagé.

(Mathieu et Guimezanes, 2011).

1.2.3 Les anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires sont caractérisés par leur capacité à réduire la douleur et le gonflement qui surviennent suite à une agression d'un agent pathogène. Ces substances entravent la production ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (tels que les prostaglandines), ce qui réduit la douleur et l'inflammation. Elles sont employées lorsque la réaction inflammatoire se prolonge de manière inhabituelle (inflammation chronique) et entraîne des dommages aux tissus. On regroupe ces substances en trois catégories : les anti-inflammatoires stéroïdiens (comme la cortisone et ses dérivés), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires naturels (Diallo, 2019).

1.2.4 Les anti-inflammatoire stéroïdiens (corticoïdes)

Les corticoïdes, qui sont le résultat de la contraction du terme corticostéroïde, sont en réalité des hormones stéroïdes naturelles produites par les glandes cortico-surrénales. Par extension, on inclut dans cette catégorie les stéroïdes de synthèse qui sont similaires à ces molécules naturelles et qui possèdent tout ou une partie de leurs propriétés biologiques.

La terminologie tend à réserver le terme « corticoïdes » aux seuls glucocorticoïdes et à exclure de ce groupe les hormones androgènes et minéralo-corticoïdes, qui sont ségréguées par ces mêmes glandes surrénales (Brion *et al.*, 1998).

Pour résumer, un glucocorticoïde, également connu sous le nom de corticoïde, est un stéroïde naturel ou synthétique qui peut présenter une activité métabolique tout en réduisant l'activité physiologique de l'hormone cortisol (Richard *et al.*, 1997).

1.2.5 Les anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments qui peuvent s'opposer aux processus inflammatoires, peu importe leur cause (mécanique, chimique, infectieuse, immunologique). Ils agissent sur les symptômes locaux de l'inflammation tels que les rougeurs, la chaleur, la douleur et l'enflure. Les AINS se distinguent par le fait qu'ils n'ont pas de structure chimique stéroïdienne (Bekkai *et al.*, 2009).

Les travaux de Vane (1971) ont permis de préciser le mécanisme d'action des AINS. Ce mécanisme repose principalement sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de l'enzyme

cyclooxygénase, qui est responsable de la production de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS entraîne une diminution de la production de prostaglandines, notamment la PGE2 et la PGI2, qui sont des médiateurs importants de l'inflammation (**Ferradji, 2010**).

1.2.6 Les anti-inflammatoire d'origine végétale

Il existe une grande variété de composés phytochimiques présents dans le règne végétal, et ils ont tous un large éventail d'activités. Certains de ces composés ont des propriétés anti-inflammatoires. On pense que beaucoup d'entre eux agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase, ainsi que par d'autres mécanismes (**Barnes, 1998**).

Les polyphénols comptent parmi les composés les plus abondants et les plus largement distribués dans les plantes (**Han et al., 2007**). La présence d'un noyau benzénique est une caractéristique structurelle qui distingue les métabolites secondaires. Plusieurs groupes hydroxyles libres ou actifs (éther, ester, hétéroside) (**Wichtl et Anton, 2003**). Les polyphénols sont des remèdes naturels qui peuvent être plus rentables, plus efficaces et plus sûrs que les médicaments (**Bousta et Ennabili, 2011**).

1.2.7. La dénaturation des protéines (BSA)

L'albumine, dont le nom vient du latin *albus* signifiant blanc, est une protéine Humains (HSA) et autres mammifères (BSA, albumine par exemple, albumine de cheval, albumine de rat) (**Lartundo-Rojas, 2007**). C'est une protéine qui commence à se dénaturer à 62 °C (**Weekers, 2021**). La BSA est une protéine largement utilisée en recherche en raison de ses similitudes structurelles avec de l'albumine sérique humaine. Cela est également le cas dans les recherche sur les interactions métal/protéine, qui semble être un bon modèle pour deviner les interactions et l'influence de nombreux facteurs (**Belatik, 2014**).

1.2.8. Activité analgésique

Il s'agit de provoquer une action algogène en administrant de l'acide acétique à des souris par voie intrapéritoniale. La douleur provoquée par cette injection se traduit chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, connu sous le nom de crampes abdominales. Cette méthode est largement utilisée en raison de sa grande sensibilité et de sa capacité à détecter les molécules à effet périphérique et central (**Riahi et al, 2012**).

1.3 Citrouille

1.3.1 Description botanique et noms vernaculaires

Le terme "citrouille" provient du terme latin *pepo*, qui désigne les fruits à croûte dure et charnus à l'intérieur. La citrouille est souvent désignée sous le nom scientifique de *Cucurbita pepo* L. Généralement, tout fruit de *Cucurbita* de couleur orange est perçu comme une "citrouille". Cependant, les variétés de *Cucurbita* avec des fruits blancs, comme "Lumina" et "Cotton Candy", sont également perçues comme des "citrouilles" (**Babadoost et Zitter, 2009**).

Les citrouilles possèdent différentes formes, tailles, poids et teintes. La majorité ayant une forme ronde, mais certaines ont une forme oblongue en forme de poire. Les citrouilles ont un diamètre allant de 5 cm à plus de 50 cm. On peut trouver des citrouilles pesant de moins de 0,5 kg à plus de 500 kg (**Babadoost et Zitter, 2009**). Les fleurs ont une teinte jaune éclatante, solitaires et sont entourées des feuilles. Les fleurs mâles possèdent des pieds longs variant de 7 à 20 cm. Les pédoncules des fleurs femelles sont solides et sont plus courts de 2 à 5 cm (**Lim, 2012**). Les fleurs peuvent être de couleur jaune à orange pâle (**Kaur et al., 2019**).



Figure 4: Morphologie de la citrouille (**Lim, 2012**)



Figure 5. Les feuilles et fleurs de la citrouille (**Lim, 2012**)

Noms vernaculaires

La plante *Cucurbita pepo* L. fait partie de la famille des "*Cucurbitaceae*". Le terme local de *C. pepo* est « Kadoo » en Urdu, Saraiki et Hindi, tandis que « squash » est utilisé en anglais (**Adnan et al., 2017**).

Arabe : Kosah, Qar' Baladî, Qar'kosah.

Argentine : Zapallo De Angola.

Brésil : Abóbora, Aboboreira.

Chine : Fan Gua, Mei Zhou Nan Gua, Nan Gua, Xi Hu Gua, Xi Hu Lu.

Egypte : Karr Kosa.

Revue bibliographique

France : Citrouille, Courge, Courge Commune, Courge Pépo, Courgette, Courgette Pépon, Pâtisson, Pépon.

Mexique : Calabaza (Lim, 2012).

1.3.2 Répartition géographique de la citrouille

Cucurbita pepo L se trouve dans des régions tropiques, mais elle peut être cultivée dans des régions chaudes et fraîches. Elle se développe le plus efficacement dans les régions où les températures quotidiennes varient de 24°C à 29°C, et où la température nocturne varie de 16 °C à 24 °C (Lim, 2012).

Originnaire d'Amérique centrale à l'Amérique du Sud, elle est cultivée de la mer jusqu'aux montagnes et est considéré comme un légume autochtone dans de nombreux autres pays, y compris en Afrique. Les principaux producteurs mondiaux de la citrouille sont L'Inde, la Chine, le Mexique et les États-Unis (Kaur *et al.*, 2019) et d'autres grands producteurs sont en ordre Ukraine, Egypte, Iran, Cuba, Italie, Turquie, Sud d'Afrique, Espagne et l'Argentine. (Paris et Brown, 2005).

1.3.3 Classification systématique

Tableau n° 1: Classification systématique de *Cucurbita* (Vanier, 2007).

Règne	plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Violales</i>
Famille	<i>Cucurbitaceae</i>
Sous-Famille	<i>Cucurbitoidae</i>
Genre	<i>Cucurbita</i>
Espèce	<i>Cucurbita pepo L.</i>

Revue bibliographique

1.3.4 . Composition phytochimique

Tableau n° 2: Les principaux composants chimiques des différentes parties de la citrouille.

Parties de la plante	Composants chimiques	Références
Fruits	carbohydrates (66%), protéines (3%), fibres (11.46%), caroténoïdes, Oligo-éléments (Mn (0.5 mg/kg), Fe (1.37 mg/kg), Cu (mg/kg), Pb (0.29 g/kg), P (11.38 mg/kg), Ni (0.5 mg/kg), Ca (179 mg/kg), Mg (190 mg/kg), Na (159 mg/kg) and K (160 mg/kg).	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
Grains	Phytostérols, acides gras saturés (19.35%) et insaturés (80.65%), vitamines, caroténoïdes et tocophérols, polysaccharides, peptides, protéines.	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)
Feuilles	alcaloïdes, flavonoïdes, carbohydrates, phytostérols, tannins, saponines, stéroïdes, gommes et mucilages, protéines et acide aminés.	(Ratnam <i>et al.</i> , 2017)

1.3.5 Usage traditionnel et activité biologique des différentes parties

Plusieurs recherches scientifiques s'intéressaient par les propriétés biologiques et pharmacologiques des espèces du genre *Cucurbita*, le tableau 3 récapitule la majorité des usages traditionnels et les activités liées aux différentes espèces de la plante choisie.

Revue bibliographique

Tableau n° 3: Les principaux usages traditionnels des différentes parties de la citrouille et leurs activités biologiques (*Ratnam et al., 2017 ; Adnan et al., 2017*).

Parties	Usage traditionnel	Activité biologique
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> .Soulager la fatigue et la soif, et de purifier le sang. .Combattre le froid et apaiser la douleur. . Efficace dans les problèmes urinaires complexes, avec une action protectrice sur le cœur. . Utilisé pour traiter l'obésité et les problèmes gastriques. 	<ul style="list-style-type: none"> . Antidiabétique . Antioxydante .Anti-inflammatoire .Anticancéreuse .Antivirale.
Grains	<ul style="list-style-type: none"> . La vessie irritable, les symptômes de la prostate, les traitements antiparasitaires. . Favorable à la rate et aux poumons. . Gastrite, intoxications, entérites, affections fébriles. . Maux de tête et douleur au cou. . Un médicament pour soigner la bronchite et la fièvre. 	<ul style="list-style-type: none"> . Antidiabétique . Antioxydante .Antimicrobienne et Antifongique . Anticancéreuse .Antidépessif . Anti-inflammatoire . Anti-prostate
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> . Réduire la fièvre. . Un moyen de soigner les nausées et d'augmenter la concentration d'hémoglobine dans le sang. 	<ul style="list-style-type: none"> . Antioxydante Antimicrobienne, Antifongique .Anti-inflammatoire

1.3.6. La toxicité de la citrouille

Les citrouilles sont cultivées partout dans le monde et utilisés comme légumes et médicaments. Il est traditionnellement utilisé dans de nombreux pays, notamment en Chine et en États-Unis. Certaines de ses utilisations courantes dans la plupart des pays concernent le traitement en intérieur et en extérieur, ainsi que la gestion des vers et des parasites. (Caili, F *et al*, 2006), d'après l'enseignant à l'Institut national d'agriculture biologique du Cégep de Victoriaville Pierre-Antoine Gilbert La consommation des citrouilles peut entraîner intoxication en raison des substances toxiques classée comme irritante mais non mortelle (1)



Deuxième partie : Etude expérimentale



Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est constituée de la poudre de trois parties de *Cucurbita pepo* L. la partie des écorces, de la pulpe et des grains (**Fig06**). La plante *Cucurbita pepo* L. a été récoltée dans la région de Bouhachana(36°18'25,9 Nord, 7°30'43,6 Est) Latitude : **36.31046**, Longitude : **7.51517**, de la ville de Guelma (Algérie), et ils ont été récoltés à la fin du mois d'octobre 2023.



Figure 6: Aspects morphologique de *Cucurbita pepo* L. (**Photo originale**).



Figure 7 : Répartition géographique de la plante ***Cucurbita pepo* L.**

1.1.1. Préparation de la poudre des écorces et des pulpes

Les citrouilles récoltées ont été bien lavée à l'eau de robinet puis découpées en deux : les graines ont été enlevées, puis la peau et les fruits ont été coupés avec une trancheuse. Puis séchés à l'ombre à température ambiante dans un endroit aéré pendant deux semaines. Après le séchage, les écorces et la pulpe ont été broyées au broyeur électrique (Moulinex). La poudre

Matériel et méthodes

ainsi obtenu des deux parties a été stockée dans des flacons en verre jusqu'à leur utilisation ultérieure (Fig08).



(A) (B)
Figure 8: Pulpe (A) et écorce (B) de *C. pepo* L pendant le séchage.

1.1.2. Préparation de la poudre des graines

Les graines de citrouille utilisées ont été achetées auprès des herboristes du marché local de la ville de Guelma, Algérie. Les graines ont été broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis stockées dans un flacon en verre jusqu'à leur utilisation ultérieure.

1.2. Matériel animal

L'étude de l'activité anti-inflammatoire et la toxicité subaiguë ont été réalisées sur des souris femelles de la souche Wistar (*Mus musculus*) pesant 35 ± 5 g, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Ces animaux sont hébergés au niveau de l'animalerie de l'Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie. Les animaux ont été répartis en trois groupes comportant 10 chacun, sont conservés dans des cages de polypropylène à une température ambiante, avec accès libre à l'eau, à l'aliment et d'une porte étiquette où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subi, ainsi que les dates d'expérimentation. Après une période d'adaptation de 7 jours, les souris ont été pesées et marquées avant leur utilisation.

2.2. Méthodes expérimentales

2.2.1. Extraction par Ultrasons (UAE) des différentes parties de la plante

La procédure d'extraction a été réalisée dans les Conditions décrites par (Pinna *et al.*, 2022) avec de légères modifications. Un échantillon de poudre des écorces / pulpe (20 g) a été extrait avec 100 ml de solvant (cyclohexane : isopropanol, 60 :40 V/V) et (cyclohexane: acétone : éthanol 50 :25 :25 V/V/V) pendant 15 min à 45°C dans un bain de sonication (ultrasons). La puissance ultrasonique était de 180 W. Les extraits ont ensuite été filtrés sur un papier filtre puis recueillis dans des flacons en verre ambré et conservés. La procédure d'extraction a été répétée trois fois pour chaque partie de la plante (Pinna *et al.*, 2022).

Matériel et méthodes

Les extraits obtenus ont été passés dans un évaporateur sous pression réduite (BUCHI, R-215) pour éliminer toute trace de solvants afin d'obtenir les extraits secs.

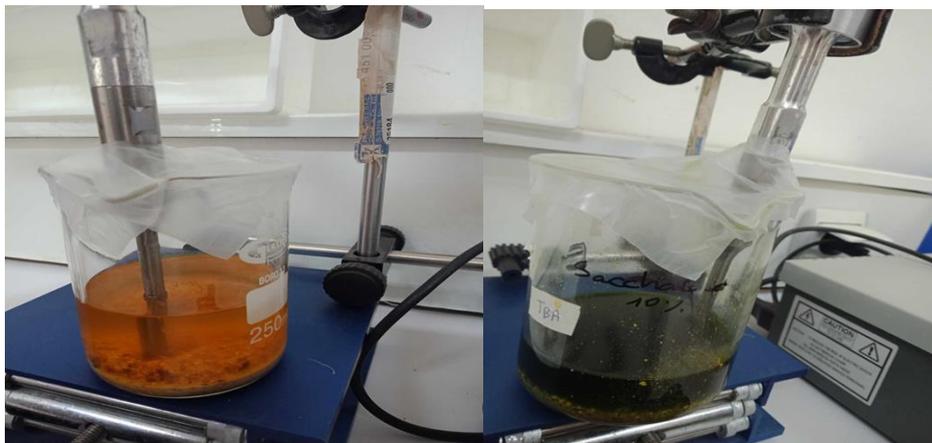


Figure 9: Extraction par ultrason 'UAE' des différentes parties du *C.pepo L.*

2.2.2. Extraction des caroténoïdes par macération (MAC)

La procédure d'extraction a été réalisée selon les conditions décrites par (Pinna *et al.*, 2022) Avec de légères modifications. Un échantillon de poudre des écorces et de pulpe (20 g) a été extrait pendant 48 h à température ambiante, en utilisant une macération dynamique avec 100 mL de solvant (cyclohexane : isopropanol, 60 :40 V/V) et (cyclohexane : acétone : éthanol, 50 :25 :25 (v/v/v)). Les extraits ont été filtrés sur un filtre en papier, recueillis dans des flacons en verre ambré et conservés. L'extraction a été répétée trois fois jusqu'à extraction complète des caroténoïdes (Pinna *et al.*, 2022).

Afin de réaliser la séparation des phases et éliminer les traces de solvants à chacune des étapes progressives, les extraits ont été lavés avec un volume égal de solution de NaCl 0,1%. Les extraits ont été placés dans une étuve à (45 °C) pour évaporer le solvant à 50 mL. Les extraits de caroténoïdes ont été collectés et stockés. Les extraits obtenus ont été passés dans un évaporateur sous pression réduite pour éliminer toute trace de solvants afin d'obtenir les extraits bruts (Sharma et Bhat, 2021).

2.2.3. Extraction du polysaccharide brut de la citrouille

Les polysaccharides de citrouille soluble dans l'eau a été obtenu à partir de 20 g de poudre de pulpe. Par extraction avec 200 mL d'eau distillée bouillie à 95°C pendant 2h. Il a été refroidi à température ambiante avant d'être filtrée. Le liquide du surnageant a été recueilli et centrifugé à 4500 rpm pendant 20 minutes. Le polysaccharide de la citrouille a été précipité en ajoutant 20 ml d'éthanol absolu à 4°C pendant 1 semaine. L'éthanol absolu a été évaporé avant de sécher le précipité dans une étuve à air chaud à 45 °C pendant 48h. Le précipité

Matériel et méthodes

séché a été lavé avec de l'éthanol absolu (20ml) et d'Éther diéthylique (20ml), respectivement, en utilisant la méthode décrite par (**Chanpirom *et al.*, 2022**) avec une Légère modification.

A. Méthode de déprotéinisation par CaCl₂

Le précipité séché du polysaccharide de pulpe brut a été ajusté à un pH de 9-10 avec une solution de NaOH à 2 % et chauffée à 85 °C. Ensuite, 5 % d'une solution de CaCl₂ a été ajoutée à l'échantillon, qui a ensuite été refroidi et filtré. Le filtrat a été ajusté à un pH de 7 avec une solution d'HCl à 20 %. Ensuite, 20 ml d'éthanol absolu ont été ajoutés au précipité de polysaccharide. L'éthanol absolu a été éliminé par un évaporateur sous pression réduite avant de sécher le précipité dans un four à air chaud à 45 °C pendant 48h. Le précipité séché a été lavé avec de l'éthanol absolu et de l'éther diéthyle respectivement (**Chanpirom *et al.*, 2022**).

2.2.4. Extraction d'huile des graines de citrouille

Dans l'extraction assistée par ultrasons (UAE), l'huile des graines de citrouille a été extraite à l'aide d'Ultrasons selon la méthode décrite par (**Irnawati *et al.*, 2022**). Brièvement, 50 g de poudre de graines de citrouille ont été mélangés à 500 mL de cyclohexane et soniqués à 150 W pendant 15 minutes à une température inférieure à 40° C. Le solvant a ensuite été séparé du sédiment à l'aide d'une centrifugeuse à 2500 rpm pendant 10 minutes. Après centrifugation, le culot récupéré a été passé par un évaporateur sous pression réduite pour éliminer toute trace de solvant afin d'obtenir l'huile voulu. L'huile récupérée a été stocké dans des flacons en verre dans un congélateur à une température de -20° pour des analyses ultérieurs (**Irnawati *et al.*, 2022**).

➤ Calcul des rendements en extraits secs :

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{P3}} \times 100$$

P1 : Poids de la boîte de pétri avec extraits après évaporation.

P2 : Poids de la boîte de pétri vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

2.3. Criblage phytochimique

Matériel et méthodes

Des tests en tube ont été effectués sur les différents extraits végétaux afin de déterminer de manière préliminaire les métabolites secondaires présents dans la plante étudiée. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Il s'agit de méthodes qui permettent d'identifier les diverses familles chimiques présentes dans un organe végétal. Les réactions physico-chimiques sont responsables de la détection et de la présence des substances chimiques.

Les résultats qualitatifs sont classés en :

- Réaction très positive +++ : présence confirmée.
- Réaction positive ++ : présence modérée.
- Réaction plus au moins positive + : présence en tant que trace.
- Réaction négative - : absence.

➤ **Test des composés phénoliques**

- **Test au chlorure ferrique** : Un volume de 1 mL d'extrait de plante a été amené à l'eau et réchauffés à 45-50 °C. Ensuite, 1 mL de 0,3% de FeCl₃ a été ajouté. La formation d'une couleur verte foncée ou bleue indique la présence de phénols (Aissani, 2022).

➤ **Test des alcaloïdes**

Les extraits ont été dissous individuellement dans de l'acide chlorhydrique dilué et filtrés. Le test suivant a été effectué.

- **Test de Mayer** : Les filtrats ont été traités avec quelques gouttes de réactif de Mayer (iodure mercurique de potassium). La formation d'un précipité de couleur jaune indique la présence d'alcaloïdes (Aissani, 2022).

➤ **Test des flavonoïdes**

- **Test de réactif alcalin** : Le test consiste à traiter les échantillons avec quelques gouttes de solution d'hydroxyde de sodium. Une formation de couleur jaune intense, qui devient incolore lorsque nous avons ajouté 2 gouttes d'acide dilué au mélange, indique la présence de flavonoïdes (Aissani, 2022).

➤ **Test de phytostérols (terpénoïdes et stéroïdes)**

a- **Test de Salkowski** : Les extraits ont été traités avec du chloroforme (CHCl₃) suivi de l'ajout de quelques gouttes de H₂SO₄ concentré (2 mL), une coloration brun rougeâtre de l'interface indique la présence de terpénoïde (Aissani, 2022).

Matériel et méthodes

b- Test de Liebermann-Burchard : une quantité de chaque échantillon a été agité avec du chloroforme ; Les filtrats ont été traités avec quelques gouttes d'anhydride acétique, bouillis et refroidis. H₂SO₄ concentré (0,5 mL) a été ajouté. La formation d'un anneau brun à la jonction de deux couches et le virage de la couche supérieure au vert montre la présence de stéroïdes tandis que la formation d'une couleur rouge foncé indique la présence de triterpénoïdes (Aissani, 2022).

➤ **Test des tanins**

- **Test au chlorure ferrique** : L'échantillon a été bouilli dans de l'eau distillée dans un tube à essai, puis filtré. Quelques gouttes de chlorure ferrique à 0,1% ont été ajoutées et l'observation d'une coloration verte ou bleu-verte indique la présence des (tanins catéchiques) ou une coloration bleu-noir (tanins galliques) (Aissani, 2022).

➤ **Test des saponosides**

- **Test de mousse** : La détection des saponines est réalisée en mélangeant 0,5 g d'extrait de plante avec 2 mL d'eau distillée. Par la suite, cette solution a été agitée dans un cylindre gradué pendant 15 minutes. La présence de saponines a été indiquée par la formation et la persistance d'une couche de mousse de 1 cm après les 15 minutes (Aissani, 2022).

➤ **Test des coumarines**

1g d'échantillon est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert d'un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté au bain-marie pendant quelques minutes. 0,5 mL de NH₄OH dilué est ensuite ajouté et deux taches sont posées sur un papier filtre. Le papier est examiné sous U.V, la fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Aissani, 2022).

➤ **Test des gommes et mucilages**

100 mg d'extrait sont dissout dans 10 mL d'eau distillée, et 25 mL d'alcool absolu a été ajouté sous agitation constante. Un précipité blanc ou nuageux indique la présence de gommes et de mucilages (Aissani, 2022).

2.4. Quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux

La détermination des analyses quantitatives des polyphénols et flavonoïdes totaux des différents extraits est principalement justifiés par le fait que la plupart des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées.

2.4.1. Dosage des polyphénols totaux (TPT)

- **Principe**

La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts a été déterminée au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu suivant la méthode décrite par (**Awah *et al.*, 2012**) avec de légères modifications. Le réactif Folin-Ciocalteu (FCR) se compose d'une solution acide jaune contenant des ions polymères complexes formés à partir d'acides phosphomolybdiques et phosphotungotiques hétéropoliques. La dissociation d'un proton phénolique dans un milieu de base conduit à un anion phénolate, qui réduit la FCR, formant un oxyde de molybdène bleu. L'intensité de cette couleur renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

- **Mode opératoire**

Une prise de 200 μ L de l'extrait dilué (selon le solvant de dissolution) est mélangée avec 500 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué en H₂O) et laissés debout à 22 C pendant 5 min. 800 μ L de solution de Na₂CO₃ (dilué en H₂O) a ensuite été ajouté au mélange. Après 2h d'incubation, l'absorption a été mesurée à 725 nm. Les résultats ont été exprimés comme Équivalents d'acide gallique.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 μ g/ml. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFT)

- **Principe**

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium AlCl₃ à 2 %, décrite par (**Barros *et al.*, 2011**) avec de légères modifications . Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium, elle conduit à la formation d'un complexe jaune absorbant la lumière à 430nm.

- **Mode opératoire**

Un volume 1mL des échantillons à 1mg/ml, 1ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 2 % a été ajoutée, le mélange réactionnel a été incubé pendant 10 mn à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le blanc a été préparé de la même

Matériel et méthodes

façon en remplaçant l'extrait par 1 ml d'éthanol. La lecture de la DO a été effectuée par spectrophotomètre UV-Visible (JENWAY 630S) à 430 nm. Pour la préparation de la gamme d'étalonnage, une solution mère de quercétine à 0.1 mg/ml (flavonoïde de référence) a été préparée et à partir de laquelle des dilutions (0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.3 µg/ml) ont été réalisées. Chaque mesure a été réalisée en triplicata. Les résultats sont exprimés en mg équivalents de quercétine par g de poids d'extrait (mg EQ/g extrait).

2.5. Activité antioxydant

➤ Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante des extraits a été mesurée par l'utilisation de la méthode de DPPH décrite par (Awah *et al.*, 2012) avec de légères modifications.

Le DPPH• (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 975nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 975nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon (Parejo, 2002).

• Mode opératoire

25 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif).

AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon).

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50) de chaque extrait a été déterminée en utilisant l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg/ml.

2.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

2.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

Matériel et méthodes

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des différents extraits de *Cucurbita pepo L.* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Ghosh *et al.*, 2015).

La méthode consiste à préparer quatre solutions :

- **Solution d'essai (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml de différents extraits avec une concentration de 250 µg/ml.
- **Solution contrôle test (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé.
- **Solution contrôle produit (0,5 ml)** composée de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml de différents extraits avec une concentration de 250 µg/ml.
- **Solution standard (0,5 ml)** composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard 'Aspirine' avec une concentration de 250 µg/ml.

Les échantillons ont été incubées à 37°C pendant 20 min, ensuite la température a été augmentée jusqu'à 57°C pendant 3 min. Après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (pH : 6,3) a été ajouté aux solutions (Ghosh *et al.*, 2015). L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de protéine a été calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - (\text{A solution d'essai} - \text{A contrôle produit} / \text{A solution contrôle test contrôle})] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

2.7.1. Méthodes d'étude de l'activité analgésique (Test du writhing)

Il consiste à vérifier l'action inhibitrice d'huile des graines de *Cucurbita pepo L.* sur la douleur provoquée chez la souris par l'injection intra-péritonéale (I.P) d'une solution diluée d'acide acétique (Writhing test).

- **Principe**

Le test a été effectué comme décrit par (Zulfiker *et al.*, 2010) avec légère modification.

Le principe est de provoquer une action algogène en administrant de l'acide acétique (1%) à des souris à une dose de 1 ml/kg de poids corporel (Pc) par voie intra-péritonéale (I.P).

Matériel et méthodes

La douleur provoquée par cette injection se manifeste par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, connu sous le nom de crampes abdominales. L'action analgésique peut être évaluée en mesurant le nombre de crampes pendant une durée de 30 minutes après l'injection de l'agent algogène (acide acétique) (Riahi *et al*, 2012).

- **Mode opératoire**

Un effectif de 30 souris est divisé en 5 lots chacun contient 6 souris et ont été mises à jeun 16 heures avant l'essai et mesurer le poids de tous les lots.

- **Lot témoin (n=6):** Les souris reçoivent 10mg/kg de la solution DMSO (5%) 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique (1%) par voie I.P.
- **Lot de référence (n=6):** Les souris ont été traitées par voie I.P avec un analgésique utilisé en thérapeutique (Aspirine) 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique (1%). L'administration de l'analgésique de référence se fait à raison de 100mg/kg de Pc.
- **Lot essai (n=6):** Les souris reçoivent, par voie I.P l'huile des graines de *C. pepo L* à raison de 200 mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.
- **Lot essai (n=6):** les souris reçoivent par voie I.P l'huile des graines de *C. pepo L* à raison de 100mg/kg, et ceci 30mn avant l'injection de l'acide acétique.
- **Lot essai (n=6):** les souris reçoivent par I.P l'huile des graines de *C. pepo L* à raison de 50mg/kg, et ceci 30mn avant l'injection de l'acide acétique.

L'administration de l'aspirine et l'huile des graines de *Cucurbita pepo.L* à étudier se fait à raison de 10 ml/Kg par voie intra-péritonéale.

Le pourcentage d'inhibition des crampes est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = \frac{[\text{Moyenne des crampes témoins} - \text{Moyenne des crampes essai}]}{\text{Moyenne des crampes témoins}} \times 100$$



Figure 10: Injection intra-péritonéale d'huile des graines de *C. pepo L.*

2.8. La toxicité aiguë

La méthode établie par l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) directive 423 a été utilisée. 25 souris femelles ont été divisées au hasard en 5 groupes de 5 souris dans chaque groupe et ont été mises à jeun 16 heures avant l'essai et mesurer le poids de tous les lots.

- **Le groupe 1** : ont servi de contrôle normal et ont reçu 10 ml/kg de DMSO (5%).
- **Les groupes 2-5** : ont reçu une dose unique agrégée de 5, 50, 300 et 2000 mg/kg d'huile de *C. pepo L.*, respectivement par voie orale (gavage). Après l'administration de matière végétale, les souris ont été tenues sous surveillance étroite continue pendant 1 heure et intermittemment 4 heures et par la suite 24 heures.

Au cours de cette étude, des observations cliniques ont été faites pour la mortalité, le comportement, les anomalies neurologiques et toute autre anomalie. L'observation devrait inclure les changements de la peau et de la fourrure, les yeux et aussi les systèmes respiratoires (**Walum, 1998**) (2).



Figure 11: Administration par voie orale d'huile de *C. pepo L.*

Matériel et méthodes

2.8.1 Sacrifice des animaux

À la fin de la période d'observation, tous les animaux ont été sacrifiés. Les sacrifices des animaux a été fait au niveau de l'animalerie de l'Université 8 mai 1945 de Guelma. Cette étape a été suivie de la dissection des animaux sur une surface de travail après avoir fixé les pattes ainsi que la peau à l'aide d'épingles. Les organes ont été prélevés, lavés avec de l'eau physiologique (NaCl à 0.09%) et pesés.

2.9. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en Moyenne \pm SEM par un logiciel (Graph Pad. Prism. V 10). La différence entre le contrôle et les différentes doses est déterminée par le test one-way ANOVA pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).



Résultats et discussion

Résultats et discussion

3.1. Rendement de l'extraction

Le rendement des solvants utilisés dans le processus d'extraction ont été déterminés pour les diverses composantes de *Cucurbita pepo L.* L'identification de chaque extrait s'est fondée sur sa couleur distinctive et son taux de rendement, calculé en fonction du poids initial de la poudre de la poudre utilisée.

Tableau n° 4. Rendement d'extraction (%) de *C.pepo L* par différents solvants et méthodes d'extraction.

Extraits	Couleurs/Aspects	Rendements (%)
EPhae (MAC)	Cristaux blancs	15.55
EEhae (MAC)	Cristaux blancs	22
EPhi (MAC)	Cristaux blancs	22.7
EEhi (MAC)	Cristaux blancs	25.9
EPhae (UAE)	Gel visqueux marron clair	7.2
EEhae (UAE)	Poudre orangée	47.1
EPhi (UAE)	Pate orangée	20.05
EEhi (UAE)	Pate verte foncée	8.1
EPP	gel visqueux marron clair	56.25
Huile. UAE	Huile verte	40.22

Les échantillons sont : EP: extrait pulpe, EE : extrait écorce, EPP : extrait polysaccharide de pulpe, UAE : ultrason, MAC : macération, hae : cyclohexane-acétone-éthanol, hi : cyclohexane-isopropanol.

Les taux de rendement d'extraction s'étendent de 7,2 % à 56,25 %. Parmi eux, l'extrait de polysaccharides, l'extrait obtenu à partir de l'écorce (EEUAE hae) et l'huile (UAE) se distinguent par les rendements les plus élevés, affichant respectivement des valeurs de 56,25 %, 47,1 % et 40,22 %.

En contraste, les rendements les plus bas sont observés pour les extraits d'écorce (EEUAEhi) et les extraits de pulpe (EPUAEhae), avec des pourcentages de 8,1 % et 7,2 %, respectivement.

L'efficacité de l'extraction de *C.pepo L.* dépend significativement de la technique d'extraction et du solvant employé. La recherche présente a révélé que les solvants de plus haute polarité, tels que l'association eau-méthanol, réalisent de meilleurs rendements en raison

Résultats et discussion

de l'interaction favorable entre le groupe hydroxyle des polysaccharides et les molécules d'eau, comme l'illustre l'étude de Chanpirom *et al.* (2022). Nos résultats pour l'extraction de polysaccharide de la pulpe, qui s'élève à 56,25 %, sont en accord avec ceux de Chanpirom *et al.* (2022), qui ont constaté un rendement de 32,42 % pour l'extraction de polysaccharides bruts à partir de diverses espèces de Cucurbita.

La comparaison des méthodes d'extraction par macération et par ultrasons révèle des rendements respectifs de 21,53 % et 20,26 %. Dans nos travaux, nous avons évalué l'impact des différentes techniques d'extraction (UAE et MAC) et l'efficacité de l'emploi de solvants mixtes, qu'ils soient binaires ou ternaires, pour récupérer les caroténoïdes contenus dans les échantillons. Il a été démontré que l'utilisation des techniques d'extraction non conventionnelles (tel que l'ultrason 'UAE'), avec des mélanges de solvants variés, était particulièrement performante pour l'isolement des caroténoïdes totaux non polaires (**Pinna *et al.* 2022**). La méthode UAE a abouti à un rendement élevé de 20,26 %, presque équivalent à celui de la macération, qui était légèrement supérieur à 21,53 %. Une différence minime de 1,27 % a été observée entre les rendements totaux obtenus par ces deux procédés d'extraction, comme le rapporte Pinna, N *et al.* (2022).

La présente étude a analysé l'impact de la technique d'extraction par ultrason (UAE) en vue de la récolte d'huile à partir des graines de *C.pepo L.* Un rendement de 40,22 % a été atteint pour l'huile des graines, aligné sur les découvertes de Hernández-Santos *et al.* (2016), qui ont noté un rendement de 62,50 %.

Au vu de ces constats, il apparaît que la technique d'extraction par ultrason a prouvé être productive, permettant d'extraire jusqu'à 98 % des huiles des graines, comme le spécifie l'étude de (**Ramak *et al.* 2019**). L'utilisation de l'UAE comme technique d'extraction s'est révélée plus efficace, tandis que l'hydrodistillation ne peut être préconisée dans ce contexte, conformément aux conclusions de Pinna *et al.* (2022).

En conclusion, la mise en parallèle de nos résultats avec d'autres études s'avère complexe en raison de multiples paramètres susceptibles d'influencer les résultats. Ces derniers sont étroitement liés aux caractéristiques génétiques de la plante, à son origine géographique, aux conditions de sa récolte, ainsi qu'aux méthodes d'extraction employées.

3. 2. Criblage phytochimique

L'approche de criblage phytochimique est employée pour déterminer la présence ou l'absence de métabolites au sein de l'échantillon de *C.pepo L.* Cette méthode repose sur l'utilisation de réactifs chimiques qui réagissent avec des groupes de composés distincts contenus dans notre extrait. Les données recueillies ont mis en évidence l'existence de divers

Résultats et discussion

groupes chimiques au sein de l'échantillon, identifiés grâce à l'emploi de réactifs sélectifs qui se manifestent par des variations de couleur significatives.

Tableau n° 5: Profils phytochimiques des différents extraits de *Cucurbita pepo L.*

Test effectué	EEhae (MAC)	EEhi (MAC)	EPhae (MAC)	EPhi (MAC)	EEhae (UAE)	EEhi (UAE)	EPhae (UAE)	EPhi (UAE)	Huile (UAE)	EPpoly
Polyphénols	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
Alcaloïdes	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
Stérols et triterpènes	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	++	+
Tanins	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Gommes et mucilages	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponosides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+++): Présence confirmée, (++): présence modérée, (+): présence en tant que trace, (-): absence.

L'analyse phytochimique des extraits de *C.pepo L* a révélé une abondance significative en flavonoïdes et en alcaloïdes, qui prévalent sur les autres métabolites secondaires dans la matière végétale étudiée. Les stérols et triterpènes ont été particulièrement identifiés dans les échantillons extraits par l'UAE, ainsi que dans les extraits de polysaccharides et d'huile, tandis qu'ils étaient complètement absents des extraits obtenus par macération (MAC). Une présence très marquée de coumarines a été détectée dans l'huile extraite des graines de *C.pepo L*, mais ces composés n'ont pas été trouvés dans les autres extraits.

Le criblage phytochimique a en outre signalé l'absence de quatre composés actifs, dont la présence est largement reconnue comme étant cruciale en phytothérapie tels que les polyphénols, les tanins, les gommes, le mucilage et les saponosides.

3.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

3.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux (TPT)

Les extraits bruts obtenus via les techniques d'extraction MAC et UAE ont été soumis à une analyse quantitative par spectrophotométrie UV-visible, utilisant le réactif de Folin-

Résultats et discussion

Ciocalteu pour évaluer leur teneur en polyphénols. Les quantités de polyphénols sont présentées en équivalents d'acide gallique, selon une courbe d'étalonnage référencée (annexe 01).

Les données relatives à la concentration des composés phénoliques totaux sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut, résumées dans le **tableau 06** et illustrées sur la **figure 13**.

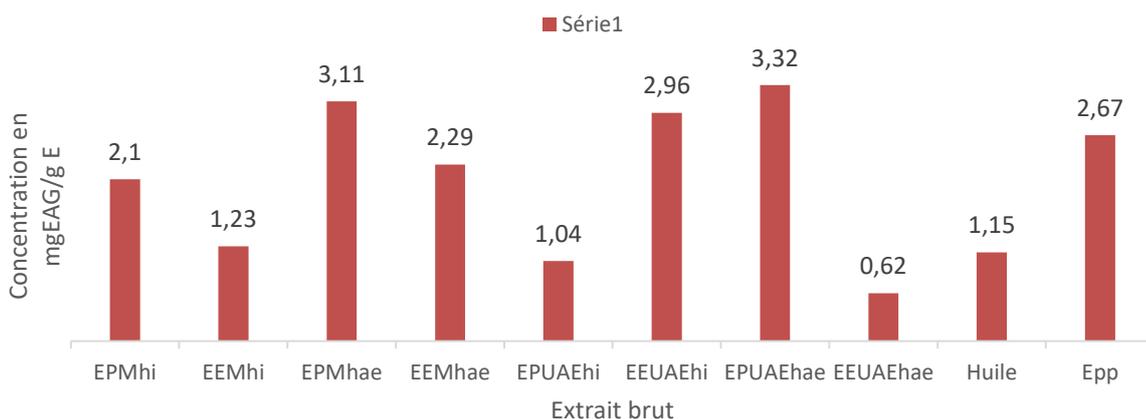


Figure 13: Teneurs des polyphénols totaux dans les différents extraits bruts de la plante étudiée.

Tableau n° 6: Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS) des différents extraits.

Les extraits	Polyphénols totaux mg EAC/g MS
EPMhi	2.10±1.05
EEMhi	1.23±0.95
EPMhae	3.11±0.31
EEMhae	2.29±1.13
EPUAEHI	1.04±0.72
EEUAehi	2.96±0.25
EPUAEhae	3.32±0.48
EEUAehae	0.62±0.19
huileUAE	1.15±0.47

Résultats et discussion

EPpoly	2.67±1.79
--------	-----------

Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm standard erreur moyenne.

Selon la **figure 13**, une variabilité notable dans la concentration de polyphénols totaux entre les différents extraits a été observée. Les analyses révèlent des variations significatives dans ces concentrations, notamment, les extraits EPUAEhae, EPMhae, et EEUAehi affichant les niveaux les plus élevés avec, respectivement, 3.32 ± 0.48 , 3.11 ± 0.31 , et 2.96 ± 0.25 mg EAG/g d'extrait. La concentration la plus basse a été trouvée dans l'extrait EEUAehae (0.62 ± 0.19 mg EAG/g d'extrait), tandis que les niveaux des autres extraits se situaient entre 2.96 ± 0.25 et 1.04 ± 0.72 mg EAG/g d'extrait.

L'étude de Hamissou *et al*, (2013) indique que l'extrait de pulpe de *C.pepo L* originaire des États-Unis avait une teneur en polyphénols de 8.67 ± 1.59 mg EAG/g d'extrait, ce qui dépasse les résultats de notre étude. Par ailleurs, une recherche de Peng *et al*. (2021) a révélé une concentration en polyphénols de 2.44 mg EAG/g d'extrait dans un extrait méthanoïque des graines de *C.pepo L* de Chine, ce qui se rapproche de nos résultats.

Au vu des résultats obtenus, il est évident que tous les extraits bruts des diverses parties de la plante examinée présentent une richesse en polyphénols, bien que dans des proportions variées.

3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFT)

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium. Les résultats sont exprimés en termes d'équivalents de quercétine à l'aide d'un courbe étalonnage (**annexe02**).

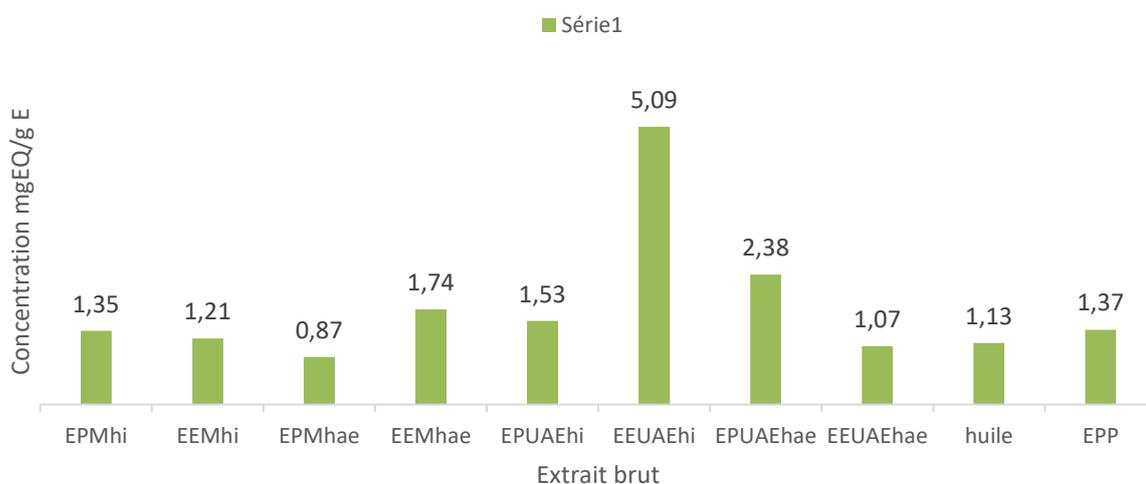


Figure14: Teneurs des flavonoïdes totaux dans les différents extraits bruts de la plante étudiée.

Résultats et discussion

Tableau n° 7: Teneurs en Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS) des différents extraits.

Les extraits	Flavonoïdes totaux mg EQ/g MS
EPMhi	1.35±0.36
EEMhi	1.21±0.12
EPMhae	0.87±0.58
EEMhae	1.74±0.63
EPUAEHI	1.53±0.31
EEUAEhi	5.09±0.62
EPUAEhae	2.38±0.45
EEUAEhae	1.07±0.37
huileUAE	1.13±0.22
EPpoly	1.37±0.30

Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm standard erreur moyenne.

La figure 14 et le tableau 07 révèlent une diversité dans les concentrations de flavonoïdes totaux dans notre étude. L'extrait EEUAEhi se distingue par la concentration la plus élevée de tous, atteignant 5.09±0.62 mg EQ/g d'extrait. Les teneurs des autres extraits fluctuent entre 2.38±0.45 et 1.07±0.37 mg EQ/g d'extrait, alors que la concentration la plus basse a été détectée dans l'extrait EPMhae, avec une valeur de 0.87±0.58 mg EQ/g d'extrait.

Les travaux de Boujemaa *et al.* (2020) indiquent une concentration de 27.52 mg EQ/g d'extrait dans l'huile de *C.pepo L* originaire du Maroc, ce qui est considérablement plus élevé que ce que nous avons trouvé dans notre recherche. De même, Djenidi *et al.* (2020) ont signalé une teneur de 19.93 mg EQ/g d'extrait dans un extrait méthanolique de pulpe de *C.pepo L* de Biskra (Algérie), un résultat qui excède également le nôtre.

L'analyse quantitative des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux dans nos extraits met en lumière le fait que la pulpe de *C.pepo L* est particulièrement riche en polyphénols tandis que les écorces sont plus abondantes en flavonoïdes. En se basant sur les données recueillies, nous pouvons déduire que la concentration de composés phénoliques et flavonoïdes peut être impactée par divers facteurs, y compris les éléments environnementaux

Résultats et discussion

(comme les conditions climatiques et la géographie) et les facteurs induits (tels les aspects génétiques). Cependant, il est également primordial de considérer la partie de la plante exploitée, son degré de maturité et la technique d'extraction. Ces éléments peuvent jouer un rôle déterminant dans la quantité des composés extraits, comme le suggèrent les études de Mahmoudi *et al.* (2013), Rajbhar *et al.* (2015) et Khouchlaa *et al.* (2017).

4. Activité antioxydante

4.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits a été réalisée à l'aide du test au DPPH, une méthode couramment employée pour son efficacité et sa rapidité. Ce test permet d'analyser les capacités antioxydantes des molécules présentes dans les extraits végétaux (Yi *et al.* 2008). Les performances des extraits testés sont quantifiées à travers le pourcentage d'inhibition observé, en utilisant l'acide ascorbique comme référence. Les résultats de ces évaluations sont présentés dans le **tableau 08**.

Tableau n° 8: Pourcentages d'inhibition des radicaux libres et la valeur d'IC50 des extraits de *C.pepo L.*

Extraits	Pourcentage d'inhibition%	IC50 (µg/ml)
EEMhae	43.05±2.8	16.23
EEMhi	27.93±1.6	14.51
EPMhae	35.83±3.2	36.97
EPMhi	28.95±2.1	17.49
EEUAEhae	43.25±6.5	7.28
EEUAEhi	11.15±5.8	10.73
EP UAEhae	38.88±3.5	30.61
EP UAEhi	31.22±0.9	32.69
Huile UAE	52.36±4.1	9.65
EPP	8.83±5.9	9.14

L'analyse des valeurs d'IC50 révèle l'efficacité significative de certains extraits dans le piégeage des radicaux DPPH, avec notamment les extraits EEUAEhae, EPP et l'huile qui manifestent une activité antioxydante notable, leurs valeurs d'IC50 étant respectivement de 7,28, 9,65 et 9,14 µg/mL.

Une étude de Hashash *et al.* (2010) sur un extrait méthanolique de pulpe de *C.pepo L* indique une valeur d'IC50 de 643,09±6,31 µg/ml, et de 576,19±5,35 µg/ml pour un extrait des grains de *C.pepo L*, indiquant une activité antioxydante inférieure à celle observée dans nos recherches. De manière similaire, une recherche de Hamissou *et al.* (2013) sur un extrait aqueux de *C.pepo L* a trouvé une valeur d'IC50 de 12,19 µg/ml, ce qui est conforme à nos

Résultats et discussion

observations. En contraste, une étude de Boujemaa *et al.* (2020) sur l'huile de *C.pepo L* a révélé une valeur d'IC50 de $126,20 \pm 20,44$ $\mu\text{g/ml}$, suggérant une moindre activité antioxydante par rapport à nos résultats.

5. Activité Anti-inflammatoire

5.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

5.1.1. Inhibition de la dénaturation du BSA

Le tableau 09 présente les données relatives à l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts de *C.pepo L*, obtenues en mesurant les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).

Tableau n° 9: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits de *C.Pepo.L*.

Les extraits	Concentration	Pourcentage d'inhibition des extraits (%)	Pourcentage d'inhibition d'aspirine (%)
EPMhi	250ug/ml	71.15±35.3	24.95±2.7
EEMhi		48.07±2.7	21.15±1.9
EPMhae		57.73±19.2	21.15±1.9
EEMhae		50.00±7	51.72±4.6
EPUAEhi		N.A	23.06±5.4
EEUAEhi		63.45±24.4	21.05±2.7
EEUAEhae		77.92±25.7	88.44±4.3
Huile		74.92±26.1	36.53±2.7
EPP		129.8±63.9	26.92±3.8

Selon les résultats, le taux d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) diffère entre l'aspirine, utilisée comme anti-inflammatoire de référence, et les divers extraits de *C.pepo L* analysés.

L'extrait de polysaccharide de pulpe (EPP) a démontré une activité inhibitrice maximale de $129,8 \pm 63,9$, surpassant les autres extraits examinés. Néanmoins, notons que l'aspirine affiche également une forte inhibition avec un taux de $88,44 \pm 4,3\%$.

Les extraits EPMhi, EEMhi, EPMhae, EEUAEhi et l'huile des grains ont révélé des taux d'inhibition supérieurs à ceux obtenus avec l'aspirine, avec des valeurs allant de $48,07 \pm 2,7$ à $77,92 \pm 25,7$ pour les extraits et de $21,05 \pm 2,7$ à $36,53 \pm 2,7$ pour l'aspirine.

Résultats et discussion

Les extraits EEMhae et EEUAehae ont affiché des taux d'inhibition comparables à ceux de l'aspirine, avec des valeurs respectives de $50,00 \pm 7$ et $77,92 \pm 2,7$, contre $51,72 \pm 4,6$ et $88,44 \pm 4,3$ pour l'aspirine.

En comparant les taux d'inhibition des différents extraits à ceux produits par l'aspirine, il apparaît que les extraits de *C.pepo L* possèdent une activité inhibitrice relativement supérieure. Aucune recherche n'a été précédemment conduite pour évaluer l'efficacité anti-inflammatoire *in vitro* des différents extraits de *C.pepo L* via la méthode de dénaturation des protéines BSA. Ainsi, nos résultats suggèrent que les extraits étudiés de *C.pepo L* ont un effet anti-inflammatoire significatif contre la dénaturation des protéines. Des études complémentaires seraient bénéfiques afin de préciser les mécanismes sous-jacents à leur action anti-inflammatoire.

6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

6.1. Activité analgésique (test du writhing)

Le **tableau 10** illustre les effets comparatifs de l'aspirine et de l'huile de *C.pepo L* sur la fréquence des crampes abdominales induites par l'acide acétique chez des souris expérimentales.

Figure n° 10: Effets de l'aspirine et l'huile des graines de *C.pepo L* sur le nombre de crampes abdominales induites par l'acide acétique chez les souris.

Groupes	Les doses	Nombre de crampes abdominales	Pourcentage d'inhibition des crampes abdominales (%)
Témoin	-	55.6 ± 16	-
Aspirine	100mg/ml		83.67 ± 8.7
Huile	50mg/ml	15.67 ± 9.2	72.70 ± 9.2
Huile	100mg/ml	10.17 ± 8.4	82.67 ± 8.4
Huile	200mg/ml	2.16 ± 2.5	91.23 ± 2.5

Après administration de l'acide acétique au groupe contrôle, le nombre moyen de crampes abdominales observé était de $55,6 \pm 16$ après 30 minutes. Avec l'intervention de l'aspirine et de l'huile de graines de *C.pepo L* à des doses de 50, 100 et 200 mg/kg de poids

Résultats et discussion

corporel, on a constaté une diminution des crampes abdominales en comparaison au groupe témoin, présentant respectivement une réduction de $15,67 \pm 9,2$, $10,17 \pm 8,4$ et $2,16 \pm 2,5$. Ceci correspond à des taux d'inhibition de $72,70 \% \pm 9,2$, $82,67 \% \pm 8,4$ et $91,23 \% \pm 2,5$.

L'aspirine a réduit la douleur provoquée par l'acide acétique de $83,67 \pm 8,7$, mais l'effet analgésique était davantage prononcé avec l'huile à la dose de 100 mg/kg de poids corporel.

La procédure utilisant des crampes abdominales provoquées par l'acide acétique a servi à évaluer l'efficacité analgésique de l'huile des graines de *C.pepo L*. L'acide acétique, en tant qu'agent algogène, favorise une inflammation des tissus et déclenche la libération de médiateurs chimiques tels que bradykinine, histamine, sérotonine, acétylcholine et prostaglandines. Ces médiateurs chimiques sensibilisent les nocicepteurs, résultant en une douleur prolongée et diffuse, comme l'indiquent Riahi *et al*, (2012).

Ces résultats suggèrent que l'huile de *C.pepo L* manifeste une activité analgésique notable, qui pourrait être attribuée à l'inhibition de la libération de ces médiateurs de la douleur, et ce, en comparaison à l'aspirine utilisée comme standard de référence.

7. La toxicité aiguë

Les résultats de l'étude de la toxicité aiguë d'huile de *C.pepo L* étudiée par voie orale n'ont présenté aucun signe de toxicité (**tableau 11**).

Tableau 11. Toxicité aiguë d'huile de *C.pepo L*.

Observation	1h	4h	24h
Respiration	Absent	Absent	Absent
Tremblements	Absent	Absent	Absent
Douleurs	Absent	Absent	Absent
Convulsions	Absent	Absent	Absent
Changement de la peau	Absent	Absent	Absent
Mort	Absent	Absent	Absent

Le **tableau 11** indique que les dosages utilisés pour les évaluations de toxicité aiguë ont été choisis en accord avec les recommandations des directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE). Administrés à des concentrations de 5, 50, 300 et 2000 mg/kg de poids corporel, aucun symptôme clinique de toxicité ni décès n'ont été rapportés suite au traitement avec l'huile de *C.pepo L*. De plus, la consommation

Résultats et discussion

alimentaire est restée inchangée chez les souris traitées comparativement au groupe contrôle, et toutes les souris ont survécu pendant toute la durée de l'observation.

Les données concernant l'évolution du poids des divers organes (foie, cœur, poumons, reins) sont illustrées dans la **figure 16**.

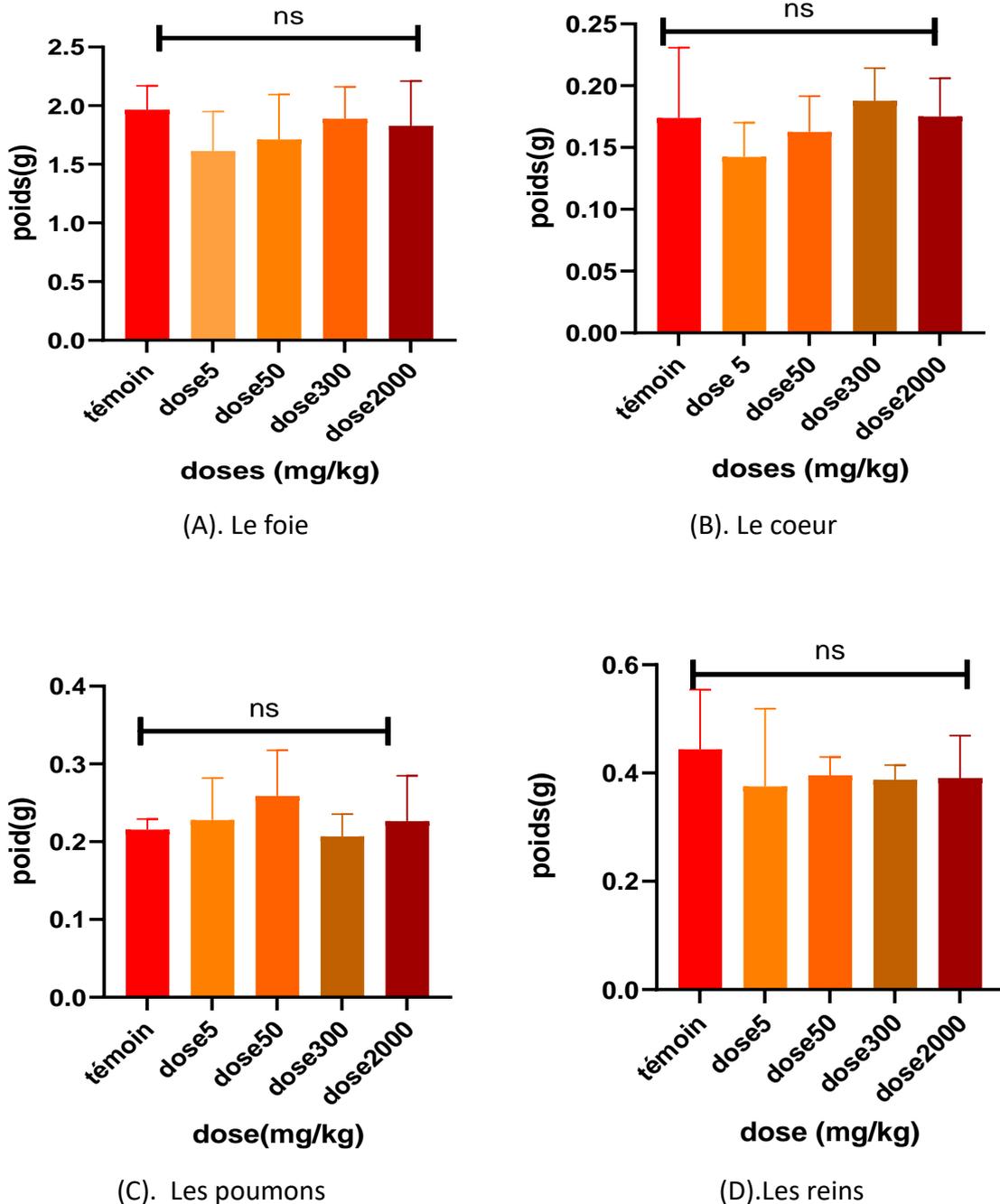


Figure 15 : Effet toxique d'huile des grains de *C. pepo* L sur les organes de *Mus musculus*.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. ns ; non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ **très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif.

Résultats et discussion

Selon les informations fournies par la figure 28, l'évolution du poids des organes (foie, poumons, reins et cœur) n'a révélé aucune variation significative comparée aux organes du groupe témoin, et aucun signe de changement pathologique (en termes de couleur ou d'aspect) n'a été détecté.

Par ailleurs, aucun décès n'a été enregistré jusqu'à la plus haute dose de 2000 mg/kg. Sur cette base, il est possible de déduire que la dose létale minimale (LD50) de l'huile de *C.pepo L* est supérieure à 2000 mg/kg. Ainsi, notre huile se caractérise par une marge de sécurité élevée, présentant un risque de toxicité minimal.



Conclusion

Conclusion

Cette étude s'est concentrée sur l'évaluation des propriétés antioxydantes, analgésiques, anti-inflammatoires et les effets toxicologiques de la plante médicinale *Cucurbita pepo L.*

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu :

Les méthodes d'extraction employées ont permis d'obtenir de bons rendements (20,26 %, 21,53 %, et 62,50 %).

Les tests phytochimiques ont révélé la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, stérols, triterpènes et coumarines, tout en notant l'absence totale de polyphénols, tanins, saponosides, gommes et mucilages dans les diverses parties de la plante.

Les flavonoïdes et polyphénols totaux ont montré d'importantes concentrations, particulièrement dans l'extrait de pulpe (EPUAEhae) avec $3,32 \pm 0,48$ mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols, et dans l'extrait d'écorces (EEUAEhi) avec $5,09 \pm 0,62$ mg EQ/g d'extrait pour les flavonoïdes.

Le test de piégeage des radicaux libres DPPH a validé l'activité antioxydante de *C. pepo L.*, l'extrait d'écorces (EEUAEhae) démontrant la meilleure capacité antioxydante avec IC_{50} de 7,28 μ g/mL.

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été déterminée via l'inhibition de la dénaturation des protéines BSA, l'extrait de polysaccharide de pulpe (EPP) ayant montré une inhibition remarquable de $129,8 \pm 63,9$ %. L'activité anti-inflammatoire *in vivo* a été évaluée à travers le test de contorsions induites par l'acide acétique, révélant un effet inhibiteur significatif de l'huile de *C. pepo L* sur les crampes abdominales.

L'étude de toxicité aiguë *in vivo* ont indiqué que la DL_{50} de l'huile de *C. pepo L* excède 2000 mg/kg de poids corporel, sans signe de toxicité ni mortalité.

Au vu de l'ensemble des résultats, *Cucurbita pepo L* émerge comme une source prometteuse d'agents antioxydants, anti-inflammatoires et analgésiques, corroborant son emploi dans la médecine traditionnelle et soulignant son potentiel pharmacologique.



Références bibliographiques

Référence bibliographiques.

- Achach N. (2006). Stress oxydatif et angor instable: Mémoire de fin d'études pharmaceutiques. Faculté de pharmacie de Monastir Tunisie.
- Adnan, M., Gul, S., Batool, S., Fatima, B., Rehman, A., Yaqoob, S., & Aziz, M. A. (2017). A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and nutritional composition of Cucurbita pepo L. The Journal of Phytopharmacology, 6(2), 133-139.
- AGNERO, M. S. (2019). Évaluation des activités antiinflammatoire, antitussive, analgésique, et antipyrétique de Chrysophyllum welwitschii (Doctoral dissertation, Université Félix Houphouët-Boigny, Côte D'Ivoire).
- AISSANI, F. (2022). Caractérisation phytochimique, valorisation biologique et toxicologique des différents extraits d'une espèce Algérienne Sonchus oleraceus L (Doctoral dissertation).
- Al-Sayed, H. M., & Ahmed, A. R. (2013). Utilization of watermelon rinds and sharlyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake. Annals of Agricultural Sciences, 58(1), 83-95
- 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.
- Anderson J, Caplan L, Yazdany J, Robbins ML, Neogi T, Michaud K, Saag KG, O'Dell JR, Kazi S. (2012). Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use in clinical practice. Arthritis Care Res. 64, 640–647.
- Awah, F. M., Uzoegwu, P. N., Ifeonu, P., Oyugi, J. O., Rutherford, J., Yao, X., ... & Eze, M. O. (2012). Free radical scavenging activity, phenolic contents and cytotoxicity of selected Nigerian medicinal plants. Food Chemistry, 131(4), 1279-1286.
- Babadoost, M., & Zitter, T. A. (2009). Fruit rots of pumpkin: A serious threat to the pumpkin industry. Plant Disease, 93(8), 772-782.
- Barnes PJ, Larin M. (1997) Mechanisms of disease - Nuclear factor-kappa b - A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. N. Engl. J. Med. ; 336 : 1066–1071..
- Barros, L., Cabrita, L., Boas, M. V., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2011). Chemical, biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wild plants. Food Chemistry, 127(4), 1600-1608
- Bekkai, S., Abadi, I., Allel, K. (2009). les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).
- Belatik, A. (2014). Étude de l'effet toxique du plomb sur l'activité photosynthétique des plantes (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

Référence bibliographiques.

- Belkacemi Imane, (2014). Activité anti inflammatoire des extraits des feuilles de Clematis flammuls, UNV de Mira Bégai, 2.
- Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie: Thèse de Doctorat, 30.
- Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- 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
- Bounbou-Tsona, G. (2023). Études phytochimiques et activités anti-inflammatoires d'extraits de plantes médicinales du Congo Brazzaville (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne; Université Marien-Ngouabi (Brazzaville)).
- Bousta, D. and Ennabili, A. (2011). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. Pharmacognosie. Phytothérapie, 9:297-303.
- Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. (2005) : Selenium, oxidative stress, and health aspects : Mol Aspects Med; 26: 256-267.
- BRION N., GUILLEVIN L., LE PARC J-M., La corticothérapie en pratique, Masson Ed, Paris, 1998, 376 p
- Caili, F. U., Huan, S., & Quanhong, L. I. (2006). A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant foods for human nutrition*, 61, 70-77
- Chanpirom S, Saewan N, Sripisut T. (2022) Alternative Utilization of Vegetable Crop: Pumpkin Polysaccharide Extract and Their Efficacy on Skin Hydration. *Cosmetics.*; 9(6):113
- Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours: définition et applications (Doctoral dissertation).
- Diallo, I. (2019). Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de Lentinula edodes (Shiitake) sous différentes conditions de culture (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
- 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.

Référence bibliographiques.

- Emerit J., Fechner J., Galli A., Clavel J.P., Congy F. (1986) Les radicaux libres dérivés de l'oxygène et la peroxydation lipidique. Rôle en biologie cellulaire et en physiopathologie. *Presse Medicale* 15, 751-754.
- Ghanem.Samir.Abdellatif, Boutebaig.Othman, Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Rétama sphaerocarpa*, thèse Master Académique, Université Mohamed Boudiaf - M'sila, (2019).
- Ghosh S, Saha K, Dasgupta SC, Gomes A. In vitro and In vivo Anti-Arthritic and Anti-Inflammatory Activity of Bungarus Fasciatus Venom. *J Toxins*. 2015;2(1): 5.
- Gomes, L. C.; Alcalde, C. R.; de Macedo, F. D. F.; dos Santos, G. T.; Valloto, A. A.; de Lima, L. S.; Molina, B. S. D., (2012). Performance of lactating goats fed diets containing inactive dry yeast. *Rev. Bras. Zootecn.*, 41 (10): 2249-2254.
- Gueye, P. M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)(1971-2008)).
- Guiga, M. S. (2019). Vitamine E: métabolisme, rôle physiologique: intérêt et risques d'une supplémentation (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Hamissou, M., Smith, A. C., Carter Jr, R. E., & Triplett II, J. K. (2013). Antioxidative properties of bitter melon (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 641-647
- Han, X.; Shen, T. and Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950-988.
- 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 (*Curcubita pepo* L.) fruits grown in Egypt. *inflammation*, 9(10), 11-12
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J. G., Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, J. M., ... & Martínez-Sánchez, C. E. (2016). Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 429-436
- Irnawati, I., Riyanto, S., Martono, S., Windarsih, A., & Rohman, A. (2022). Physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin seed oil as affected by different origins and extraction methods. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(3), 115-122.

Référence bibliographiques.

- Kandemir, K., Piskin, E., Xiao, J., Tomas, M., & Capanoglu, E. (2022). Fruit juice industry wastes as a source of bioactives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(23), 6805-6832.
- Kaur, S., Panghal, A., Garg, M. K., Mann, S., Khatkar, S. K., Sharma, P., & Chhikara, N. (2020). Functional and nutraceutical properties of pumpkin—a review. *Nutrition & Food Science*, 50(2), 384-401.
- Khan, F., Garg, V. K., Singh, A. K., Kumar, T. (2018). Role of free radicals and certain antioxidants in the management of Huntington's disease: a review. *J Anal Pharm Res.* 7(4):386-392
- 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
- Knight JA. (2000). Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Annals Clinical Lab. Sci.* 30, 145–158
- Laouafa, S. (2018). Rôle protecteur de l'estradiol contre les conséquences systémiques et cellulaires dans un modèle d'apnées obstructives du sommeil: implication des récepteurs nucléaires ER α et ER β (Doctoral dissertation, Université de Lyon; Université Laval (Québec, Canada)).
- Lartundo-Rojas, L. (2007). *Influence de l'adsorption de protéine (BSA) sur le comportement électrochimique et la composition de surface d'un alliage Fe-17Cr en solution aqueuse* (Doctoral dissertation, Thesis, école doctorale 388, University of Paris VI, France).
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 285-292). Dordrecht, The Netherlands, Springer.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8): 118–126
- 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.
- Mémoire de fin d'étude : biochimie. Annaba :Université Badji mokhtar de Annaba. Ferradji, A. (2010). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. mémoire : biochimie. setif : Université ferhat Abbas

Référence bibliographiques.

- Meziti, H. (2018). *Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva parviflora L* (Doctoral dissertation).
- 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.
- Neha, K., & Wakode, S. (2021). Contemporary advances of cyclic molecules proposed for inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 221, 113493.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(23), 6882-6890
- Paris, H. S., & Brown, R. N. (2005). The genes of pumpkin and squash. *HortScience*, 40(6), 1620-1630.
- 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
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. & Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases; *Ind J Clin Biochem* 30, 11–26 (2015)
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J.O : Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante : *Nutrition clinique et métabolisme* : 2002 ; 16 : 233-239.
- Pinna N, Ianni F, Blasi F, Stefani A, Codini M, Sabatini S, Schoubben A, Cossignani L. Unconventional Extraction of Total Non-Polar Carotenoids from Pumpkin Pulp and Their Nanoencapsulation. *Molecules*. 2022; 27(23):8240.
- Rajbhar, K., Dawda, H., Mukundan, U. (2015). Polyphenols: Methods of extraction. *Sci. Revs. Chem. Commun*, 5(1): 1-6.
- Ramak, P., & Mahboubi, M. (2019). The beneficial effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil for health condition of men. *Food reviews international*, 35(2), 166-176
- Ratnam, N., Naijibullah, M., & Ibrahim, M. D. (2017). A review on *Cucurbita pepo*. *Int J Pharm Phytochem Res*, 9, 1190-1194.
- Ratnam, N., Naijibullah, M., Ibrahim, M. D. (2017). A review on *Cucurbita pepo*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(9): 1190-1194.

Référence bibliographiques.

- Riahi, R. C., Tarhouni, S. S., & Kharrat, R. R. (2012). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 88(1-4), 19-28
- RICHARD D., SENON J-L., ROBLLOT P., Corticoïdes et corticothérapie, Hermann Ed, Paris, 1997, 418 p.
- Saffidine, K. (2018). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *carthamus caeruleus* L. et de *plantago major* L (Doctoral dissertation).
- SAIDI, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).
- Schwartz, K., Mathieu, M., Guimezanes, A., Donnet-kamel, M., & Litadier-Dossou, M. A. (2011). Inflammation et maladies: clés de compréhension. Inserm, 2012, 74.
- Sharma M, Bhat R. Extraction of Carotenoids from Pumpkin Peel and Pulp: Comparison between Innovative Green Extraction Technologies (Ultrasonic and Microwave-Assisted Extractions Using Corn Oil). Foods. 2021 Apr 6;10(4):787.
- Thomas, M. (2020). Peau sèche et vieillissement cutané: clinique, facteurs aggravants et réponses cosmétiques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Tremellen K (2008) Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. Hum Reprod Update 14, 243-258.
- Vanier P. (2007). La citrouille au fil du temps, usages culinaires, conservation, jardinage, biologique. Ecologie et environnement
- Walum, E. (1998). Acute oral toxicity. Environmental health perspectives, 106(suppl 2), 497-503.
- Weekers, T. (2021). Impact de traitements d'homogénéisation à haute pression sur les propriétés physico-chimiques des protéines du lactosérum.
- Wichtl, M. and Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques. In Lavoisier. TEC and DOC. Paris. p:687
- Wiseman, H. and B. Halliwell, Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. Biochem J, 1996. 313 (Pt 1): p. 17-29
- wrZulfiker A., Rahman M.M., Hossain M.K., Hamid K., Mazumder M., Rana M.S. (2010). In vivo analgesic activity of ethanolic extracts of two medicinal plants-*Scoparia dulcis* L. and *Ficus racemosa* Linn. Biol. Med. ;2:42-48.

Référence bibliographiques.

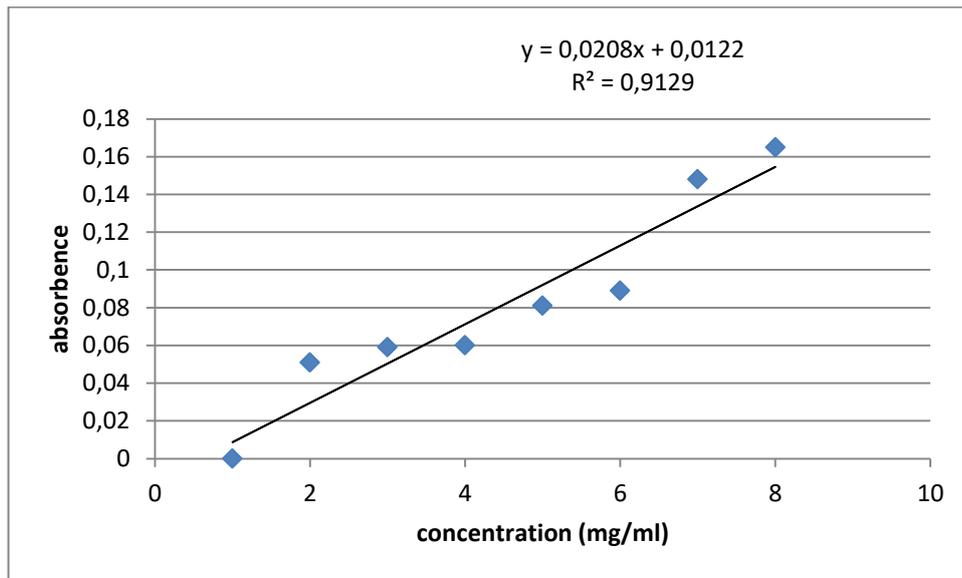
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/2741541.pdf> [consulté le 27 mars 2024] (2).

<https://ici.radio-canada.ca/ohdio/premiere/emissions/moteur-de-recherche/segments/entrevue/421568/courge-toxique-fruit-legume> (consulté le 2 juin 2024) (1)

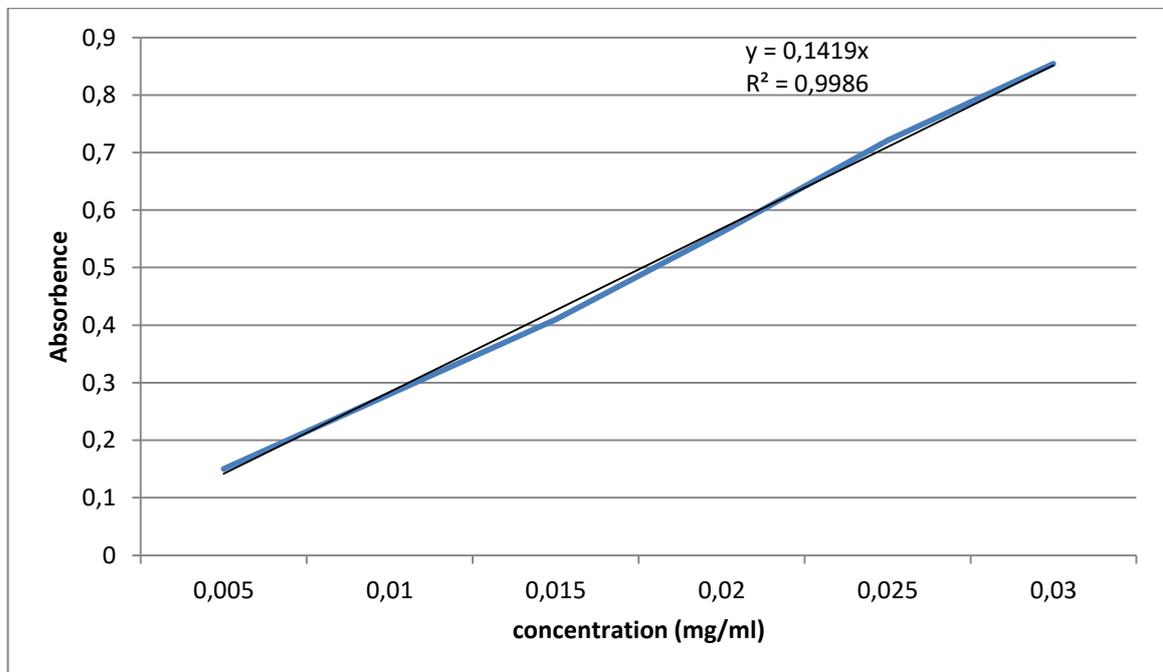


Annexes

Annexes

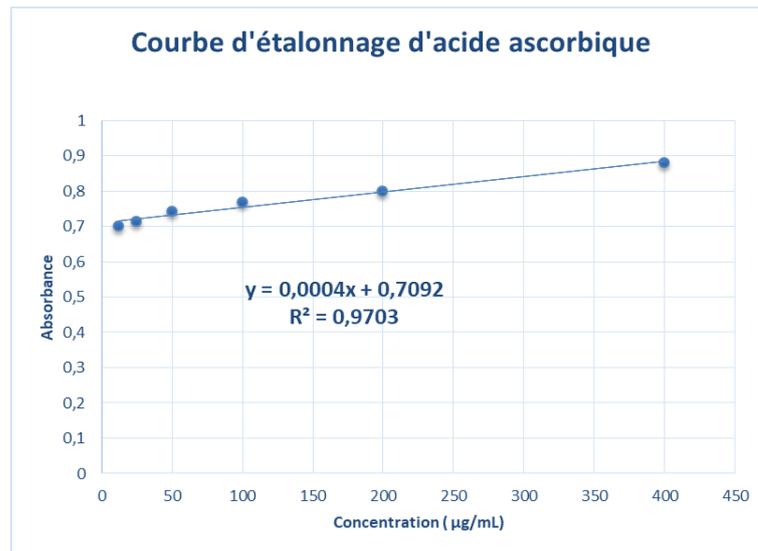


Annexe01. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe02. Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Annexes



Annexe03. courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.