

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn-Khaldoun, Tiaret



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

Mlle HARRATH Fatima

Mlle SENOUCI Souad

Mlle TAYEB Hadjer

Thème

**Etude phytochimique et propriétés biologiques du
grenadier (*Punica granatum* L).**

Soutenu publiquement le :

Devant les membres de jury

Président : Dr. ACHIR Mohamed

Université de Tiaret

Encadrant : Pr. BOUSSAID Mohamed

Université de Tiaret

Examineur : Dr. BERRABEH Hicham

Université de Tiaret

Année universitaire: 2024-2025

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné la force, la patience et la persévérance requises pour l'accomplissement de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer chaleureusement notre profonde reconnaissance à notre superviseur, le professeur **BOUSSAID Mohamed**, pour son soutien, son conseil avisé et son présence constante tout au long de ce projet. Nous avons bénéficié d'un encadrement riche en contenu tant sur le plan scientifique que sur le plan humain.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers Monsieur **ACHIR Mohamed** président du jury, pour son engagement et l'intérêt qu'il a accordé à notre travail.

Nous tenons aussi à remercier Monsieur **BERRABEH Hicham** examinateur de ce travail

Nous tenons aussi à remercier sincèrement les professeurs de biologie moléculaire pour leur aide précieux.

Un grand merci également à madame **SAMMAR F**, ingénieure du laboratoire de biochimie, et madame **MEKNASSI K** pour le soutien précieux qu'elle nous a apporté tout au long de notre travail.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous ceux qui, directement ou indirectement, nous ont soutenus et aidés tout au long de cette expérience. Leur soutien et leur sollicitude nous ont grandement réconfortés. À chacun et à chacune d'entre vous, nous exprimons notre sincère gratitude.

Dédicaces

Nous dédions ce mémoire à nos familles, et en particulier à nos parents
Pour leur amour inconditionnel, leur patience, leurs sacrifices et leur soutien
constant tout au long de notre parcours.

À nos frères et sœurs, pour leur présence et leurs encouragements
même dans les moments de doute.

À nos amis, pour leur soutien.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation
de ce travail

Merci du fond du cœur.

Résumé

Résumé

Ce travail vise à étudier la composition phytochimique et les propriétés biologiques du péricarpe du fruit de *Punica granatum*, collecté dans trois régions différentes (Takhmaret, Relizane et une variété achetée). Les extraits ont été préparés par macération utilisant trois solvants : l'éthanol 70 %, l'eau distillée et l'acétone. Les dosages spectrophotométriques ont révélé des teneurs variables en polyphénols, flavonoïdes et tanins selon les extraits et les origines, les extraits acétoniques se distinguant par des concentrations plus élevées en composés bioactifs. Les activités antioxydantes, évaluées par la méthode DPPH, montrent une forte capacité de piégeage des radicaux libres, notamment pour l'extrait acétonique de Takhmaret ($IC_{50} = 0,0078$ mg/ml). Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire, mesurée par le test d'inhibition de la dénaturation de la BSA, a également révélé des effets significatifs pour plusieurs extraits. Une corrélation est observée entre les teneurs en métabolites secondaires et les deux activités biologiques, soulignant le potentiel thérapeutique du péricarpe de grenade comme source naturelle d'antioxydants et d'agents anti-inflammatoires.

Mots-clés : *Punica granatum*, péricarpe, polyphénols, flavonoïdes, tanins, antioxydant, anti-inflammatoire, DPPH, BSA, extraction.

Summary

This study aims to investigate the phytochemical composition and biological properties of the pericarp of *Punica granatum* fruits collected from three different regions (Takhmaret, Relizane, and a commercially available variety). Extracts were prepared by maceration using three solvents: 70% ethanol, distilled water, and acetone. Spectrophotometric assays revealed variable contents of polyphenols, flavonoids, and tannins depending on the extract and origin, with acetonetic extracts exhibiting the highest concentrations of bioactive compounds. Antioxidant activities, assessed using the DPPH radical scavenging method, demonstrated strong free radical scavenging capacities, particularly for the acetonetic extract from Takhmaret ($IC_{50} = 0.0078$ mg/mL). Furthermore, anti-inflammatory activity, evaluated via the BSA denaturation inhibition assay, also showed significant effects for several extracts. A correlation was observed between secondary metabolite content and both biological activities, highlighting the therapeutic potential of pomegranate pericarp as a natural source of antioxidants and anti-inflammatory agents.

Keywords: *Punica granatum*, pericarp, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant, anti-inflammatory, DPPH, BSA, extraction.

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي النباتي والخصائص البيولوجية لغلاف ثمرة الرمان، التي جُمعت من ثلاث مناطق مختلفة (تخمارت، غليزان، وصنف مُشترى). حُضِرَت المستخلصات عن طريق النقع باستخدام ثلاثة مذيبات: إيثانول 70%، وماء مقطر، وأسيتون. كشفت الاختبارات الطيفية الضوئية عن محتوى متفاوت من البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات تبعًا للمستخلصات وأصولها، مع تميز مستخلصات الأسيتون بتركيزات أعلى من المركبات النشطة بيولوجيًا. تُظهر الأنشطة المضادة للأكسدة، المُقيّمة بطريقة DPPH، قدرة عالية على إزالة الجذور الحرة، وخاصةً لمستخلص الأسيتون من تخمارت ($IC_{50} = 0.0078$ ملغ/مل). علاوة على ذلك، كشف النشاط المضاد للالتهابات، الذي تم قياسه عن طريق اختبار تثبيط تحليل BSA، أيضًا عن تأثيرات ملحوظة للعديد من المستخلصات. لوحظ ارتباط بين مستويات المستقلبات الثانوية والنشطين البيولوجيين، مما يُبرز الإمكانيات العلاجية لقشرة الرمان كمصدر طبيعي لمضادات الأكسدة والعوامل المضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: رمان، قشرة الرمان، بوليفينولات، فلافونويدات، تانينات، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات، DPPH، BSA، مستخلص

Liste des abréviations

Liste des abréviations

Abréviation	Designation
%I	Pourcentage d'inhibition
A Ac	Acheté acétone
A Aq	Acheté aqueux
A E	Acheté éthanol
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
BSA	Albumine sérique bovine
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG	Equivalent d'acide gallique
EC	Equivalent de catéchine
EQ	Equivalent de quercétine
IC ₅₀	Concentration d'inhibition qui correspond à 50% de DPPH
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
R Ac	Rélizane acétone
R Aq	Rélizane aqueux
R E	Rélizane éthanol
T Ac	Takhmaret acétone
T Aq	Takhmaret aqueux
TE	Takhmaret éthanol
Tris	Hydroxy-méthyl-aminométhane

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1. Grenadier.....	4
Figure 2. Feuilles de grenadier	6
Figure 3. Fleurs de Punica granatum	7
Figure 4. Fruit de grenadier	7
Figure 5. Graines de grenadier	8
Figure 6. Ecorce de grenade	8
Figure 7. péricarpes de Punica granatum (personnel)	17
Figure 8. Evaporateur rotative (personnel).....	19
Figure 9. Schéma de protocole de préparation des extraits	19
Figure 10. Teneurs en polyphénols des différents extraits.....	26
Figure 11. Teneurs en flavonoïdes des différents extraits.....	27
Figure 12. Teneurs en tanins des différents extraits.....	28
Figure 13. Pourcentage d'inhibition du BSA de la concentration 0.1 mg/ml.....	32
Figure 14. Pourcentage d'inhibition du BSA de la concentration 0.05mg/ml.....	32

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1. Principale variétés de grenade dans le monde et en Algérie.....	9
Tableau 2. Rendements des extraits bruts en (%).....	24
Tableau 3. Valeurs des IC50 du DPPH des extraits.....	30

Table des matières

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces.....	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	1

Chapitre 1

Synthèse bibliographie

1. Présentation générale du grenadier (<i>Punica granatum</i> L)	4
1.1. Nomenclature	4
1.2. Classification botanique	5
1.3. Répartition géographique	5
1.4. Biologie de grenadier	6
1.4.1. Les feuilles.....	6
1.4.2. Les fleurs	6
1.4.3. Le fruit	7
1.4.4. Les graines.....	7
1.4.5. L'écorce (ou péricarpe).....	8
1.5. Les variétés de grenadier	9
1.6. Le cycle végétal.....	10
1.6.1. Plantation.....	10
1.6.2. Floraison	10
1.6.3. Fructification	10
1.7. Usage de grenadier	10
1.7.1. Usage thérapeutique	10
1.7.2. Usage agroalimentaire	11
1.7.3. Usage cosmétique.....	11
2. Métabolites secondaires.....	11

Table des matières

2.1. Généralités	11
2.2. Les composés phénoliques	11
2.2.1. Les phénols simples.....	12
2.2.2. Les acides phénoliques	12
2.2.3. Les flavonoïdes.....	12
2.2.4. Les tanins.....	13
2.3. Les alcaloïdes	13
2.4. Les terpènes	13
3. Propriétés biologiques du grenadier	14
3.1. Activité antioxydante.....	14
3.2. Activité anti-inflammatoire	14
3.3. Activité antimicrobienne	14
3.4. Activité anti-hémolytique	15

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1. Lieu et conditions de l'étude	17
2. Objectifs de l'étude.....	17
3. Matériel et méthodes	17
3.1. Matériel végétal	17
3.2. Méthodes	18
3.2.1. Préparation des échantillons.....	18
3.2.2. Préparation des extraits	18
3.2.2.1. Extraction par macération	18
3.2.3. Calcul du rendement d'extraction	20
3.2.4. Dosage des métabolites secondaires.....	20
3.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux	20
3.2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux	20
3.2.4.3. Dosage des tanins condensés.....	21
3.2.5. Évaluation des activités biologiques	21
3.2.5.1. Activité antioxydante (méthode DPPH).....	21
3.2.5.2. Activité anti-inflammatoire	22

Table des matières

Chapitre3

Résultats et discussion

1. Rendements d'extraction.....	24
2. Teneurs en métabolites secondaires.....	25
2.1. Teneurs en polyphénols totaux	25
2.2. Teneurs en flavonoïdes totaux	27
2.3. Teneurs en tanins condensés.....	28
3. Activités biologiques	29
3.1. Activité antioxydante.....	29
3.2. Activité anti-inflammatoire	32
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	37

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans les systèmes de santé traditionnels et demeurent aujourd'hui au cœur de nombreuses recherches scientifiques. Elles constituent des sources inestimables de molécules bioactives utilisées dans la prévention et le traitement de multiples affections. Ce regain d'intérêt s'explique notamment par les limites croissantes des médicaments de synthèse, souvent associés à des effets indésirables, une résistance croissante des agents pathogènes et un coût élevé, particulièrement dans les pays en développement (Fabricant & Farnsworth, 2001 ; Newman & Cragg, 2020). De ce fait, les extraits végétaux apparaissent comme des alternatives thérapeutiques crédibles, offrant à la fois sécurité, biodisponibilité et durabilité.

Dans ce contexte, le grenadier (*Punica granatum* L.), espèce fruitière originaire de la région méditerranéenne, s'impose comme une plante d'un grand intérêt médicinal. Réputé pour ses arilles sucrés et juteux, ce fruit est largement consommé dans les pays du Maghreb, notamment en Algérie, où sa culture est bien implantée. Apprécié pour sa saveur et sa disponibilité à un prix abordable sur les marchés locaux en saison automnale, le fruit est principalement utilisé pour sa partie comestible. Pourtant, d'autres parties telles que l'écorce externe, appelée péricarpe, sont souvent négligées ou jetées, bien qu'elles regorgent de composés bioactifs à fort potentiel thérapeutique (Jurenka, 2008 ; Lansky & Newman, 2007).

Plusieurs travaux ont montré que le péricarpe de la grenade est particulièrement riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes et tanins. Ces composés exercent diverses activités biologiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antiprolifératives et cytoprotectrices (Viuda-Martos et al., 2010 ; Ismail et al., 2012). Leur mécanisme d'action passe principalement par la neutralisation des radicaux libres, la chélation des métaux de transition, l'inhibition de la peroxydation lipidique et la modulation de diverses voies enzymatiques impliquées dans les processus inflammatoires (Ghedira, 2005 ; Ranjha et al., 2021).

La valorisation de ces sous-produits végétaux, souvent considérés comme déchets, s'inscrit dans une démarche écoresponsable et innovante. Elle permettrait non seulement de réduire le gaspillage agroalimentaire, mais également de développer des produits nutraceutiques ou pharmaceutiques d'origine naturelle. Cette approche est particulièrement pertinente dans le contexte algérien, où le grenadier est une espèce largement disponible et

Introduction

culturellement valorisée, mais dont le potentiel thérapeutique reste encore sous-exploité (Hassen, 2022).

Dans cette optique, le présent travail vise à évaluer le potentiel bioactif des écorces de *Punica granatum*, issues de trois origines différentes : Takhmaret, Relizane et une variété issue du commerce local.

Chapitre 1

Synthèse bibliographie

1. Présentation générale du grenadier (*Punica granatum* L)

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est un arbuste fruitier (Fig.1) originaire des régions allant de l'Iran à l'Himalaya, aujourd'hui largement cultivé dans de nombreuses zones tempérées et subtropicales du globe. Il peut atteindre une hauteur comprise entre 1,5 et 5 mètres. Il présente un port buissonnant, avec des branches parfois irrégulières, épineuses et dotées de feuilles luisantes, opposées, simples et oblongues. Dans les climats tempérés, il est caducifolié, tandis qu'il peut conserver un feuillage persistant sous des climats plus cléments. Les fleurs, généralement rouges mais parfois jaunes ou blanches, sont axillaires, solitaires ou regroupées, avec un calice épais et tubulaire formé de 5 à 7 lobes triangulaires. Elles sont hermaphrodites, actinomorphes, et possèdent une corolle formée de pétales brillants, sans parfum. Le fruit, appelé grenade, est une baie globuleuse à écorce coriace dont la couleur varie du rouge clair au jaune verdâtre, et parfois jusqu'au violet foncé selon la variété (Shaygannia et *al.*, 2016).



Figure 1. Grenadier (Source:[1])

1.1. Nomenclature

Langue	Nom courant
Nom scientifique	<i>Punica granatum</i> L.
Français	Grenadier
Anglais	Pomegranate
Espagnol	Granado
Italien	Melograno
Arabe	Rummān (رمان)

(Maizi, 2021)

1.2. Classification botanique

Autrefois classé dans la famille des Punicaceae, le grenadier est aujourd'hui intégré à la famille des Lythraceae selon les révisions taxonomiques récentes. Le genre *Punica* comprend deux espèces :

- *Punica granatum*, espèce principale, cultivée pour ses fruits,
- *Punica protopunica*, espèce endémique de l'île de Socotra, au Yémen.

Classification botanique :

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Myrtales
- Famille : Lythraceae
- Genre : *Punica*
- Espèce : *Punica granatum* L

(Janani et *al.*, 2019)

1.3. Répartition géographique

Dans le monde

Punica granatum est cultivé dans plusieurs régions d'Asie occidentale et centrale, notamment en Iran, Afghanistan, Turquie, Turkestan et Transcaucasie. Il est également largement implanté dans le bassin méditerranéen, incluant des pays comme l'Algérie, l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Tunisie et le Maroc. On le retrouve aussi en Amérique du Sud, en Californie et dans certaines zones tropicales. Toutefois, sa culture demeure marginale dans certaines régions de France, du Portugal, d'Égypte, de Syrie et des Balkans (Evreinoff, 1957).

En Algérie

Le grenadier est présent dans plusieurs régions du pays, notamment dans le nord à climat subhumide. Il est cultivé dans les jardins traditionnels de Kabylie, la plaine de la Mitidja, ainsi que dans les wilayas de Tipaza, Béjaïa, Djelfa, et jusqu'au sud du pays. Malgré des contraintes techniques et économiques, l'Algérie se distingue par une diversité variétale et une production prometteuse (Kaci et *al.*, 2015).

1.4. Biologie de grenadier

1.4.1. Les feuilles

Les feuilles du grenadier sont simples, opposées, glabres et de forme oblongue à elliptique. Elles mesurent entre 2,5 et 6,3 cm de long. Leur surface est brillante, avec des ponctuations translucides visibles au microscope, et leur couleur varie du vert clair à une teinte rougeâtre selon le stade de développement. Elles se rétrécissent à la base en un court pétiole (Haque et *al.*, 2015).

Ces feuilles sont riches en composés phénoliques, notamment des tanins comme la punicine (Fig.2), l'acide gallique, l'acide ellagique et l'acide pédonculaire. Elles contiennent également des flavonoïdes tels que la lutéoline et l'apigénine, connus pour leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires (Al-Muammar y Khan, 2012 ; Janani et *al.*, 2019).



Figure 2 . Feuilles de grenadier (Source:[2])

1.4.2. Les fleurs

Les fleurs de *Punica granatum* sont généralement axillaires, solitaires ou parfois groupées par deux (Fig.3). Elles présentent un calice rouge épais et tubulaire, avec six à huit lobes triangulaires. La corolle est composée de cinq à sept pétales charnus, rouge vif, sans parfum et à saveur astringente (Evreinoff, 1957 ; Benslimane, 2021).

Les fleurs contiennent plusieurs métabolites secondaires importants : des polyphénols (acide gallique, acide ellagique) ainsi que des triterpènes pentacycliques tels que les acides oléanolique, ursolique, maslinique et asiatique, reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires et antiprolifératifs (Akpınar-Bayazit et *al.*, 2012).

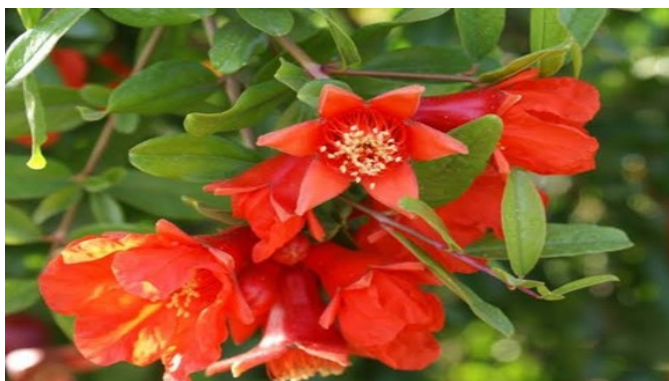


Figure 3 . Fleurs de *Punica granatum* (Source:[3])

1.4.3.Le fruit

Le fruit du grenadier, appelé grenade, est une baie globuleuse, parfois légèrement aplatie ou polygonale, de taille comparable à celle d'une orange (Fig.4). Il est caractérisé par un péricarpe épais, coriace, et surmonté de manière persistante par les restes du calice dentelé, formant une couronne rigide. Sa couleur évolue du vert au stade immature vers des teintes ivoire-rougeâtres, puis au rouge terne ou jaune-brun à maturité, avec parfois des marbrures ou taches plus sombres selon les variétés (Evreinoff, 1949).

Sur le plan interne, la grenade est compartimentée par des cloisons fines formant plusieurs loges. Chaque loge contient de nombreuses graines anguleuses ou polyédriques, enveloppées d'une pulpe juteuse de couleur rose grenat à rouge foncé. Cette pulpe, au goût sucré ou acidulé selon la variété, constitue la partie comestible du fruit.



Figure 4. Fruit de grenadier (Source:[4])

1.4.4.Les graines

Les graines de grenade, ou arilles (Fig.5), sont principalement composées d'eau (environ 85 %), de sucres simples (environ 10 %, essentiellement du fructose et du glucose) et d'acides organiques (1,5 %), dont l'acide ascorbique, l'acide citrique et l'acide malique. Elles renferment également une quantité significative de composés bioactifs tels

que les polyphénols, les flavonoïdes, notamment des anthocyanines, et constituent une source appréciable de lipides, puisque les pépins contiennent entre 12 et 20 % de leur poids en acides gras essentiels (Calin, 2005).



Figure 5. Graines de grenadier (Source:[5])

1.4.5.L'écorce (ou péricarpe)

L'écorce externe de la grenade (Fig.6), également appelée *malicorium*, constitue la partie dure et protectrice du fruit. Elle est traditionnellement utilisée sous forme séchée, en fragments de couleur brun-rouge à l'extérieur, souvent verruqueux et brillants, et jaunâtre à l'intérieur. Ces fragments présentent une texture coriace et sont composés d'un tissu cellulaire à parois fines, comprenant des cellules pierreuses et des faisceaux fibrovasculaires (Planchon & Collin, 1875 in Wald, 2009).

Cette écorce représente près de la moitié du poids total du fruit et constitue une source majeure de composés bioactifs : polyphénols, flavonoïdes, ellagitanins, proanthocyanidines et minéraux. Cette richesse justifie son intérêt croissant dans la recherche biomédicale et nutritionnelle (Calin, 2005).

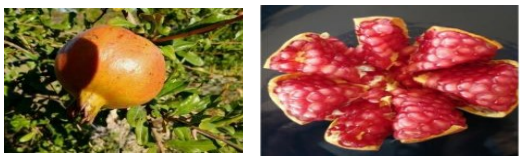


Figure 6. Ecorce de grenade (auteurs, 2025).

1.5. Les variétés de grenadier

Il existe une grande diversité variétale de grenadier à travers le monde, influençant la qualité organoleptique et les propriétés bioactives des fruits. En Oranie, les variétés les plus répandues sont : Tendral (ou Molla), Blanca, Si Hueso et Colorado. En Kabylie, on rencontre d'autres variétés cultivées dans des jardins familiaux, souvent désignées par des noms locaux comme *Lahlou* ou *Elmouze*. À ce jour, quatorze variétés sont officiellement reconnues et autorisées à la commercialisation par les autorités algériennes (Chouaki et *al.*, 2006).

Tableau 1. Principale variétés de grenade dans le monde et en Algérie
(Benkherbache, & Benkherbache, 2021)

Variétés de grenade	Photos	Caractéristiques
Sefri		Couleur : jaune à rose Arilles : rose clair-doux
Kabylie		Couleur : rose Arilles : violacé-doux
Shani		Couleur : rouge Arilles : rouge foncé-doux
Hicaz		Couleur : rouge Arilles: rouge clair-Doux/acide
Wonderful		Couleur : rouge foncé Arilles : rouge_Doux/acide

1.6. Le cycle végétal

La reproduction du grenadier peut être réalisée par différentes méthodes : semis, bouturage, marcottage, drageonnage ou greffage. Toutefois, le bouturage est la méthode la plus couramment utilisée en raison de sa simplicité et de son efficacité (Kaci Meziane, 2018).

1.6.1. Plantation

Les distances de plantation varient en fonction de la nature du sol. Dans des sols riches et profonds, les grenadiers sont plantés tous les 5 mètres (environ 400 plants/hectare), tandis que dans les sols moins fertiles, on espace les plants de 6 mètres (soit environ 277 plants/hectare). Les périodes de plantation varient selon les conditions climatiques et l'altitude : on peut planter soit à l'automne (novembre-décembre), soit au printemps (mars-avril) (Lahouel, 2022).

1.6.2. Floraison

La floraison du grenadier s'étale généralement entre mars et avril pour certaines variétés précoces, et de juin à août pour les variétés tardives. Elle dure en moyenne 10 à 12 semaines (Douaouri, 2018). Le grenadier est une espèce monoïque, produisant à la fois des fleurs hermaphrodites fertiles, en forme de vase, et des fleurs mâles stériles, en forme de cloche, avec un ovaire atrophié et un style très court (Oukabli et *al.*, 2004).

1.6.3. Fructification

La mise à fruit intervient généralement à partir de la quatrième année après plantation. La qualité et la taille des fruits sont largement influencées par la fréquence de l'irrigation : une irrigation régulière et maîtrisée favorise le développement de fruits volumineux, mais un excès peut provoquer leur éclatement, les rendant alors impropres à la consommation (Hassen, 2022).

1.7. Usage de grenadier

1.7.1. Usage thérapeutique

En médecine ayurvédique, *Punica granatum* est souvent qualifiée de « pharmacie à elle seule » en raison de la diversité de ses vertus thérapeutiques. L'écorce du fruit est traditionnellement utilisée pour traiter la diarrhée, la dysenterie, les infections parasitaires, ainsi que comme agent vermifuge et anthelminthique. De plus, elle est impliquée dans la prévention et le traitement de pathologies chroniques telles que le diabète, les maladies

cardiovasculaires et certains types de cancer (Bhowmik et *al.*, 2013 ; Lansky & Newman, 2006).

1.7.2. Usage agroalimentaire

La grenade suscite un intérêt croissant dans l'industrie agroalimentaire, non seulement pour ses propriétés nutritionnelles, mais aussi pour ses qualités sensorielles : couleur, goût et arôme. Elle est incorporée dans divers produits alimentaires : yaourts, boissons, produits carnés, emballages comestibles, céréales, noix, et préparations à base de poisson. Des études ont démontré l'efficacité de l'extrait de grenade pour améliorer la stabilité et les qualités fonctionnelles de ces aliments (Kandylis & Kokkinomagoulos, 2020).

1.7.3. Usage cosmétique

Les extraits de grenade sont largement utilisés dans le domaine cosmétique, notamment pour leurs effets régénérants sur la peau. Ils ont démontré une efficacité dans la réparation cutanée, la réduction des rides liées au vieillissement, et la protection contre les lésions causées par les rayons UV (Teixeira da Silva et *al.*, 2013 ; Ko et *al.*, 2021).

2. Métabolites secondaires

2.1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des composés organiques produits par les plantes qui ne participent pas directement aux fonctions vitales telles que la croissance ou la reproduction, mais jouent un rôle essentiel dans leur adaptation à l'environnement. Ils interviennent notamment dans la défense contre les herbivores, les agents pathogènes, et les stress abiotiques (Bouaziz, 2014).

Les métabolites secondaires des plantes se classent en trois grandes familles selon leur voie de biosynthèse : les composés azotés (tels que les alcaloïdes), les composés phénoliques et les terpènes (Ashraf et *al.*, 2018). Leur biosynthèse et leur accumulation peuvent être stimulées par des facteurs environnementaux tels que la sécheresse, la salinité ou les attaques pathogènes (Reshi et *al.*, 2023). Principaux types de métabolites secondaires

2.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent l'un des groupes les plus abondants et les plus étudiés de métabolites secondaires produits par les plantes. Ils se caractérisent par la

présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques substitués par des groupes hydroxyles (Ebrahimi & Lante, 2021). On les retrouve dans de nombreux organes végétaux, tels que les racines, les feuilles, les fruits, les fleurs et les graines (Luna-Guevara *et al.*, 2018). Leur synthèse est généralement activée en réponse à divers stress environnementaux (Naikoo *et al.*, 2019).

Sur le plan fonctionnel, les composés phénoliques contribuent à la pigmentation des végétaux, à leur protection contre les rayonnements UV, à la défense contre les pathogènes et à la modulation du stress oxydatif (Gan *et al.*, 2018). Dans les tissus végétaux, ils sont souvent stockés sous forme libre ou conjuguée dans les vacuoles, ou intégrés dans la lignine des parois cellulaires (Palavan-Ünsal *et al.*, 2011).

Selon leur structure chimique, on distingue plusieurs sous-classes, dont les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes et les coumarines (Crozier *et al.*, 2006 ; Harborne & Simmonds, 1964 ; Vermerris & Nicholson, 2007).

2.2.1. Les phénols simples

Les phénols simples dérivent de la voie du shikimate, et sont généralement formés par décarboxylation d'acides aromatiques. Parmi eux, on retrouve le catéchol, l'hydroquinone, le phloroglucinol et le crésol, souvent associés à des propriétés antimicrobiennes ou antioxydantes (Chira *et al.*, 2008 ; Santos-Buelga & Scalbert, 2000).

2.2.2. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés hydroxylés, dérivés des acides cinnamique et benzoïque. Ils sont largement reconnus pour leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires et cardioprotecteurs (Wang *et al.*, 2013). On distingue deux grandes familles : les acides hydroxybenzoïques (ex. : acide gallique, vanillique) et les acides hydroxycinnamiques (ex : acide férulique, caféique).

2.2.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un sous-groupe majeur des polyphénols. Ils regroupent plus de 6 000 molécules identifiées dans le règne végétal, et sont quasi omniprésents chez les plantes vasculaires. Ces pigments sont responsables des couleurs vives (jaune, orange, rouge) observées dans les fleurs, les fruits et les feuilles. Sur le plan biochimique, les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à moduler l'activité enzymatique, influencer les voies de signalisation cellulaire, et présenter une large gamme d'activités biologiques : antioxydante, anti-inflammatoire, antiallergique, antivirale et antitumorale (Ghedira, 2005).

2.2.4. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols de poids moléculaire moyen à élevé (500 à 3 000 Da), caractérisés par leur aptitude à précipiter les protéines. Ils confèrent une astringence marquée aux extraits végétaux et possèdent des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antimutagènes. Ils sont classés en deux grandes catégories :

- Tanins hydrolysables (pyrogalliques) : comprenant les gallotanins et les ellagitanins, facilement dégradables en milieu acide.
- Tanins condensés (catéchiques) : polymères de flavan-3-ols, non hydrolysables, présents principalement dans les feuilles, les écorces et les tiges (Doat & Enel, 1978 ; Élie, 2022).

2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites azotés à faible poids moléculaire, dérivés d'acides aminés. On les retrouve dans environ 20 % des espèces végétales. Dotés d'une grande diversité structurale, ils sont souvent toxiques pour les herbivores et les micro-organismes, jouant un rôle de défense chimique. En phytothérapie, les alcaloïdes sont connus pour leurs effets pharmacologiques variés : analgésique, antipaludique, stimulant ou sédatif selon leur structure (Ziegler & Facchini, 2008).

2.4. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures insaturés formés à partir d'unités d'isoprène. Ils constituent la famille la plus vaste et la plus diversifiée des métabolites secondaires produits par les plantes (Bhadra *et al.*, 2015). Leurs précurseurs sont abondamment présents dans les plantes supérieures telles que les agrumes, les conifères et les eucalyptus. Ils sont répartis dans les feuilles, fleurs, racines et tiges (Ninkuu *et al.*, 2021).

Les terpènes participent à la croissance des plantes, à leur défense contre les stress environnementaux, et à l'attraction des pollinisateurs (Tholl, 2006). Ils sont utilisés en médecine traditionnelle pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antibactériennes et antiallergiques (Charles, 2023). D'autres études ont mis en évidence leurs activités antiplasmodiales, antivirales, anticancéreuses et antidiabétiques (Cox-Georgian *et al.*, 2019). Ils jouent également un rôle essentiel dans la santé humaine, notamment via leur contribution en vitamines A et E, leur soutien au système immunitaire, à la santé neurologique et à la régulation de la coagulation sanguine (Tetali, 2018). Selon leur niveau de polymérisation, les terpènes sont classés en hémiterpénoïdes (C₅),

monoterpénoïdes (C10), sesquiterpénoïdes (C15), diterpénoïdes (C20), triterpénoïdes (C30), tétraterpénoïdes (C40) et polyterpénoïdes (plus de C40) (Gavira, 2013).

3. Propriétés biologiques du grenadier

Punica granatum est l'une des plantes les plus étudiées pour ses nombreuses propriétés biologiques, attribuées à sa richesse en métabolites secondaires. Ces composés confèrent à l'écorce, aux graines et au jus de grenade des activités thérapeutiques variées, largement documentées in vitro et in vivo.

3.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de la grenade est largement reconnue. Elle est attribuée à sa teneur élevée en composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les anthocyanines, et les ellagitannins. Cette activité a été évaluée principalement in vitro par des méthodes telles que DPPH, ABTS et FRAP. Plusieurs études ont démontré que *Punica granatum* présente un pouvoir antioxydant supérieur à celui de nombreux autres fruits, indépendamment de la méthode utilisée. Une corrélation positive entre la concentration en polyphénols et l'intensité de l'activité antioxydante a été clairement établie (Miguel et al., 2010).

3.2. Activité anti-inflammatoire

Des extraits de grenade, en particulier les huiles de graines obtenues par pression à froid, ont montré une inhibition significative des enzymes cyclo-oxygénase (COX) et lipo-oxygénase (LOX), deux catalyseurs majeurs dans la biosynthèse des médiateurs de l'inflammation (prostaglandines et leucotriènes). En inhibant ces enzymes, les extraits de grenade réduisent les processus inflammatoires, ce qui soutient leur utilisation potentielle dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques (Calin, 2005).

3.3. Activité antimicrobienne

Les composés phénoliques présents dans l'écorce et les graines de grenade présentent une puissante activité antimicrobienne contre divers micro-organismes pathogènes. Des études ont démontré que des extraits aqueux ou méthanoliques d'écorce de grenade, à une concentration de 0,33 g/mL, inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis*. L'activité antimicrobienne est corrélée à la présence de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins (Noreen et al., 2025).

3.4. Activité anti-hémolytique

L'activité anti-hémolytique des extraits de *Punica granatum* a été mise en évidence à travers des tests d'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire provoquée par des solutions hypotoniques. Les extraits testés ont montré un effet protecteur significatif sur les membranes des globules rouges. Ce pouvoir stabilisant pourrait être attribué à la capacité des composés phénoliques à interagir avec la membrane cellulaire, réduisant ainsi la perméabilité osmotique et prévenant la lyse cellulaire (Asli & Ben AbdAllah, 2020).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1. Lieu et conditions de l'étude

L'ensemble des analyses phytochimiques et biologiques décrites dans cette étude ont été réalisées au sein du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

2. Objectif

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la richesse phytochimique des extraits aqueux, éthanoliques et acétoniques obtenus à partir de l'écorce du fruit de *Punica granatum* (grenadier), en mettant l'accent sur la quantification de certains métabolites secondaires d'intérêt, tels que les composés phénoliques, flavonoïdes et tanins. En complément de cette approche analytique, le travail vise également à examiner in vitro les activités biologiques potentielles de ces extraits, à travers deux volets principaux : l'évaluation de leur capacité antioxydante, par des tests de piégeage des radicaux libres, et l'estimation de leur effet anti-inflammatoire, par inhibition de la dénaturation protéique.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

Les échantillons étudiés sont constitués de péricarpes (écorces) de grenade, collectés durant le mois de décembre 2024. La collecte a été effectuée dans deux régions algériennes :

- Takhmaret (wilaya de Tiaret) ;
- Wilaya de Relizane ;
- Un troisième échantillon correspond à une variété commerciale achetée sur le marché local au cours de la même période.



Figure 7. Péricarpes de *Punica granatum* (auteurs, 2025).

3.2. Méthodes

3.2.1. Préparation des échantillons

- **Lavage** : Les péricarpes ont été soigneusement rincés à l'eau claire afin d'éliminer toute impureté ou résidu superficiel.
- **Séchage** : Les échantillons ont été séchés à l'air libre, à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière, pendant plus d'un mois.
- **Broyage** : Après séchage, les péricarpes ont été découpés en fragments, puis réduits en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre hermétiques, à l'abri de la lumière.

3.2.2. Préparation des extraits

3.2.2.1. Extraction par macération

La macération est une méthode douce d'extraction à température ambiante, permettant de préserver les composés thermo-sensibles (Feknous et *al.*, 2014).

- **Extrait éthanolique** : 25 g de poudre végétale ont été mis en contact avec 250 mL d'éthanol dilué à 70 %, dans des erlenmeyers recouverts de papier aluminium. L'ensemble a été soumis à une agitation constante pendant 24 heures, à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- **Extrait aqueux** : 25 g de poudre ont été macérés dans 250 mL d'eau distillée, selon le même protocole d'agitation et de protection contre la lumière.
- **Extrait acétonique** : 20 g de poudre ont été macérés dans 200 mL d'acétone pure, toujours sous agitation et à température ambiante durant 24 heures, à l'abri de la lumière.

3.2.2.2. Filtration

Après macération, les extraits ont été filtrés à l'aide de papier filtre de type **Whatman**, afin de séparer la phase liquide contenant les composés extraits, du résidu solide.

3.2.2.3. Concentration et séchage

- Les extraits aqueux ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C (Figure n°8).
- Les extraits éthanoliques et acétoniques ont été séchés dans une étuve réglée à 35°C.

Les extraits secs obtenus ont ensuite été grattés, conditionnés dans des boîtes stériles et conservés à +4°C jusqu'à leur utilisation.



Figure 8. Evaporateur rotative (auteurs, 2025).

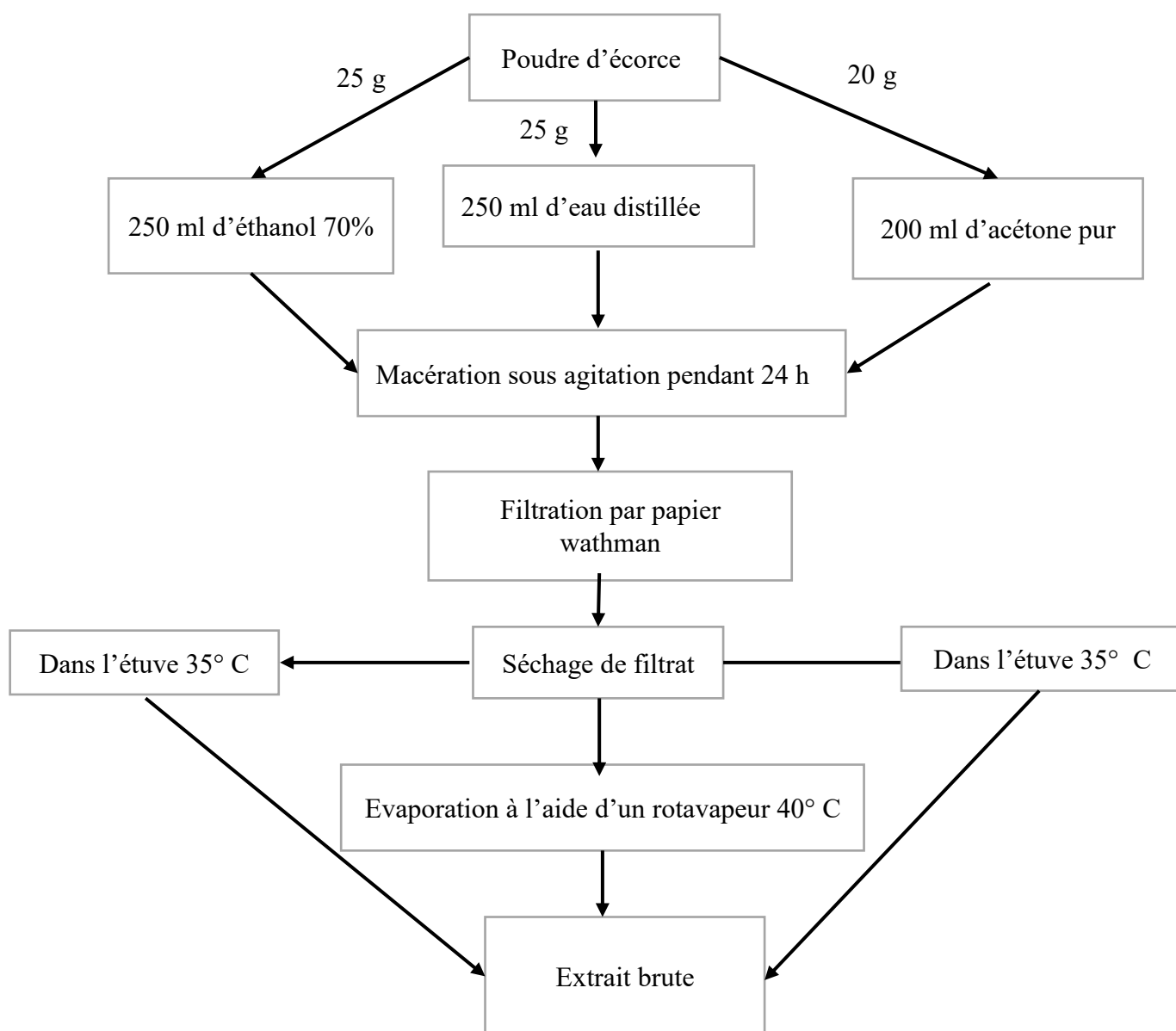


Figure 9. Schéma de protocole de préparation des extraits

3.2.3. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en extrait brut a été calculé selon la formule suivante (Kanoun et *al.*, 2014) :

$$R = m.100/M$$

R: Rendement de l'extrait brut en pourcentage (%).

m: la masse de l'extrait brut obtenu après extraction (g).

M: la masse du matériel végétal (g)

3.2.4. Dosage des métabolites secondaires

3.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, selon le protocole de Skerget et *al.* (2005).

Dans un tube à essai, 200 µL d'extrait ont été mélangés à 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après agitation, les mélanges ont été incubés pendant 5 minutes à température ambiante. Ensuite, 800 µL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 g/L ont été ajoutés.

Le tout a été incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Chaque analyse a été réalisée en triplicat pour plus de fiabilité.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations standards d'acide gallique.

3.2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode colorimétrique de complexation avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3), décrite par Ali-Rachedi et *al.* (2018). Un volume de 1 mL d'extrait a été ajouté à 1 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% dans le méthanol. Après 15 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Chaque échantillon a été analysé en triplicat.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES), à l'aide d'une courbe d'étalonnage construite avec la quercétine.

3.2.4.3. Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été évaluée selon la méthode de la vanilline-HCl, adaptée d'**Ali-Rachedi et al. (2018)**.

Dans un tube, 50 µL d'extrait ont été ajoutés à 1,5 mL de réactif de vanilline (4 % dans le méthanol). Après agitation, 750 µL d'acide chlorhydrique (HCl pur) ont été incorporés. Le mélange a été incubé pendant 20 minutes à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée à 550 nm. Chaque dosage a été réalisé en triplicat, et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

3.2.5. Évaluation des activités biologiques

3.2.5.1. Activité antioxydante (méthode DPPH)

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, selon le protocole de Markowicz Bastos et *al.* (2007).

a. Préparation des solutions

- Solution DPPH : 2 mg de DPPH ont été dissous dans 100 mL de méthanol absolu. La solution a été protégée de la lumière et agitée pendant 15 minutes.
- Solutions mères des extraits : 1 mg d'extrait a été dissous dans 1 mL d'eau distillée.
- Dilutions : À partir de la solution mère, quatre dilutions ont été préparées (0,1 ; 0,05 ; 0,025 ; 0,01 mg/mL).

b. Réalisation du test

Dans chaque tube, 1 mL de solution méthanolique de DPPH a été mélangé à 200 µL d'extrait dilué. Après incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Un blanc a été préparé avec 1,2 mL de solution de DPPH sans extrait.

c. Calcul de l'activité

Le pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé selon la formule :

$$I (\%) = [(absorbance \text{ de blanc} - absorbance \text{ d'échantillon}) / absorbance \text{ de blanc}] \times 100$$

La valeur IC₅₀, représentant la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH, a été déterminée pour chaque extrait à partir de la courbe d'inhibition.

3.2.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire des extraits a été évalué par la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA), selon Kandikattu (2013). Cette méthode repose sur l'inhibition de la dénaturation thermique des protéines par les extraits testés.

a. Préparation des réactifs

- Tampon Tris-HCl (pH 6,6) : 3,97 g dans 100 mL d'eau distillée.
- Solution de BSA (0,2 %) : 0,2 g dans 100 mL de Tris-HCl.
- Solutions d'extraits : dilutions de la solution mère (1 mg/mL) aux concentrations suivantes : 0,2 ; 0,1 ; 0,05 et 0,01 mg/mL.
- Blancs : chaque concentration est testée avec un mélange de 1 mL d'extrait + 1 mL de BSA, sans chauffage.

b. Protocole expérimental

Pour chaque concentration, 1 mL d'extrait est mélangé à 1 mL de BSA (0,2 %). Après incubation 15 minutes à 37°C, les tubes sont chauffés à 72°C pendant 5 minutes, puis refroidis rapidement. L'absorbance est mesurée à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule :

$$I (\%) = [(absorbance \text{ de blanc} - absorbance \text{ d'échantillon}) / absorbance \text{ de blanc}] \times 100$$

Chapitre 3

Résultats et discussion

1. Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction des écorces de *Punica granatum* issues des trois origines (Takhmaret, Relizane et échantillon acheté) ont été déterminés pour trois solvants : l'éthanol à 70 %, l'eau distillée et l'acétone pure. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 2. Le rendement est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de poudre végétale utilisée.

Tableau 2. Rendements des extraits bruts en (%)

Solvant	Échantillon	M extrait (g)	Rendement
Éthanol 70%	Takhmaret	11g	44
	Rélizane	9g	36
	Acheté	6g	24
Eau distillée	Takhmaret	10g	40
	Rélizane	6g	24
	Acheté	6g	24
Acétone	Takhmaret	2g	10
	Rélizane	1g	5
	Acheté	1g	5

L'analyse des rendements révèle que le solvant hydro-alcoolique (éthanol 70 %) est le plus efficace, suivi de l'eau distillée, puis de l'acétone. Le rendement le plus élevé est obtenu avec l'échantillon de Takhmaret extrait à l'éthanol (44 %), tandis que les plus faibles valeurs (5 %) sont associées aux extraits acétoniques des échantillons de Relizane et du marché.

Ces différences s'expliquent par la polarité des solvants utilisés : l'éthanol à 70 %, solvant polaire intermédiaire, favorise l'extraction d'une large gamme de composés bioactifs, y compris les polyphénols et flavonoïdes, contrairement à l'acétone, qui présente une sélectivité plus restreinte. De plus, la richesse en métabolites secondaires semble varier selon l'origine géographique de la plante, comme le démontre la supériorité constante des extraits de Takhmaret, toutes conditions confondues.

Enfin, ces résultats sont cohérents avec plusieurs études antérieures qui ont souligné la capacité de l'éthanol à extraire efficacement les composés phénoliques des écorces de grenade (Li et *al.*, 2006 ; Fawole et *al.*, 2012).

Les rendements d'extraction des extraits éthanoliques d'écorce de *Punica granatum* collectée à Takhmaret ont atteint 44 %, un résultat supérieur à celui rapporté par Kaci Meziane et *al.* (2017), qui ont obtenu un rendement de 32,2 % pour la variété douce de Koléa. Ce rendement est également supérieur à celui enregistré pour l'échantillon de Relizane (36 %), valeur comparable à celle observée pour la variété Bordj Mira dans la même étude. Concernant les extraits aqueux, un rendement de 40 % a été obtenu pour l'échantillon de Takhmaret, ce qui dépasse notablement les 24,8 % rapportés par Atmani et *al.* (2022). En revanche, les extraits acétoniques ont affiché un rendement relativement faible, atteignant 10 %, une valeur nettement inférieure à celle de 40 % observée dans l'étude de Younes et *al.* (2020).

Ces variations de rendement peuvent s'expliquer par de nombreux facteurs, notamment la nature du solvant, sa polarité, la qualité du solvant utilisé, la durée d'extraction, ainsi que les conditions expérimentales telles que la température, l'agitation ou la méthode employée (Bourgou, 2016). D'autres éléments liés à la matière végétale elle-même influencent également le rendement : l'origine géographique de la plante, l'espèce et la variété, la partie utilisée (feuille, écorce, fruit, etc.) et le stade de développement ou de récolte. De plus, des paramètres préalables comme le séchage et le broyage conditionnent l'accessibilité des composés bioactifs au solvant, influençant ainsi considérablement l'efficacité de l'extraction.

2. Teneurs en métabolites secondaires

2.1. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été déterminées à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES). Les valeurs obtenues sont récapitulées dans la figure 10.

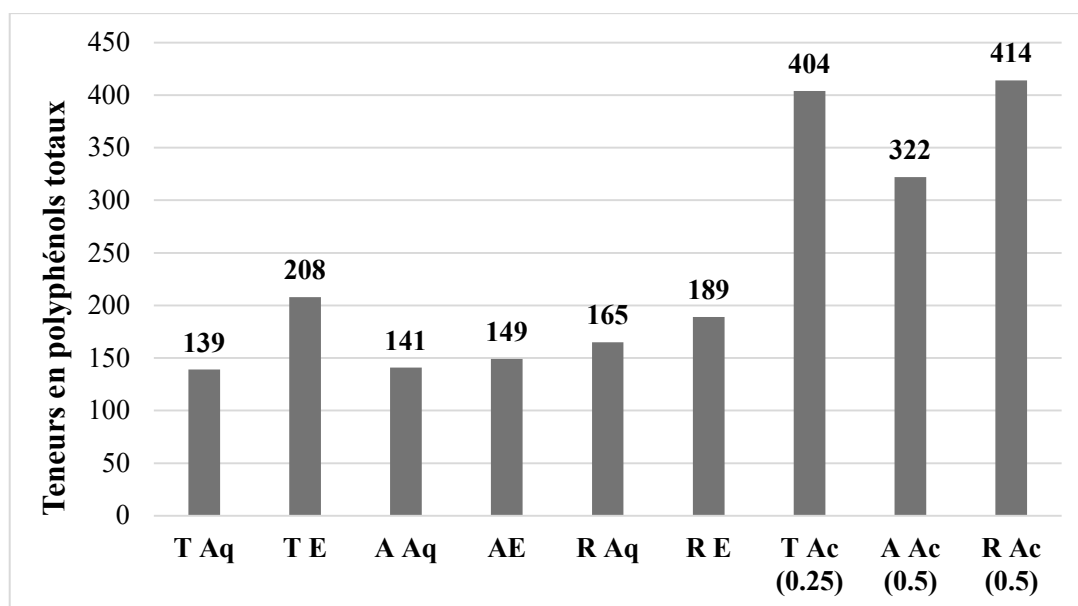


Figure 10. Teneurs en polyphénols totaux en mg EAG/ g ES des différents extraits

Les résultats montrent une variabilité marquée selon l'origine des échantillons et le solvant utilisé. L'extrait acétonique de Relizane présente la teneur la plus élevée en polyphénols, avec 414 mg EAG/g ES, suivi de près par l'extrait acétonique de Takhmaret (404 mg EAG/g ES) et celui d'Acheté (322 mg EAG/g ES). Ces valeurs soulignent l'efficacité de l'acétone comme solvant pour l'extraction des composés phénoliques de l'écorce de grenade. Les extraits éthanoliques affichent des teneurs intermédiaires, allant de 149 mg EAG/g ES (échantillon Acheté) à 208 mg EAG/g ES (Takhmaret) et 189 mg EAG/g ES (Relizane). En revanche, les extraits aqueux ont révélé les teneurs les plus faibles, oscillant entre 139 et 165 mg EAG/g ES.

La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature révèle des écarts notables. Par exemple, Shinde et *al.* (2015) ont rapporté une teneur en polyphénols de 212 mg EAG/g dans des extraits éthanoliques, ce qui reste supérieur à nos valeurs maximales. De même, Douaouri et Djebli (2018) ont obtenu 92,61 mg EAG/g pour des extraits aqueux, tandis que nos valeurs sont nettement supérieures (139–165 mg EAG/g ES). Concernant les extraits acétoniques, Benslimane (2021) a observé une teneur de 176,67 mg EAG/g, une valeur qui reste également inférieure à celles enregistrées pour nos échantillons de Takhmaret et de Relizane.

Ces divergences peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs : la variabilité génétique des plants, les conditions agroclimatiques, la maturité des fruits, le mode de séchage, ainsi que les techniques d'extraction employées. La nature du solvant et son affinité pour les

composés phénoliques jouent également un rôle déterminant dans le rendement de l'extraction (Bourgou, 2016).

2.2. Teneurs en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par complexation avec le trichlorure d'aluminium, et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES), à partir d'une courbe d'étalonnage standard.

Les données obtenues sont présentées dans la figure 11.

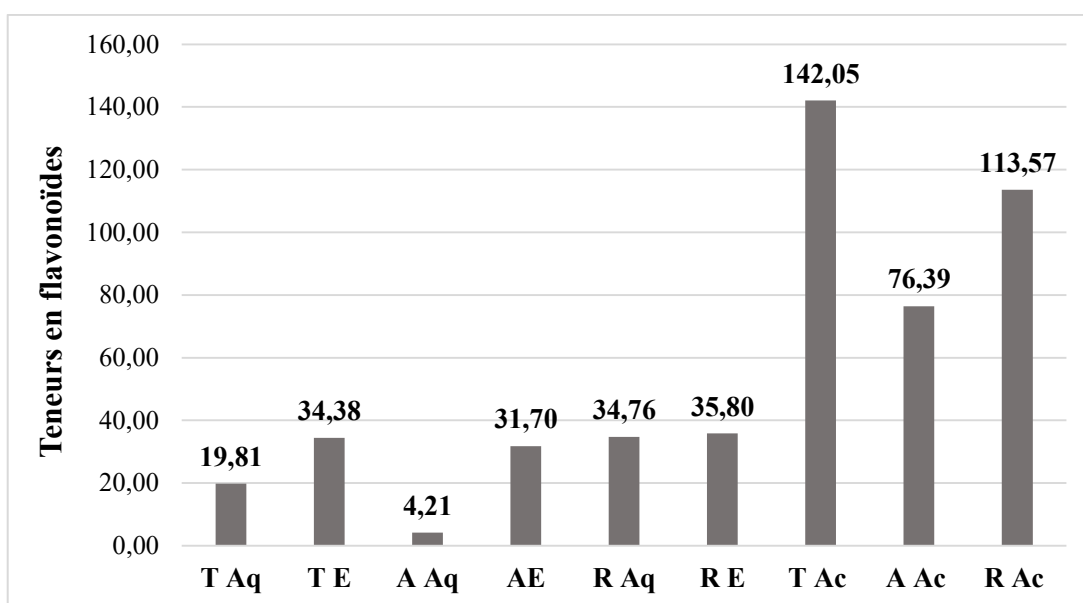


Figure 11. Teneurs en flavonoïdes en mg EQ/ g ES des différents extraits

L'analyse comparative des extraits révèle que l'extrait acétonique de Takhmaret enregistre la concentration la plus élevée en flavonoïdes avec 142,05 mg EQ/g ES, suivi par ceux de Relizane (113,57 mg EQ/g ES) et de l'échantillon acheté (76,39 mg EQ/g ES). Cette supériorité de l'acétone comme solvant peut être attribuée à sa polarité intermédiaire, qui facilite l'extraction des flavonoïdes lipophiles présents dans l'écorce. Les extraits éthanoliques présentent des teneurs modérées et relativement homogènes : 34,38 mg EQ/g ES (Takhmaret), 35,80 mg EQ/g ES (Relizane), et 31,70 mg EQ/g ES (acheté). Quant aux extraits aqueux, ils montrent des teneurs plus faibles, notamment pour l'échantillon acheté (4,21 mg EQ/g ES) et celui de Takhmaret (19,81 mg EQ/g ES), tandis que l'échantillon de Relizane se distingue avec 34,76 mg EQ/g ES.

Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés dans la littérature. Par exemple, Jaisinghani et *al.* (2018) ont noté 10 mg EQ/g dans des extraits éthanoliques de grenade.

Concernant les extraits acétoniques, Kennas et Amellal-Chibane (2019) ont mesuré une teneur de 42,86 $\mu\text{g EQ/mg}$, ce qui est inférieur à la valeur maximale obtenue dans notre étude. De même, les valeurs obtenues pour les extraits aqueux sont supérieures à celles rapportées par Reguieg Yssaad et *al.* (2017), qui ont identifié une teneur de 38,47 $\mu\text{g EQ/mg}$. Ces écarts peuvent être attribués à plusieurs facteurs, notamment la variabilité géographique et génétique des échantillons végétaux, les conditions pédoclimatiques, la maturité des fruits, la méthode d'extraction, ainsi que la polarité du solvant utilisé, qui joue un rôle déterminant dans la solubilité et l'extraction des flavonoïdes.

2.3. Teneurs en tanins condensés

Les teneurs en tanins ont été déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine, et exprimées en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

Les résultats expérimentaux sont illustrés dans la figure 12.

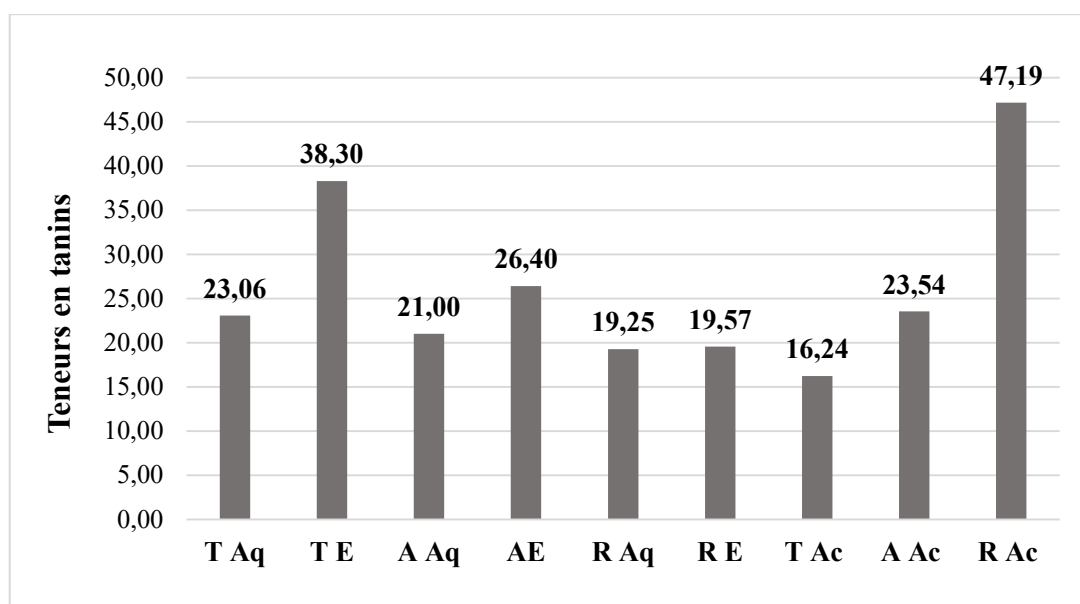


Figure 12. Teneurs en tanins en mg EC/g ES des différents extraits

Les données obtenues révèlent que l'extrait acétonique de l'écorce de grenade de Rélizane présente la plus forte teneur en tanins avec 47,19 mg EC/g ES, suivi de l'extrait éthanolique de Takhmaret avec 38,30 mg EC/g ES, puis de l'extrait éthanolique de l'échantillon acheté (26,40 mg EC/g ES) et de son extrait acétonique (23,54 mg EC/g ES). Les extraits aqueux de Takhmaret (23,06 mg EC/g ES) et de l'échantillon acheté (21 mg EC/g ES) affichent des valeurs modérées. À l'inverse, les extraits éthanolique (19,57 mg

EC/g ES) et aqueux (19,25 mg EC/g ES) de Rélizane, ainsi que l'extrait acétonique de Takhmaret (16,24 mg EC/g ES), montrent les teneurs les plus faibles en tanins.

Comparativement à la littérature, les résultats obtenus dans cette étude sont inférieurs à ceux rapportés par Douaouri et Djebli (2018), qui ont trouvé une teneur de 33,67 mg EC/g dans les extraits aqueux d'écorce de grenade. De même, les travaux de Benslimane et *al.* (2020) ont montré des teneurs plus élevées pour les extraits éthanolique et acétonique, atteignant respectivement 145 mg EC/g et 220 mg EC/g. Ces écarts peuvent être expliqués par plusieurs facteurs : la variabilité génétique et géographique des plants de grenade, les conditions de culture et de récolte, l'état de maturité des fruits, ainsi que la méthode d'extraction (durée, température, solvant utilisé). La polarité du solvant joue également un rôle crucial dans la capacité d'extraction des tanins, ces derniers étant plus solubles dans des solvants modérément polaires comme l'éthanol ou l'acétone.

L'acétone s'est révélée être le solvant le plus performant pour l'extraction des trois principales classes de métabolites secondaires étudiés (polyphénols, flavonoïdes et tanins), probablement en raison de sa polarité intermédiaire, favorable à la solubilisation d'une large gamme de composés bioactifs. Parmi les différents échantillons analysés, ceux provenant des régions de Takhmaret et de Rélizane se distinguent par des teneurs particulièrement élevées en métabolites, ce qui pourrait être attribué à des conditions édapho-climatiques avantageuses, à une variabilité génétique locale ou à des pratiques culturelles spécifiques. Par ailleurs, les écarts observés entre nos résultats et ceux rapportés dans la littérature peuvent s'expliquer par une combinaison de facteurs tels que les conditions environnementales, la nature botanique du matériel végétal, le stade de maturité au moment de la récolte, ainsi que les protocoles d'extraction et les méthodes analytiques employées.

3. Activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'écorces de *Punica granatum* a été réalisée par la méthode de réduction du radical DPPH, un test couramment utilisé pour quantifier la capacité d'un extrait à neutraliser les radicaux libres. Les résultats sont exprimés en IC₅₀, c'est-à-dire la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH : plus cette valeur est faible, plus l'activité antioxydante est élevée (Villaño et *al.*, 2007).

Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Valeurs des IC₅₀ du DPPH des extraits.

Echantillon	IC ₅₀
T Aq	0.0345
T E	0.035
A Aq	0.0528
A E	0.053
R Aq	0.056
R E	0.029
T AC	0.0078
A AC	0.047
R AC	0.045

L'extrait acétonique de Takhmaret s'est distingué par la meilleure activité antioxydante (IC₅₀ = 0,0078 mg/ml), suivi par l'extrait éthanolique de Rélizane (0,029 mg/ml) et les extraits aqueux et éthanoliques de Takhmaret (≈0,035 mg/ml). À l'opposé, les extraits aqueux d'Acheté et de Rélizane ont présenté les IC₅₀ les plus élevées (0,0528 et 0,056 mg/ml respectivement), traduisant une faible activité antioxydante.

Ces performances antioxydantes sont cohérentes avec les profils phytochimiques obtenus. En effet, l'extrait Takhmaret acétone, qui présente la plus faible IC₅₀, est également celui qui renferme les teneurs les plus élevées en flavonoïdes (142,05 mg EQ/g ES) et en polyphénols totaux (404 mg EAG/g ES). Cette corrélation entre l'activité antioxydante et les teneurs en composés phénoliques est bien établie dans la littérature. Plusieurs auteurs ont rapporté que les polyphénols et les flavonoïdes exercent leur pouvoir antioxydant principalement par leur capacité à donner des électrons et à stabiliser les radicaux libres (Rice-Evans et *al.*, 1996 ; Mutahar et *al.*, 2012). La polarité du solvant utilisé joue également un rôle déterminant : les solvants organiques comme l'acétone et l'éthanol sont plus efficaces pour extraire des composés lipophiles à forte activité antioxydante, comparés à l'eau (Viuda-Martos et *al.*, 2010).

Les résultats de cette étude surpassent nettement ceux obtenus par Barathikannan et *al.* (2016) et Benslimane (2021), qui ont rapporté des IC₅₀ acétoniques de 0,302 et 0,510 mg/ml respectivement. En revanche, l'IC₅₀ de 0,0025 mg/ml rapportée par Kennas et Amellal-Chibane (2019) pour un extrait éthanolique est inférieure à celle mesurée ici, ce qui pourrait s'expliquer par des différences dans les cultivars étudiés, la région de

prélèvement, ou les protocoles d'extraction. Enfin, les extraits aqueux de notre étude ($\approx 0,05$ mg/ml) sont bien plus actifs que ceux rapportés par Rajan et *al.* (2011), qui avaient mesuré un IC₅₀ de 13,527 mg/ml. Ces résultats confirment non seulement le fort potentiel antioxydant du péricarpe de *Punica granatum*, mais aussi l'influence décisive des conditions expérimentales, de la région d'origine et du type de solvant sur les propriétés biologiques des extraits.

Les polyphénols sont largement reconnus pour leur fort pouvoir antioxydant. Leur structure chimique, riche en groupements hydroxyles capables de donner des électrons ou des protons hydrogène pour neutraliser les radicaux libres, en fait des antioxydants efficaces (Liu et *al.*, 2023 ; Crozier et *al.*, 2006). Ainsi, dans notre étude, les extraits riches en polyphénols (notamment les extraits acétoniques et éthanoliques) ont montré une valeur d'IC₅₀ faible, ce qui reflète une forte capacité à piéger le radical DPPH, confirmant cette corrélation directe. De plus, des auteurs comme Miguel et *al.* (2010) ont observé une corrélation linéaire significative entre les teneurs en composés phénoliques totaux et le pouvoir antioxydant de nombreux extraits végétaux, y compris ceux de grenade.

Les flavonoïdes jouent un rôle clé dans le mécanisme antioxydant des extraits végétaux. Leur capacité à neutraliser les radicaux libres repose notamment sur deux propriétés majeures : leur aptitude à chélater les ions métalliques de transition (comme le fer et le cuivre), qui catalysent la formation de radicaux hydroxyles très réactifs, et leur faculté à inhiber la peroxydation lipidique, un processus délétère impliqué dans les dommages oxydatifs des membranes cellulaires (Ghedira, 2005). Ces mécanismes expliquent en partie pourquoi certains extraits riches en flavonoïdes présentent une activité antioxydante marquée. À titre d'exemple, l'extrait acétonique issu des péricarpes de grenadier récoltés à Takhmaret, qui contenait la plus forte teneur en flavonoïdes (142,05 mg EQ/g ES), a également affiché la meilleure capacité antioxydante avec une IC₅₀ très faible de 0,0078 mg/ml. Ce lien étroit entre la concentration en flavonoïdes et l'efficacité antioxydante suggère une corrélation positive, soutenue par de nombreuses études antérieures mettant en évidence le pouvoir antiradicalaire des flavonoïdes naturels.

Les tanins, en particulier les tanins hydrolysables présents dans la grenade (comme les ellagitannins), possèdent également un fort pouvoir réducteur et peuvent neutraliser les radicaux libres en stabilisant leur forme (Doat & Enel, 1978 ; Elie, 2022). Leur contribution à l'activité antioxydante globale des extraits est donc notable.

3.2. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits d'écorces de *Punica granatum* a été évaluée in vitro en utilisant le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA). Ce test, basé sur le principe selon lequel certains agents anti-inflammatoires peuvent stabiliser les protéines contre la dénaturation thermique, permet d'évaluer la capacité des extraits à prévenir ou atténuer l'inflammation (Kandikattu et *al.*, 2013).

Les résultats obtenus sont représentés dans les deux figures 13 et 14.

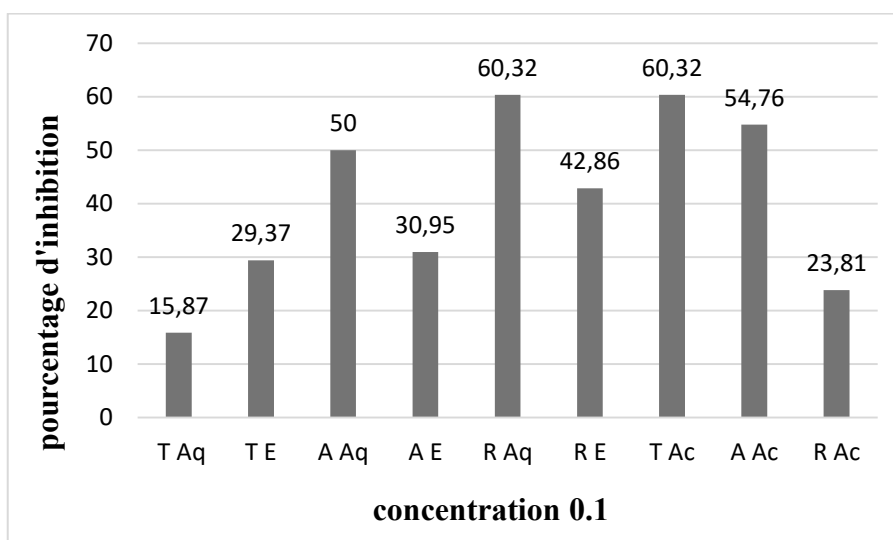


Figure 13. Pourcentage d'inhibition du BSA à la concentration 0.1 mg/ml

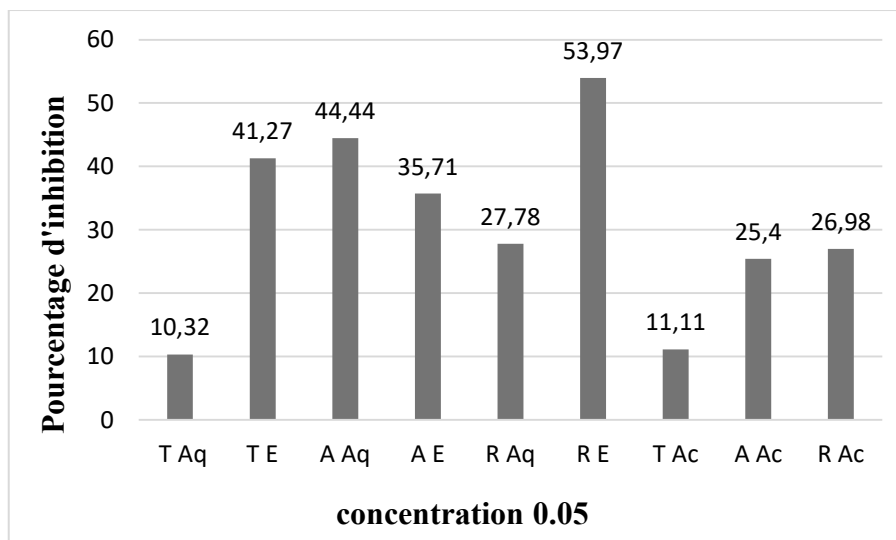


Figure 14. Pourcentage d'inhibition du BSA à la concentration 0.05mg/ml

Les résultats obtenus pour différentes concentrations (0,1 mg/ml et 0,05 mg/ml) révèlent une variabilité notable selon l'origine géographique des échantillons et le solvant d'extraction utilisé. À la concentration de 0,1 mg/ml, les extraits acétoniques de Takhmaret et Acheté ont montré les pourcentages d'inhibition les plus élevés, atteignant 60,32 %, ce qui traduit une activité anti-inflammatoire marquée. L'extrait aqueux de Rélizane a également présenté un pourcentage d'inhibition élevé (60,32 %), illustrant l'efficacité potentielle de certains extraits aqueux riches en composés polaires. En comparaison, les extraits éthanoliques de Takhmaret et d'Acheté présentent respectivement des inhibitions de 29,37 % et 30,95 %, tandis que l'extrait éthanolique de Rélizane atteint 42,86 %, démontrant une activité modérée mais significative. À cette même concentration, les extraits aqueux de Takhmaret (15,87 %) et d'Acheté (50 %) montrent des réponses variées, ce qui peut s'expliquer par des différences dans les profils phytochimiques liés aux conditions agroécologiques.

À 0,05 mg/ml, les tendances changent partiellement. L'extrait éthanolique de Takhmaret enregistre une augmentation de l'activité anti-inflammatoire (41,27 %), dépassant celle mesurée à 0,1 mg/ml, ce qui suggère une efficacité optimale à des concentrations intermédiaires. L'extrait aqueux d'Acheté maintient une activité élevée (44,44 %), tandis que l'extrait éthanolique de Rélizane présente une valeur remarquable (53,97 %), supérieure à celle obtenue à la concentration plus élevée. Cela laisse penser que certains extraits exercent leur effet maximal à des concentrations spécifiques, probablement en raison de la saturation des sites de liaison ou d'un effet synergique des composés présents.

Ces résultats confirment que l'activité anti-inflammatoire varie en fonction du solvant d'extraction, les extraits acétoniques et éthanoliques ayant tendance à offrir de meilleures performances que les extraits aqueux dans la majorité des cas. Ces observations peuvent s'expliquer par la solubilité différentielle des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les composés phénoliques, connus pour leurs effets anti-inflammatoires (Mutahar et *al.*, 2012 ; Bhowmik et *al.*, 2013). L'extrait acétonique de Rélizane, malgré une performance plus modeste (23,81 % à 0,1 mg/ml), présente néanmoins une activité significative à 0,05 mg/ml (26,98 %).

Comparativement aux travaux antérieurs, nos résultats se distinguent favorablement. Kandikattu et *al.* (2013) ont montré que les extraits de grenade peuvent inhiber la dénaturation des protéines de manière dose-dépendante, avec une efficacité marquée des extraits riches en polyphénols. Dans une étude réalisée par Benslimane et *al.* (2020), les

extraits éthanoliques de grenade ont démontré des taux d'inhibition similaires, confirmant que l'activité anti-inflammatoire est fortement corrélée à la teneur en composés bioactifs. De plus, Lansky et Newman (2006) ont rapporté que les punicalagines et autres ellagitannins contenus dans l'écorce de grenade jouent un rôle important dans l'inhibition des enzymes pro-inflammatoires telles que la cyclo-oxygénase (COX) et la lipo-oxygénase (LOX).

En résumé, les résultats obtenus dans cette étude mettent en lumière le potentiel anti-inflammatoire considérable des extraits d'écorces de *Punica granatum*, en particulier ceux obtenus par extraction acétonique ou éthanolique, et illustrent l'importance des facteurs liés à l'origine géographique, au solvant et à la concentration utilisée. Ces extraits pourraient ainsi constituer une base prometteuse pour le développement d'agents anti-inflammatoires naturels.

Les composés phénoliques jouent aussi un rôle majeur dans l'inhibition des voies inflammatoires, notamment par l'inhibition des enzymes pro-inflammatoires telles que la cyclo-oxygénase (COX) et la lipo-oxygénase (LOX) (Calin S., 2005 ; Lansky & Newman, 2006). Dans notre étude, les extraits les plus actifs contre la dénaturation de l'albumine (modèle de l'inflammation in vitro) correspondent aussi à ceux qui présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes.

Les flavonoïdes, eux aussi, peuvent moduler l'expression des cytokines inflammatoires comme le TNF- α , IL-1 β ou IL-6, réduisant ainsi les réponses inflammatoires (Ghedira, 2005). Cela pourrait expliquer pourquoi les extraits de Takhmaret éthanol et acétone, riches en flavonoïdes, ont exercé une inhibition marquée de la dénaturation des protéines.

Les tanins, connus pour leurs effets astringents, stabilisent les membranes cellulaires et inhibent certaines enzymes responsables de l'inflammation, participant ainsi à l'activité anti-inflammatoire des extraits (Benslimane et *al.*, 2020 ; Mutahar et *al.*, 2012).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Ce travail de recherche a permis de mettre en évidence la richesse phytochimique du péricarpe de *Punica granatum*, ainsi que son potentiel biologique, notamment antioxydant et anti-inflammatoire. L'analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires a révélé des teneurs notables en polyphénols, flavonoïdes et tanins, variables selon les origines géographiques des échantillons (Takhmaret, Relizane et variété commerciale) et selon la polarité des solvants d'extraction (acétone, éthanol à 70 %, eau distillée). Les extraits acétoniques ont généralement présenté les concentrations les plus élevées en composés bioactifs, suivis par les extraits éthanoliques, confirmant l'efficacité des solvants organiques dans l'extraction de ces métabolites.

Les activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits ont été évaluées respectivement par les tests DPPH et de dénaturation de l'albumine. Les résultats montrent que les extraits riches en métabolites secondaires, en particulier les extraits acétoniques de Takhmaret, affichent une forte capacité antiradicalaire (IC_{50} très faible) et une inhibition marquée de l'inflammation *in vitro*. Une corrélation apparente a ainsi pu être établie entre la richesse en polyphénols, flavonoïdes et tanins, et les effets biologiques observés.

Par ailleurs, les différences observées entre les échantillons peuvent être attribuées à des facteurs environnementaux (sol, climat, ensoleillement), géographiques, mais aussi à des variables méthodologiques comme le choix du solvant ou les conditions d'extraction.

En conclusion, ce mémoire met en lumière l'intérêt du péricarpe de grenade comme source naturelle de composés bioactifs présentant un intérêt pharmacologique potentiel. Ces résultats justifient l'intégration des extraits de *Punica granatum* dans le développement futur de formulations antioxydantes et anti-inflammatoires à usage thérapeutique ou nutraceutique.

Des études complémentaires, notamment chromatographiques et *in vivo*, sont néanmoins nécessaires pour identifier précisément les molécules responsables de ces effets et pour évaluer leur innocuité et leur efficacité à long terme.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental stress and secondary metabolites in plants: An overview. In M. A. A. Arias, Plant metabolites and regulation under environmental stress. 153–167. *Academic Press*.
- Atmani, R., Ayaidia, B., & Chetoui, A. S. (2022). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de deux plantes médicinales *Punica granatum* et *Cistus sp*, chez les rats diabétiques. Mémoire de master, Biologie Animale. Université Frères Mentouri Constantine 1. Algérie.
- Akpınar-Bayizit, A., Özcan, T., & Yılmaz-Ersan, L. (2012). The therapeutic potential of pomegranate and its products for prevention of cancer. *InTech*.
- Ali-Rachedi F, Meraghni S, Touaibia N, & Mesbah S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.* *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* Volume 87.
- Al-Muammar, M. N., & Khan, F. (2012). Obesity: The preventive role of the pomegranate (*Punica granatum*). *Nutrition*. 28. 595–604.
- Asli, N. E. H., & Ben AbdAllah, A. (2020). Étude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, des extraits des feuilles de grenadier d'Aïn Témouchent (*Punica granatum*) sur la stabilité membranaire du globule rouge. Mémoire de Master, biochimie. Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb d'Aïn Témouchent. Algérie.
- Bhadra, S., Dalai, M. K., Chanda, J., & Mukherjee, P. K. (2015). Evaluation of Bioactive Compounds as Acetylcholinesterase Inhibitors from Medicinal Plants. Dans *Elsevier eBooks* (p. 273-306).
- Barathikannan K, Venkatadri B, Khusro A, Al-Dhabi NA, Agastian P, ArasuMV, Choi HS, KimYO.2016. Chemical analysis of *Punica granatum* fruit peel and its in vitro and in vivo biological properties. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16 :264.
- Benkherbache, A., & Benkherbache, Z. R. (2021). *Punica granatum L.* un arbre historique, évolutions thérapeutiques récentes et activités biologiques. Mémoire de Master, biotechnologie végétal. Université Mohamed Boudiaf – M'Sila. Algérie.
- Benslimane, S. (2021). Contribution à l'étude de l'effet des extraits bruts des écorces du fruit de *Punica granatum* et des graines de *Cuminum cyminum* contre les biofilms à l'origine des infections bucco-dentaires. Thèse de doctorat, microbiologie appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem. Algérie

Références bibliographiques

- Benslimane, S., Rebai, O., Djibaoui, R., & Arabi, A. (2020). Pomegranate peel extract activities as antioxidant and antibiofilm against bacteria isolated from caries and supragingival plaque. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(3), 403–412.
- Bhowmik, D., Duraivel, S., Pragati Kumar, B., Gopinath, H., & Sampath Kumar, K. P. (2013). Medicinal uses of *Punica granatum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(5).
- Bouaziz, A. L. (2014). Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. Organes des sens. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie Paris VI, Français.
- Bourgou S., Serairi B.R., Medini F. et Ksouri R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences*.28(12):1649-1655
- Calin, S. A., & Carboneli, B.A.A. (2005). La grenade cultivées en Espagne punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans l'alimentation fonctionnelle du futur. Livre. Natural antioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS). Murcia Espagne, 77p.
- Charles, M. R. (2023). A systematic review of terpenes & terpenoids & their roles in human health. *Era S Journal of Medical Research*, 10(2), 39-46.
- Chira, N. A., Niculae, M., & Tămaș, M. (2008). Les composés phénoliques simples : classification, propriétés biologiques et méthodes de dosage. *Revista de Chimie*, 59(10), 1112–1116.
- Chouaki , S., Bessedik, F., Chebouti, A., Maamri ,F., Oumata, S., Kheldoun, S., & Kheldoun, A. (2006). Deuxième rapport National sur l'état des ressources Phytogénétiques. *INRAA*. 92p.
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019). Therapeutic and medicinal uses of terpenes. In *Medicinal Plants* (pp. 333–359). Springer.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet* (pp. 1–24). Blackwell Publishing.

Références bibliographiques

Doat, C., & Enel, C. (1978). *Les tanins végétaux : chimie et applications*. Editions C. Doat.

Douaouri, N. E. H., & Djebli, N. (2018). In vivo anti-inflammatory activity and chemical composition of Algerian pomegranate (*Punica granatum* L.). *International Journal of Biosciences*, 12(2), 76–90.

Douaouri, N. E. H. (2018). Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum* L.) – Étude in vivo. Thèse de doctorat, sciences biologiques. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Algérie.

Ebrahimi, A., & Lante, A. (2021). Phenolic compounds in food: Characterization and health effects. In *Phenolic Compounds in Food* (pp. 1–27). MDPI Books.

Élie, C. (2022). *Les tanins dans les plantes médicinales : aspects chimiques et biologiques*. Éditions Universitaires Européennes.

Evreinoff, V. A. (1957). Contribution à l'étude du Grenadier.. In: *Journal d'agriculture tropicae et de botanique appliquée*, vol. 4, n°3-4. pp. 124-138.

Evreinoff, V. A. (1949). Le grenadier *Punica granatum* Linné. *Fruits d'outre-Mer*. 4(5). 161-170.

Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109(Suppl 1), 69–75.

Feknous. S, Saidi. F, Ramdhane. M S., (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinales. L*). *Nature et Technologie*.n°11 ,7-13.

Feng, L., Yuan, Z., Yin, Y., & Zhao, X. (2015). Bibliometric analysis on the situation and tendency of pomegranate research in the world. IIIrd IS on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, *Acta Horticulturae* No. 1089, pp. 43–52.

Gan, R. Y., Li, H. B., Shah, N. P., & Corke, H. (2018). Health benefits of bioactive compounds from the genus *Camellia*: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 580.

Gavira, J. A. (2013). Terpenes: Classification and biosynthesis. *Natural Products Chemistry and Research*, 1(3), 1–4.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés pharmacologiques et activités biologiques. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169

Référence bibliographique

Haque N, Sofi G, Ali W, Rashid M, Itrat M. (2015). A comprehensive review of Phytochemical and pharmacological profile of Anar (*Punica granatum Linn*): A Heaven's fruit. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*. 1(1): 22-26.

Harborne, J. B., & Simmonds, N. W. (1964). *The Chemistry of Plant Phenolics*. Academic Press.

Hassen, H. (2022). Écologie et distribution du grenadier (*Punica granatum*) en Algérie. *Revue Algérienne d'Agronomie*, 12(1), 55–65.

Hassen, A. (2022). Importance des propriétés physico-chimiques du sol et la nature du climat sur la valeur alimentaire de la grenade (fruit du grenadier – *Punica granatum*). Thèse de doctorat, biologie végétale. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.

Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 397–405.

Jaisinghani, R. N., Makhwana, S., & Kanojia, A. (2018). Study on antibacterial and flavonoid content of ethanolic extract of *Punica granatum* (pomegranate) peel. *Microbiology research*.

Janani J, Rajiv P, Gopalan R, Lakshmanapermalsamy P. (2019). An Overview of Phytochemical and Pharmacological Potentials of *Punica granatum*.L. *Pharmacog.J*. 11(5):1167-1171.

Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): a review. *Alternative Medicine Review*, 13(2), 128–144.

Kaci M. Z., Boutekrabt L, Laidoudi D, Moussaoui T, Melahi N, Ait ouarab D, Djegboub M. & Meguetaoui A. (2017). Évaluation phytochimique, et potentiel antioxydant, antibactérienne de trois cultivars de fruit de grenadier *Punica granatum L* du nord est d'Algérie. *Revue Agrobiologia*. 7(2): 589-602.

Kaci M. Z., Elothmani D. & Boutekrabt B.L. (2015). Morphological and physicochemical Characteristics of three pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) grown in northern Algeria. *Fruits*. 71(1) : 17-26

Références bibliographiques

- Kaci Meziane, Z. (2018). Valorisation de l'écorce de trois cultivars de fruit de la grenade (*Punica granatum L.*) de la plaine de Mitidja (Algérie) par l'obtention d'un extrait riche en polyphénols à usage alimentaire et pharmaceutique. Thèse de doctorat, sciences agronomiques. Université Saad Dahlab – Blida 1. Algérie.
- Kandikattu, K., Kumar, P. B. R., Priya, R. V., Kumar, K. S., & Rathore, R. S. B. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729–730.
- Kandyli, P., & Kokkinomagoulos, E. (2020). Pomegranate and its derivatives: Food applications and potential health benefits. *Foods*, 9, 122.
- Kanoun, K., Abbouni, B., Bénine, M. L., Benmahdi, F.-Z., & Marouf, B. (2014). Étude de l'efficacité de l'extrait éthanolique d'écorces de *Punica granatum Linn* sur deux souches phytopathogènes : *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. et *Fusarium oxysporum F.sp.radicis-lycopersici*. *European Scientific Journal*, 10(12), 301-315.
- Kennas A, Amellal-Chibane H. 2019. Comparison of five solvents in the extraction of phenolic antioxidants from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*: (2019) 03; (05): 140-147.
- Ko, K.; Dadmohammadi, y.; Abbaspourrad, A. (2021). Nutritional and Bioactive Components of Pomegranate Waste Used in Food and Cosmetic Applications: A review. *Foods*. 10, 657.
- Lahouel, M. (2022). Contribution à l'étude des ressources génétiques du grenadier (*Punica granatum L.*; Punicaceae/Lythraceae) de la région de Messaad (Wilaya de Djelfa). Thèse de doctorat, sciences agronomiques. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 177–206.
- Liu, R. H. et al. (2023). *Health benefits of plant polyphenols: Antioxidant and anti-inflammatory properties*. *Nutrients*.
- Luna-Guevara, J. J., Arenas-Hernández, M. M., Martínez de la Peña, C., Silva, J. L., & Luna-Guevara, M. L. (2018). The role of phenolic compounds in the antimicrobial activity of plant extracts. *Foods*, 7(12), 92.

Références bibliographiques

Maizi, Y. (2021). Évaluation et évolution du contenu phénolique et des huiles essentielles de quelques plantes et fruits sélectionnés de la région de Mascara : application biologique. Thèse de doctorat, sciences, Technologie et Santé. Université Mustapha Stambouli, Mascara, Algérie.

Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, L. A., Catharino, R.R., Sawaya, A.C.H.F., Cunha, I.B.S., Carvalho, P.O., Eberlin, M.N. (2007). Phenolic Antioxidants Identified By ESI-MS from *Yerba Maté* (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432.

Miguel, M. G., Neves, M. A., & Antunes, M. D. (2010). Pomegranate (*Punica granatum L.*): A medicinal plant with myriad biological properties – A short review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2836–2847.

Mutahar., S, Shibani, Mutlag., M, Al otbi, Najjbs (2012). Antioxydant activity of pomegranate (*Punica granatum L.*). Fruit peels. *J- Food Nutrition Sciences* pp 90-91.

Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., & Khan, F. A. (2019). Role and regulation of phenolic compounds in plants under abiotic stress: An overview. *Plant Signaling & Behavior*, 14(1)

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803.

Ninkuu, V., Yu, D., & Li, Y. (2021). Terpenoids: Biosynthesis, functional significance, and therapeutic potential. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 68(3), 693–706.

Noreen, S., Hashmi, B., Aja, P. M., & Atoki, A. V. (2025). Phytochemicals and pharmacology of pomegranate (*Punica granatum L.*): Nutraceutical benefits and industrial applications : A review. *Front. Nutr.* 12:1528897.

Oukabli, A., Lahlou, M., & Alabou, M. (2004). Le grenadier : Des variétés performantes pour la culture. Ministère de l’Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes, MADRPM/DERD. *Bulletin mensuel d’information et de liaison du PNTTA*, n° 123

Références bibliographiques

Palavan-Ünsal, N., Arisan, D., & Terzioglu, S. (2011). Phenolic compounds in plant defense. In *Plant Defence : Biological Control* (pp. 3–21). Springer.

PLANCHON G., COLLIN E. – Traité pratique de la détermination des drogues Simples d'origine végétale. *Librairie F. Savy*. 1875. Tome I. Pages 235-236 et 307-308.

Rajan, S., Mahalakshmi, S., Deepa, V. M., Sathya, K., Shajitha, S., & Thirunalasundari, T., (2011). Antioxidant potentials of *Punica granatum L.* fruit rind extracts. *Int j pharm sci*, 3(3), pp 82-88.

Ranjha, M. M. A. N., Irfan, M., & Hameed, A. (2021). Pomegranate peel as a functional food: A systematic review. *Journal of Functional Foods*, 86, 104715.

Reguieg Yssaad, A., & Hammadi, K. (2017). Enhancement of the bark of *Punica granatum* fruit through the phytochemical and antimicrobial activity studies. *Medicinal & Aromatic Plants*, 6(1).

Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). De la nature au laboratoire : une revue de voies de biosynthèse des métabolites secondaires, influences environnementales et approches in vitro. *Metabolites*, 13(8), 895.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.

Santos-Buelga, C., & Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094–1117.

Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review Study on *Punica granatum L.* *Journal of evidence-based complementary & alternative Medicine*, 21(3), 221-227.

Shinde PA, Reddy VKS, Patange SB. (2015). Quality of Indian mackerel as affected by pomegranate peel and tea leaf extracts during ice storage. *SAARC J. Agr.* 13: 109-122.

Références bibliographiques

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž (2005). “Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their Antioxidant activities.” *Food Chemistry*, 89(2), 191-198.

Teixeira da Silva, J. A., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D.T., & Ranade, S.A., (2013).Pomegranate biology and biotechnology: Areview. *Scientia Horticulturae*. 160. 85-107.

Tetali, S. D. (2018). Terpenes and isoprenoids: A wealth of compounds for global health. In *Natural Products as Drug Leads* (pp. 27–57). Elsevier.

Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 297–304.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer.

Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 635–654.

Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Moyá M.L., Troncoso A.M. et García-Parrilla M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talan Talanta* 71 : 230235.

Wald E., (2009). Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions Thérapeutiques récentes. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré –Nancy 1. France. 149 p.

Wang, L. S., Stoner, G. D., & Huang, T. H. W. (2013). Phenolic acids and prevention of diseases. *Current Pharmacology Reports*, 9, 1–12.

Younes, I., Meftahi, C. (2020). Étude de l’activité anti-inflammatoire in vitro des extraits d’écorce du fruit de grenadier (*Punica granatum*) d’Ain Témouchent, sur la stabilité membranaire du globule rouge. Mémoire de Master, Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d’Ain-Temouchent. Algérie.

Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 735–769.

Référence bibliographique

- [1]. Jardin du Pic vert (s. d). Grenadier. <https://www.jardindupicvert.com/arbustes/24267-grenadier.html>
- [2]. Plantes Oasis. (S. d). Grenadier nain. <http://www.plantes-oasis.fr/plantes-2126-Grenadier+nain>
- [3]. Hodgson, L. (2018, 16 février). Le grenadier nain : couleur et fruits à l'intérieur. Jardinier paresseux. <https://jardinierparesseux.com/2018/02/16/le-grenadier-nain-couleur-et-fruits-a-linterieur/>
- [4]. Biovie. (s.d). Quels sont les 8 bienfaits de la grenade.
<https://www.biovie.fr/fr/blog/quels-sont-les-8-bienfaits-de-la-grenade-n624>
- [5]. Amazon.ca. (s.d). Écorce de grenade, cortex granati, granati péricarde, écorce de grenade *Punica granatum* L, shiliupi, écorce de grenade, écorce de grenade séchée, écorce de grenade naturelle (1000 g). <https://www.amazon.ca/-/fr/p%C3%A9ricarde-sranatum-granatum-shiliupi-naturelle/dp/B0BTS8363>