

Popular Democratic Republic of Algeria

Ministry of High Education and Scientific Research

Abbes Laghrou University- Khenchela-

Natural and life sciences Faculty

Molecular and Cellular Biology Department



N° de série : .....

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie appliquée**

*Présenté par :*

*HABBECHÉ lamisse*

*HAMMAMI amira*

Thème

**Etude phytochimique et pharmacologique  
d'un fruit a propriété anti inflammatoire**

*Mémoire soutenu publiquement le 19/06/ 2025* Devant le jury composé de :

**Mme. AROUA Khawla**

MCA, Université Abbes Laghrou – Khenchela, Président

**Mme. MAYOUF Nozha**

MCA, Université Abbes Laghrou – Khenchela, Encadreur

**Mme. BOUTARFA Soumia**

MCA, Université Abbes Laghrou – Khenchela, Examineur

Année Universitaire 2024/2025

# Remerciements

*Avant tout, nous voudrions remercier **le Dieu** et tout-puissant qui nous a donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour entreprendre ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrante **Dr. MAYOUF Nozha** pour son accord à la direction de ce travail et pour son aide précieuse ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, avec tout notre sincères gratitude et respect.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers **Dr. AROUA Khawla** d'avoir accepté de présider le jury et lui témoigner notre profond respect.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements à **Dr. BOUTARFA Soumia** pour avoir accepté d'évaluer cette étude.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble du Département de Biologie, et en particulier à l'ensemble du personnel du Laboratoire de recherche de notre faculté, a tous les ingénieurs de laboratoire et surtout **Noureddine et rima**.*

*Nos remerciements à tous nos enseignants de département de science de la nature et de vie pour leurs soutiens pendant tout notre parcours universitaire et a tous les ingénieurs de laboratoire de recherche*

*Nous devons nos vives considérations et nos grands remerciements à nos familles pour leurs soutiens tout au long de notre parcours et lors de la réalisation de ce travail, et que sans leurs appuis, sans leurs conseils et sans leurs amours, rien de tout cela n'aurait pu arriver.*

*Enfin, nous remercions nos amis et nos camarades pour leur aide précieuse tout au long de ce travail.*

## *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que*

*Je dédie cette Thèse...?*

### ***A MA TRES CHERE MERE DALILA***

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie..*

### ***A MON TRES CHER PERE ABBES(Ibrahim)***

*De tous les pères, tu es le meilleur.*

*Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme.*

### ***A MON FRERE MOHAMED***

*Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour Toi, je n'oublierai jamais ces merveilleux moments passés ensemble Intelligent que tu es, j'implore Allah de te réserver un avenir meilleur*

### ***AMASŒUR NARIMANE ET SON MARI ILIYAS ET SES ENFANTS***

*Tu as été à mes côtés pendant toutes les étapes de ce travail, jet'ensuis très reconnaissant.*

### ***A MA GRANDE SŒUR BESSMA***

*Une sœur comme on ne peut trouver nulle part ailleurs, Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité.*

*Je te souhaite tout le bonheur du monde*

### ***A MON REGRETTE FRERE HAMZA***

*Que Dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans son paradis*

### ***Ma petite sœur MANAR***

*Tu seras toujours dans mon cœur*

### ***Ma petite sœur FULLA***

*Tu es dans mon cœur  
La vie nous a fait nous rencontrer*

## *Dédicace*

*Je remercie ALLAH le clément pour m'avoir aidé durant toute ma vie.*

*``À mes chers parents,*

*Ce travail est avant tout le fruit de votre éducation, de vos sacrifices et de votre amour inconditionnel. Vous m'avez transmis les valeurs de l'effort, de la patience, et de respect.*

*Grâce à vous, j'ai appris à avancer avec confiance et persévérance.*

*``À ma sœur*

*Pour votre soutien constant, votre encouragement sincères, et votre source réconfortants dans les périodes difficiles.*

*``A tous ceux et celles qui m'ont accompagné(e), de près ou de loin, et qui m'ont offert une parole, un regard ou un geste porteur d'espoir.*

*``À celles et ceux qui m'ont blessée*

*``À ceux qui m'ont laissé seuls dans mes moments les plus sombres. Merci.*

*Car sans vous absence, j'aurais peut-être oublié ma propre valeur.*

*Et sans vous épreuve, je ne serais pas devenu celle que je suis aujourd'hui.*

*Vous avez participé. A votre manière, à ma construction.*

*Et c'est plus forte, plus résilients, et plus en paix que je poursuis mon chemin.*

***Et à moi-même,***

*Pour toutes ces fois où j'ai gardé la tête haute, même lorsque le poids était lourd à porter,*

*Pour les moments de doute, de fatigue et de solitude traversés en silence.*

*Pour chaque larme essayée, chaque nuit blanche endurée et chaque échec transformé en leçon.*

*Ce mémoire est le reflet d'un parcours fait de résilience, de discipline et de détermination.*

***Amira***

## Résumé

---

---

### Etude phytochimique et pharmacologique d'un fruit à propriété anti inflammatoire

#### Résumé

*Punica granatum L.* est un arbre fruitier appartenant à la famille des *Punicacées*, qui comprend trois espèces différentes : *Punica protopunica*, *Punica nana* et *Punica granatum*, cette dernière étant l'espèce la plus courante. Elle est utilisée à des fins thérapeutiques pour ses propriétés anti-inflammatoires et analgésiques, ainsi que dans le traitement de certaines maladies telles que le diabète et les affections cardiovasculaires. L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et anticoagulante de l'extrait hydro-méthanolique du fruit. Nous avons dosé les métabolites secondaires suivants : polyphénols, flavonoïdes, flavanols, sucres et protéines. L'activité antioxydante in vitro a été estimée à l'aide de quatre tests différents : DPPH, radical hydroxyle, TAC et  $\beta$ -carotène. L'activité anti-inflammatoire in vitro a été évaluée par la méthode de dénaturation de la BSA (albumine sérique bovine) et de l'ovalbumine. L'activité antibactérienne, quant à elle, a été testée par la méthode de diffusion sur disque. Nos résultats montrent que l'extrait hydro-méthanolique est très riche en métabolites secondaires et possède une activité antioxydante marquée, notamment selon le test DPPH, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de (0,25± 0,005) mg /mL, indiquant une efficacité significative. Par ailleurs, il présente une forte activité anti-inflammatoire, démontrée par un pourcentage élevé d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine. L'évaluation de l'activité antibactérienne révèle que l'extrait hydro-méthanolique de *Punica granatum L.* exerce un effet antimicrobien contre *Pseudomonas aeruginosa*, indiquant que cette souche est sensible à notre extrait dilué dans le DMSO, aux concentrations de 25 et 50 mg /mL, avec une zone d'inhibition de 9 et 12 mm. En conclusion, l'extrait de ce fruit présente des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antibactériennes, ce qui suggère son potentiel d'utilisation dans plusieurs domaines, notamment dans le traitement de maladies liées à l'inflammation et aux infections bactériennes.

**Mots clés :** *Punica granatum*, Antioxydante, BSA, Hydrométhanolique, Antibactérienne.

## Abstract

---

---

### Phytochemical and pharmacological study of a fruit with anti-inflammatory properties

#### Abstract

*Punica granatum L.* is a fruit-bearing tree belonging to the *Punicaceae* family, which includes three different species: *Punica protopunica*, *Punica nana*, and *Punica granatum*, the latter being the most common. It is used for medicinal purposes due to its anti-inflammatory and analgesic properties, as well as its potential in treating diseases such as diabetes and cardiovascular conditions. This study aims to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, and anticoagulant activities of the hydro-methanolic extract of pomegranate. We measured several active secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids, flavanols, sugars, and proteins. The antioxidant activity was assessed in vitro using four different tests: DPPH, hydroxyl radical scavenging, total antioxidant capacity (TAC), and beta-carotene bleaching. The anti-inflammatory activity was evaluated in vitro through the denaturation analysis of bovine serum albumin (BSA) and egg albumin. Antibacterial activity was assessed using the agar disk diffusion method. The results showed that the hydro-methanolic extract is very rich in secondary metabolites and exhibits notable antioxidant activity, particularly in the DPPH assay, where the  $IC_{50}$  value ( $0,25 \pm 0,005$ ) was approximately, indicating strong efficacy. The extract also demonstrated significant anti-inflammatory activity, reflected by a high percentage of albumin denaturation inhibition. Regarding antibacterial activity, the extract showed antimicrobial effects against the *Pseudomonas aeruginosa* strain, indicating sensitivity to the extract dissolved in DMSO at concentrations of 25 et 50 mg /mL, with an inhibition zone measuring 9 and 12mm. In conclusion, the extract of this plant demonstrates anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial properties, making it a promising candidate for various applications, especially in the treatment of inflammation-related diseases and bacterial infections.

**Key words:** *Punica granatum*, Anti-inflammatory, Antioxidant, Hydro-methanolic, Antibacterial.

## ملخص

### دراسة كيميائية نباتية ودوائية لثمرة ذات خصائص مضادة للالتهابات

#### ملخص

الرمان (*punica granatum*) هو شجرة فاكهة تنمي إلى فصيلة الرمانيات *punicace* والتي تضم ثلاثة أنواع مختلفة *punica nana* و *punica protopunica* و *punica granatum* ويعتبر هذا الأخير الأكثر شيوعا. يستخدم لأغراض علاجية نظرا لخصائصه المضادة للالتهابات والمسكنة، وكذلك في معالجة بعض الأمراض مثل السكري وأمراض القلب والأوعية الدموية. يهدف هذا البحث إلى تقييم النشاطات المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات، والمضادة للبكتيريا لمستخلص الرمان الهيدرو-ميثانولي. قمنا بقياس بعض المركبات الثانوية النشطة مثل البوليفينولات، الفلافونويدات، الفلافانولات، السكريات والبروتينات. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستعمال أربع اختبارات مختلفة: Dpph، الجذر الهيدروكسيل، القدرة المضادة للأكسدة الكلية TAC وبيطا كاروتين، كما تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر باستخدام طريقة تحليل تغير بنية البروتين BSA (ألبومين مصل البقر) وبياض البيض (الألبومين). أما النشاط المضاد للبكتيريا، فتم تقييمه بطريقة الانتشار على الأوساط الزرعية (طريقة الأقراص). أظهرت النتائج ان المستخلص الهيدروميثانولي غني جدا بالمركبات الثانوية، ويمتلك نشاطا مضادا للأكسدة مميزا، خصوصا في اختبار DPPH حيث بلغت قيمة IC<sub>50</sub> حوالي (0,25± 0,005) مما يدل على فعالية قوية كما أظهرت نشاطا ملحوظا للالتهابات، تمثل في نسبة عالية من تثبيط تحلل الألبومين اما فيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا فقد اظهر المستخلص تأثيرا مضادا للميكروبات ضد سلالة *Pseudomonas aeruginosa*، مما يدل على حساسية هذه الأخيرة للمستخلص الذائب في DMSO بتركيز 25 و50 ملغ/مليتر ، حيث بلغت منطقة التثبيط 9 و 12مليمتر في الختام، يمكن القول ان مستخلص هذه الفاكهة يظهر خصائص مضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا، مما يؤهله للاستخدام في عدة مجالات، لاسيما في معالجة الامراض المرتبطة بالالتهابات والعدوى البكتيرية

**الكلمات المفتاحية :** *punica granatum*، الالتهابات، الاكسدة، الهيدروميثانولي، البكتيريا.

## Liste des figures

---

---

### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	4
<b>Figure 2</b> : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant .....	5
<b>Figure 3</b> : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote .....	7
<b>Figure 4</b> : Structure chimique de l'acide ascorbique .....	9
<b>Figure 5</b> : Structure chimique de tocophérols.....	9
<b>Figure 6</b> : Structure chimique de $\beta$ carotène.....	10
<b>Figure 7</b> : Structure chimique de la 2- phénylbenzopyran .....	10
<b>Figure 8</b> : Acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes).....	11
<b>Figure 9</b> : Structures de base des flavonoïdes .....	11
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques d'un tanins hydrolysables.....	12
<b>Figure 11</b> : Les principales couramines .....	13
<b>Figure 12</b> : la structure chimique des Quinones .....	14
<b>Figure 13</b> : Structures des saponines .....	14
<b>Figure 14</b> : Mécanisme de la peroxydation des lipides .....	15
<b>Figure 15</b> : Principales circonstances pathologique s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire.....	16
<b>Figure 16</b> . L'inflammation et le système immunitaire.....	17
<b>Figure 17</b> : Arbre de <i>punica granatum</i> .....	27
<b>Figure 18</b> : Utilisations de <i>punica grunatum</i> dans les produits cosmétique .....	29
<b>Figure 19</b> : Activité antioxydants de l'extrait hydromethalique de <i>punica granatum</i> et quercetine vis-à vis du radical DPPH $P^{**}<0,01$ .....	50
<b>Figure 20</b> : Activité anti-radicalaire de l'extrait hydrmetanolique de <i>punica grunatum</i> et vitamine C vis-à vis du radical hydroxyle. $P^{***}<0.001$ . .....	51
<b>Figure 21</b> : Activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux de <i>punica grunatum L.</i> et vitamine C vis-à vis du TAC. $P^{**}<0.01$ .....	52
<b>Figure 22</b> : Activité antioxydante de l'extrait hydrometanolique de <i>punica grunatum L.</i> rapport au BHA, MeOH et H <sub>2</sub> O par le test de $\beta$ -carotène / acide linoléique. $P^{***}<0.001$ ; $p^{***}<0,001$ .....	53

## Liste des tableaux

---

---

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classification botanique de <i>Punica granatum</i> .....	27
<b>Tableau 2</b> : Résumé des tests Screening phytochimique .....	35
<b>Tableau 3</b> : Composition phytochimique de <i>punica grunatum</i> L.....	47
<b>Tableau 5</b> : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols .....	48
<b>Tableau 5</b> : Détermination de la teneur des Protéines et des sucres.....	49
<b>Tableau 6</b> : Inhibition de la dénaturation (%) de l'activité anti-inflammatoire in vitro par différentes concentrations d'extrait aqueux par la méthode de dénaturation de l'albumine d'oeuf. ....	54
<b>Tableau 7</b> : Effet de l'extrait hydro méthanolique sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine .....	55
<b>Tableau 8</b> : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro methanolique de <i>Punica grantum</i> L .....	57

## Liste des abréviations

---

---

### Liste des abréviations

- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- AINS** : Anti inflammatoire non stéroïdes.
- AIS** : Anti inflammatoire stéroïdes.
- AVK** : Antivitamine k.
- CAT** : Catalase.
- DMSO** : Diméthyle sulfoxyde.
- DPPH** : 2,2'-diphénylpicrylhydrazyl.
- EHM** : Extrait hydrométanolique.
- ERN** : Espèce réactive de l'azote.
- ERO** : Espèce réactive de l'oxygène.
- GSH-Px** : Glutathion peroxydase.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde D'hydrogène.
- HBPM** : Héparine de bas poids moléculaire.
- HNF** : Héparine non fractionnée.
- I%** : Pourcentage d'inhibition.
- IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50%.
- Mg** : milligrams
- Min** : Minute.
- O<sup>•-</sup>** : Anion Superoxyde.
- O<sub>2</sub>** : Oxygène.
- OH•** : Radical hydroxyle.
- ONOO•** : Peroxynitrite.
- ROS** : Reactive Oxygen Species (dérivés réactifs de l'oxygène).
- SOD** : Superoxyde dismutase.
- TGF-β** : Facteur de croissance transformant β.
- TNF-α** : Facteur de nécrose tumorale.
- UV** : Ultraviolet.

# *Table des matières*

# Table des matières

---

---

## Table des matières

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

Introduction ..... 1

### *Revue Bibliographique*

1. Le stress oxydatif..... 4

1.1. Les radicaux libres ..... 4

1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)..... 5

1.1.2. Les espèces réactives de l'azote (ERN) ..... 6

1.2. Les antioxydants ..... 7

1.2.1. Antioxydants enzymatiques ..... 7

1.3.2 Antioxydants non enzymatique ..... 8

1.3.3. Les composés phénoliques ..... 10

1.4. Conséquences du stress oxydatif ..... 15

1.4.1 Moléculaire..... 15

1.4.2 Pathologie du stress oxydatif..... 16

2. L'inflammation..... 17

2.1. Types d'inflammation..... 17

2.1.1. Inflammation aiguë ..... 17

2.1.2. Inflammation chronique ..... 18

## Table des matières

---

---

2.2. Médiateur de l'inflammation .....	18
2.3. Pathologie inflammatoire.....	19
2.4. Anti-inflammatoires.....	20
2.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (ANS) .....	20
2.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	21
2.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale .....	21
3. Infection bactériennes.....	<b>22</b>
3.1. Résistance aux antibiotiques .....	22
3.1.1. Résistances naturelles ou intrinsèques .....	22
3.1.2. Résistance acquise.....	23
4. Classification des antibiotiques .....	<b>23</b>
4.1. Modes d'actions .....	23
4.2. Mécanismes des résistances aux antibiotiques .....	24
4.3. Traitement des infections bactériennes .....	25
5 . Punica granatum L.....	<b>26</b>
5.1. Description et classification botanique .....	26
5.2. Classification botanique de Punica granatum .....	27
5.3. Utilisation traditionnelle .....	27
5.3.1. Utilisation pharmacologique et impact sur la santé .....	27
5.3.2. Utilisation agroalimentaire.....	28
5.3.3. Utilisation industrielle .....	28
5.3.4. Utilisation de la Punica granatum L dans les produits cosmétiques .....	29
5.4. Composition Chimique .....	29
5.5. Les activités biologiques.....	30
5.5.1. Activité antioxydant .....	30
5.5.2. Activité anti-inflammatoire .....	30
5.5.3. Activité anti-cancéreuse .....	31

## Table des matières

---

---

5.5.4. Activité antidiabétique .....	31
--------------------------------------	----

### *Partie expérimentale*

#### *Matériel et méthodes*

1. Matériels et méthodes.....	<b>34</b>
1.1. Matériels .....	34
1.1.1. Réactifs et appareillages.....	34
1.1.2. Matériel végétal.....	34
1.2. Méthodes.....	34
1.2.1. Préparation des extraits .....	34
1.2.2. Screening phytochimique.....	35
1.2.3. Détermination de teneur en polyphénols totaux.....	36
1.2.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	37
1.2.5. Détermination de la teneur en flavonols totaux .....	38
1.2.6. Détermination de la teneur des Protéines (méthode kjeldhal).....	38
1.2.7. Dosage des glucides (méthode Dubois) .....	39
1.2.8. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro.....	39
1.2.9. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène/ acide linoléique .....	40
2. Méthode d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro .....	<b>40</b>
2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation de l'albumine de l'oeuf.....	41
3. L'inhibition de la dénaturation de BSA.....	<b>41</b>
3. Activité antioxydante totale (CAT).....	<b>43</b>
4. Activité antibactérienne.....	<b>43</b>
4.1. Matériel et équipement .....	43
4.2. Méthode de diffusion .....	44
4.2.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé .....	44
5. Analyse statistique.....	<b>45</b>

## Table des matières

---

---

### *Résultats et discussion*

1. Résultats et discussions .....	47
1.1 Screening phytochimique .....	47
1.2. Teneur des poly phénols, flavonoïdes, flavonols.....	47
1.3. Détermination de la teneur des Protéines et des sucres .....	49
1.4 Evaluation de l'activité antioxydante in vitro.....	50
1.4.1 Le test de DPPH.....	50
1.4.2. Le test du piégeage du radical hydroxyle.....	51
1.4.2. Teste de total anti oxydant capacité (TAC).....	52
1.4.4. Teste de B-carotène.....	53
1.5. Evaluions d'activité antiinflammatoire.....	54
1.5.1 La méthode de dénaturation d'albumine d'œuf.....	54
1.5.2. La méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine.....	55
1.6. L'activité anti bactérienne in vitro.....	56
1.6.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	56
Conclusion et perspectives .....	60
Références bibliographiques .....	63

# *Introduction*

## *Introduction*

---

---

### **Introduction**

Les fruits sont des aliments caractérisés par leur faible apport calorique (du fait de leur richesse en eau et leur faible teneur en lipides) et leur fort contenu en fibres, vitamines, minéraux et micro constituants divers. Ils représentent des sources importantes de notre alimentation : c'est le cas de la vitamine C, des folates et de la vitamine A apportée par les caroténoïdes pro- vitaminiques A (**Liu, 2013**).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme captateurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme. Ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. La surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme. En effet, ils endommagent de nombreux composants cellulaires aussi divers tels que les protéines, les lipides ou l'ADN en entraînant un stress oxydatif (**Kholkhal, 2014**).

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides) (**Pan et al., 2008**).

L'inflammation est une réponse protectrice normale à une lésion tissulaire et implique une combinaison complexe d'activation enzymatique, de libération de médiateurs, d'extravasation de liquide, de migration cellulaire et de dégradation et de réparation des tissus (**Vane et Botting, 1995**). Aussi est un processus défensif qui se produit lorsque le corps réagit à divers stimuli, notamment des infections, des irritants ou diverses lésions cellulaires et tissulaires (**Oyedapo et al., 2010**). En outre, l'inflammation est associée à la douleur et implique, entre autres, une dénaturation accrue des protéines, une perméabilité vasculaire accrue et une altération des membranes (**Ferrero-Millani et al., 2007**). De nombreux produits anti-inflammatoires et antioxydants de synthèse (anti-inflammatoires non stéroïdiens et stéroïdiens, gallate de propyle, butylhydroxytoluène) sont largement disponibles. Cependant, leur utilisation excessive peut entraîner des complications gastro intestinales, rénales ou cardiovasculaires, des ulcères et de l'ostéoporose (**Wallace et Vong, 2008 ; Whitehouse, 2011**).

## *Introduction*

---

---

Les fruits possèdent aussi une activité anti bactérienne qui une est une famille de substances qui tuent ou ralentissent la croissance des microorganismes. Ces derniers sont de plus en plus résistants aux actuels traitements antibactériens, antifongiques et antiviraux, ce qui pousse les chercheurs à découvrir de nouveaux principes actifs. En effet, l'activité antimicrobienne de la grenade et de ses dérivés a été démontrée dans de nombreuses études qui ont constaté l'inhibition de l'activité de nombreux microorganismes (**Lamouri et layaicha,2020**).

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antioxydant, l'activité anti-inflammatoire, et dernièrement l'activité bactérienne, d'un fruit médicinale couramment utilisée en médecine traditionnelle

Le présent travail est organisé en trois parties :

- La première partie est consacrée à la recherche bibliographique.
- La seconde partie expose le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail.

La troisième partie est consacrée aux résultats expérimentaux trouvés et qui portent sur :

- Un screening phytochimique réalisé sur les métabolites secondaires d'un fruit.
- Les dosages des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins....
- Une étude de l'activité antioxydante d'EHM par quatre tests différents qui sont test de TAC, le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du radical hydroxyl et l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta carotène.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'EHM par le test de BSA et la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf.
- Également une étude sur l'activité antibactérienne à partir la méthode de diffusion sur disques pour évaluer la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne.

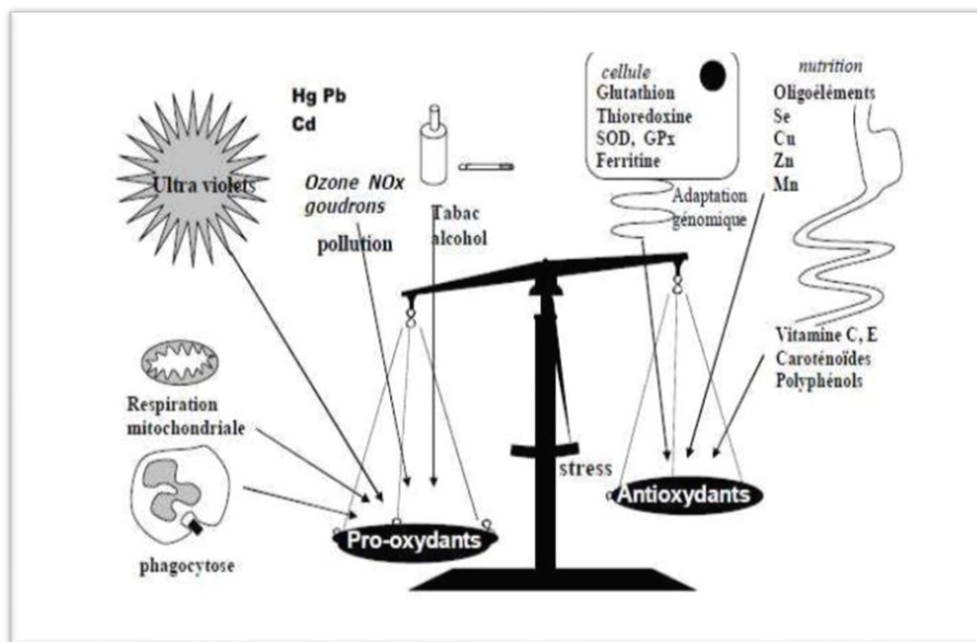
Enfin une conclusion essentielle sur l'ensemble de ce travail ainsi que les perspectives de sa continuité ont été étudiées.

# *Revue Bibliographique*

## 1. Le stress oxydatif

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2006**). Ce déséquilibre est fonction de plusieurs paramètres tels que l'âge, l'alimentation et l'état sanitaire de l'individu (**Chun et al., 2003**).

En fait, le stress oxydatif joue un rôle dans un large éventail des maladies en agissant comme un déclencheur ou en contribuant aux conséquences. La majorité des maladies causées par le stress oxydatif se manifestent à mesure que les gens vieillissent parce que le vieillissement affaiblit les défenses antioxydantes et favorise la prolifération mitochondriale des radicaux (**Bidie et al., 2011**).



**Figure 1** : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (**Favier, 2006**).

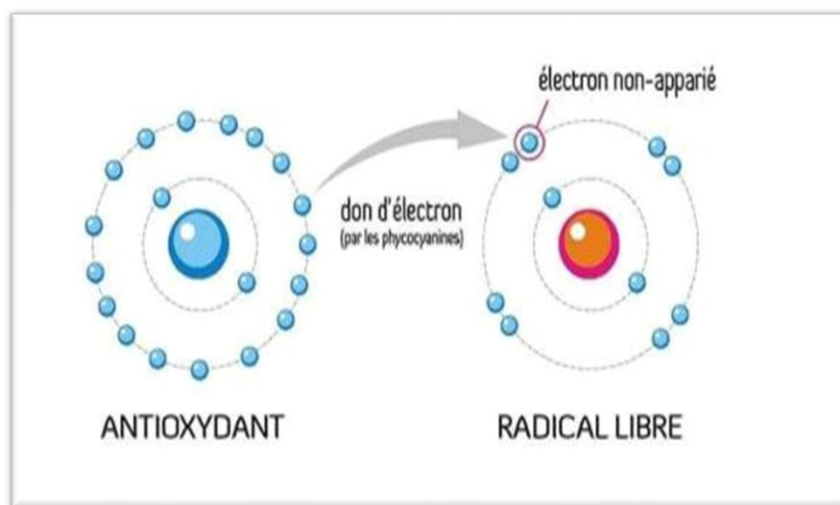
### 1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres (RL) ont été découverts dans les systèmes biologiques il y a plus de soixantaine d'années (**Commoner et al., 1954**). Les radicaux libres sont produits lors de réponses physiologiques normales et utilisés par l'organisme à faible dose (**Magder, 2006**).

Un radical libre est une espèce chimique qui a un seul électron dans leur couche externe, ce qui rend cette espèce chimique particulièrement instable. Lorsque cet électron

célibataire se trouve sur l'atome d'oxygène, on dit "espèces réactives de l'oxygène" (ERO) ou "réactive oxygen species" (ROS) (Durand *et al.*, 2013).

En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Favier, 2003). Les radicaux libres sont des molécules contenant de l'oxygène qui sont produites au cours du métabolisme physiologique et dans certaines conditions pathologiques. Ils peuvent endommager les tissus en capturant des électrons, laissant la molécule d'origine dans un état instable (Filane et Toumi, 2012).



**Figure 2 :** Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (valerie, 2019).

### 1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'importance du stress oxydatif n'est plus à démontrer. En effet, celui-ci serait impliqué dans de nombreuses problématiques comme le vieillissement cellulaire, l'asthme, l'apoptose et le cancer, tout en pouvant causer des dommages sur les protéines, les acides nucléiques et les lipides cellulaires (Moller et Kristensen, 2004 ; Afonso *et al.*, 2007 ; Ishii, 2007). Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être produites dans n'importe quel type cellulaire, et ce même en conditions normales (Rutkowski *et al.*, 2007). Trois de ces espèces réactives de l'oxygène seront décrites ici, soit l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le radical hydroxyl ( $OH^{\bullet}$ ).

Ces trois molécules sont formées selon un ordre bien précis. Tout d'abord, les  $O_2$  sont produits suite à une réduction de l'oxygène ( $O_2$ ), principalement causée par des électrons s'étant échappés du système de transport d'électrons présent dans la mitochondrie (Ishii,

**2007**). Le  $O_2^{\cdot -}$  est d'une importance capitale car il est la première espèce réactive d'oxygène à être formée. Certains complexes ont été identifiés comme sites de production possible de l' $O_2^{\cdot -}$

dans la mitochondrie, et l'importance physiologique commence à être déterminée. En effet, comparativement aux complexes III et IV, une inhibition de seulement 25 % du complexe I (NADH ubiquinone oxydoréductase) est suffisante pour provoquer une formation d'espèces réactives ce qui peut théoriquement avoir des conséquences physiologiques (**Adam-Vizi, 2005**). Les  $O_2^{\cdot -}$  agissent en oxydant certains cofacteurs comme, par exemple, le groupement Fe-S d'aconitase qui est une enzyme du cycle de Krebs (**Ilbert *et al.*, 2006**). Ils inhibent donc la production d'ATP cellulaire. De plus, en présence d'oxyde nitrique (NO), ils provoquent la formation d'une espèce réactive de l'azote, l'oxynitrite ( $OONO^{\cdot -}$ ) qui est bien plus réactive que les  $O_2^{\cdot -}$  et qui peut endommager de très nombreuses molécules (**Murphy, 1999**).

### **1.1.2. Les espèces réactives de l'azote (ERN)**

De nombreuses réactions, enzymatiques ou non, la réduction du monoxyde d'azote dans l'organisme et conduisent à la formation d'espèces réactives variées. Elles sont présentes de façon ubiquitaire dans tous les types cellulaires. Ces espèces dérivées de l'azote peuvent interagir et aussi modifier les molécules biologiques comme les acides nucléiques (coupures de brins d'ADN, modifications des bases nucléiques), les protéines, les lipides insaturés ou les petites molécules (métabolites, vitamines...) en effectuant des réactions de nitration ou de nitrosation. Parfois, ces réactions sont totalement non spécifiques (cas des réactions d'oxydation), tandis que d'autres sont très sélectives du point de vue de l'espèce en jeu, la nature de la cible et son environnement (**Béguet, 2012**).

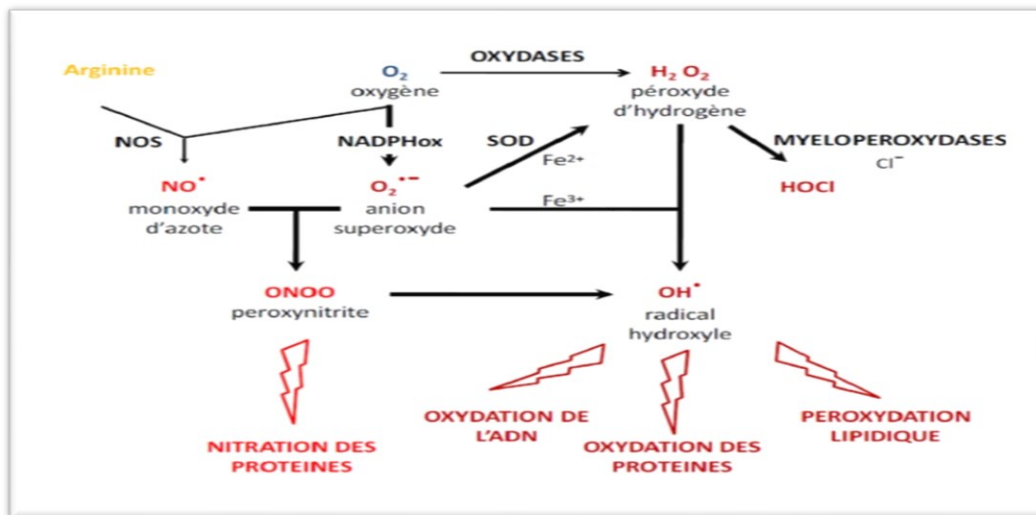


Figure 3 : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Favier, 2003).

## 1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui neutralisent les radicaux libres responsables de nombreuses maladies (Behera *et al.*, 2006). Ils sont des substances à faible concentration qui ont la capacité de concurrencer les substrats oxydables et de ralentir ou d'empêcher leur oxydation (Tanoh *et al.*, 2019).

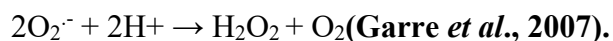
On distingue deux types des antioxydants : enzymatiques et non enzymatiques.

### 1.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants *enzymatiques* sont des enzymes présentes au sein des cellules, dont la fonction est de neutraliser les ERO à l'intérieur de la cellule. Selon Henni et Chekoufi, (2020) les antioxydants *enzymatiques* majeures incluent la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase (GSH-PX), la glutathion réductase et la glutathion S-transférase. Les séquences de ces enzymes sont fortement préservées à travers l'évolution et agissent de façon coordonnée

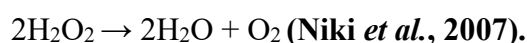
#### 1.3.1.1. Superoxyde dismutases (SOD)

Est l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif. Ces métalloprotéines se transforment en peroxyde d'hydrogène et en oxygène par une réaction de dismutation, assurant l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet -}$  (Garre *et al.*, 2007).



### 1.3.1.2. Catalase (CAT)

Est une enzyme qui catalyse la décomposition de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ . Il est présent dans les globules rouges et les peroxysomes de nombreux tissus et cellules. (Tokarz et Kaarniranta, 2013). Il est plus actif lorsque les niveaux de stress oxydatif sont élevés ou lorsque la quantité de glutathion peroxydase est limitée (Niki et al., 2007).



### 1.3.1.3. Glutathion peroxydases (GSH-PX)

Est une enzyme rénale et hépatique composée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (Delattre et al., 2005). Elle convertit de manière fiable les hydroperoxydes organiques de type ROOH, en particulier les lipides, en ROH. (Belkhiri, 2010).



Il existe également d'autres antioxydants tels que la transferrine, la ferritine et la métallothionéine. Ces derniers sont des enzymes qui limitent la disponibilité des métaux dans la formation de radicaux libres par formation de complexes. Enfin, les enzymes qui réparent les molécules endommagées par les ROS peuvent également être considérées comme des défenses antioxydantes (méthionine sulfoxyde réductases, endonucléases, ADN glycosylases) (Béguel, 2012).

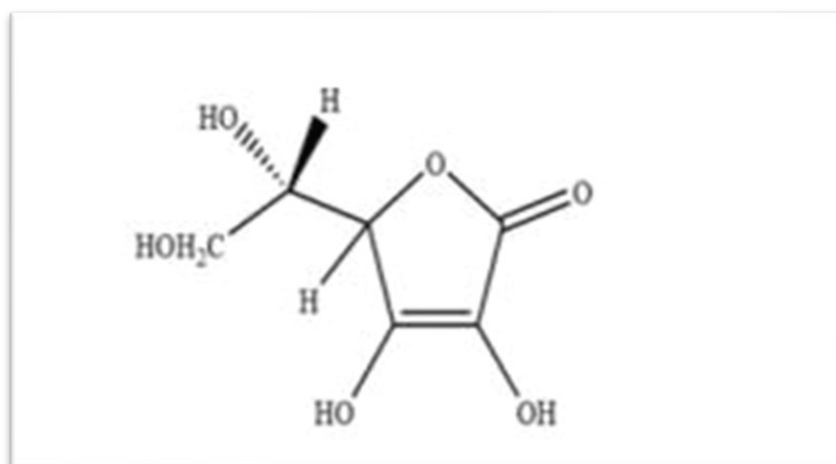
## 1.3.2 Antioxydants non enzymatique

Les antioxydants non-enzymatiques sont des composés produits au sein de la cellule de l'organisme ayant le rôle de renforcer l'action protectrice enzymatique (Pham-Huy et al., 2008).

### A- Vitamine C

Également connue sous le nom d'acide L-ascorbique, la vitamine C est une molécule organique hydrosoluble qui agit à faible dose dans l'organisme et contribue au maintien de l'équilibre vital. Elle est réputée pour ses propriétés anti oxydantes contre les radicaux libres

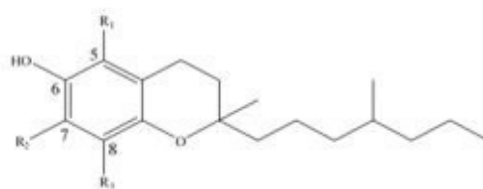
(Schwartz, 2016). Ses caractéristiques anti oxydante découlent de sa forme ionisée prévalent (AscH<sup>-</sup>), qui interagit aisément avec les radicaux libres et produit des radicaux ascorbate tricarbonyle (AscH<sup>•</sup>), stabilisés par résonance. Du fait de son pK extrêmement bas, la forme radicalaire.



**Figure 4 :** Structure chimique de l'acide ascorbique (Boubekri,2014).

### **B- Vitamine E**

C'est une appellation fréquemment utilisée pour décrire les divers tocophérols et tocotriénols (un ensemble de 8 molécules, comprenant 4 tocophérols et 4 tocotriénols, (Figure 5). Bien qu'ils soient de bons antioxydants alimentaires, c'est surtout leur fonction physiologique dans l'organisme humain, comme défenseurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou contre le stress oxydatif, qui revêt une grande importance. Il prévient l'apparition des hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO<sup>•</sup> (Rezaire, 2012).

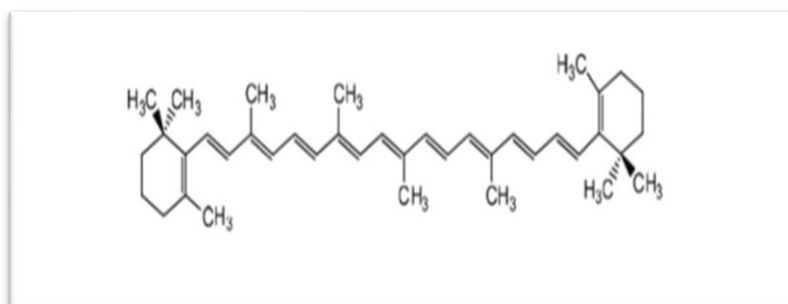


**Figure 5 :** Structure chimique de tocophérols (Boubekri,2014).

### **C- Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux (voir fig06). Le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène sont les plus significatifs.

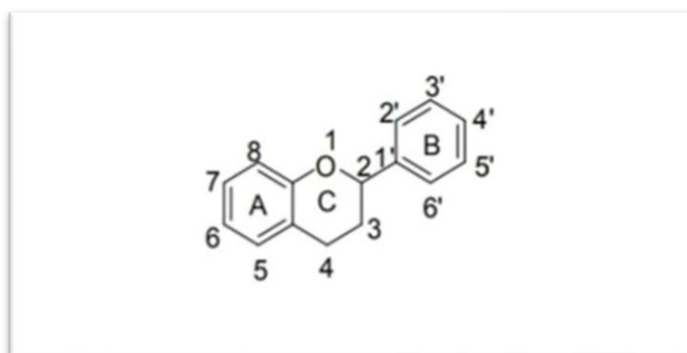
Ce sont eux qui confèrent aux fruits et légumes leurs nuances d'orange, de rouge et de jaune. La majorité des caroténoïdes possèdent des vertus antioxydantes (Causse, 2005).



**Figure 6 :** Structure chimique de β carotène (Laguerre *et al.*, 2007).

### 1.3.3. Les composés phénoliques

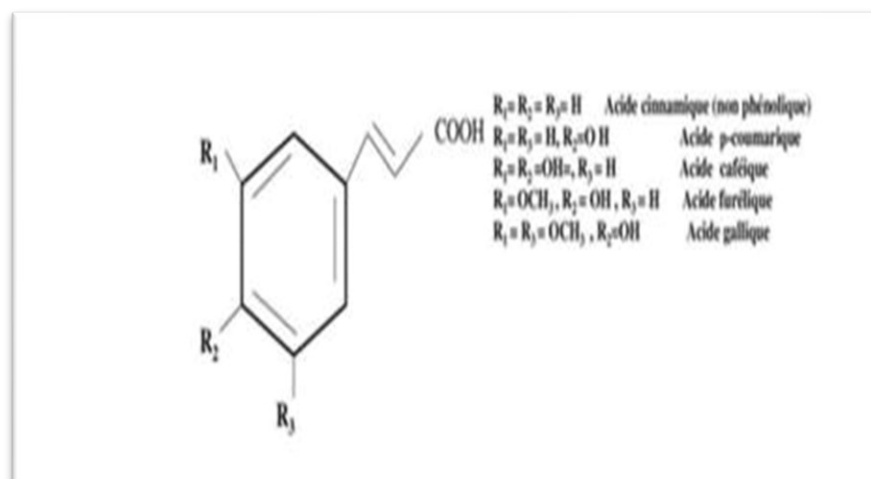
Ce sont des métabolites secondaires de la végétation, présentant une structure uniforme de type 2-phénylbenzopyrane (Figure 07). Ils exercent une activité antioxydante grâce à leur aptitude à interrompre les chaînes de radicaux libres et à se lier aux ions métalliques susceptibles de favoriser la peroxydation des lipides via des processus de transfert d'électrons et de protons (Leopoldini *et al.*, 2011).



**Figure 7 :** Structure chimique de la 2- phénylbenzopyran (Rezaire, 2012).

#### *A. Acides phénoliques*

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques avec des formes chimiques simples allant du phénol simple au C6. Les acides phénoliques les plus connus sont : l'acide hydroxybenzoïque et, l'acide hydroxycinnamique (Lahmdi, 2021).



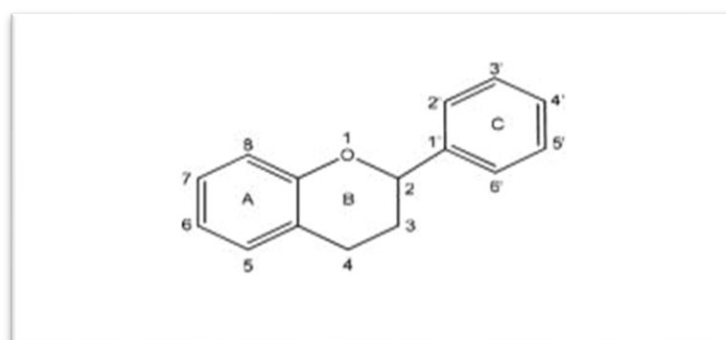
**Figure 8 :** Acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes) (Lahmdi, 2021).

### B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une catégorie significative de composés phénoliques présents dans les plantes supérieures. Ils englobent plus de 6500 molécules et possèdent une structure composée de 15 atomes de carbone (Fig. 11) (Chae *et al.*, 2013).

Les variations structurelles de ces composés découlent des réactions d'hydroxylation, d'alcalinisation et de glycosylation qui transforment la molécule initiale (Khoddami *et al.*, 2013).

Ils offrent de multiples bénéfices sur le plan thérapeutique. Ils sont particulièrement actifs dans l'effort de maintenir une circulation optimale. Quelques-uns possèdent aussi des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-enzymatiques et hépatoprotectrices ; ces flavonoïdes ont une importance capitale dans les mécanismes de défense et antiviraux (Iserin, 2001).



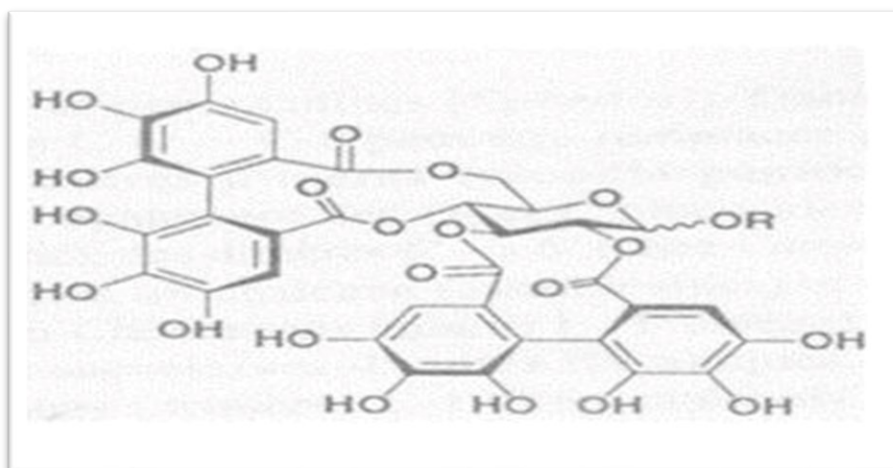
**Figure 9 :** Structures de base des flavonoïdes (Amić *et al.*, 2003).

**C. Tanins**

L'origine du mot tanin remonte à l'ancienne méthode de tannage des peaux animales à l'aide d'extraits végétaux. Ces composants renferment des dérivés phénoliques qui s'associent aux protéines. On les trouve notamment dans les tissus vieux ou malades. Ces substances possèdent des caractéristiques communes pour le bronzage cutané (association à des macromolécules (protéines, polysaccharides, etc.) par des liaisons contre les agressions fongiques et bactériennes). En outre, ils possèdent aussi des caractéristiques d'inhibition enzymatique.

Les tanins ont la capacité de créer des complexes avec des protéines par le biais de liaisons hydrogène, hydrophobes ou covalentes. Cela leur donne la possibilité d'inhiber les microbes, les protéines de transport d'adhésion enzymatique et l'enveloppe cellulaire (Aguilera-Carbo *et al.*, 2005 ; Macheix *et al.*, 2008).

Les tanins sont divisés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Lahmdi, 2021).

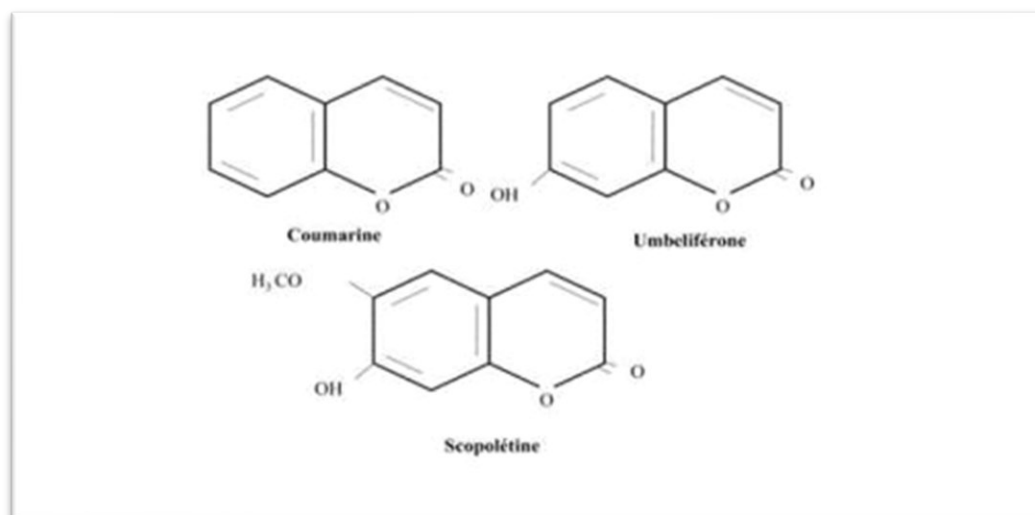


**Figure 10** : Structures chimiques d'un tanins hydrolysables (Sereme *et al.*, 2010).

**D. Couramine**

Les coumarines sont dérivées des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne des chaînes latérales. Les principales coumarines (umbelliférone, escine et scopolétine) (Lahmdi, 2021). Ils sont présents dans la nature, soit sous forme libre, soit liés à des sucres. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une agression biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexine.

La coumarine libre est soluble dans les alcools et les solvants organiques tels que les solvants chlorés desquels elle peut être extraite. Ils empêchent la peroxydation des lipides membranaires et piègent les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Guessoum,2021).

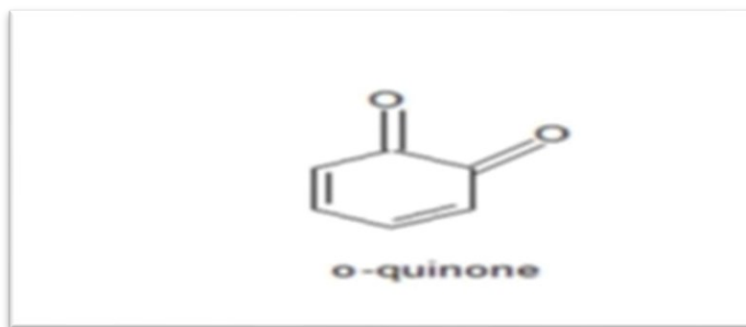


**Figure 11** : Les principales couramines (Lahmdi,2021).

### *E. Quinons*

Les quinones forment une série de diènes (hydrocarbures contenant deux doubles liaisons) qui se distinguent des aromatiques et contiennent donc un cycle benzénique (C<sub>6</sub>). Ils sont un groupe de substances à forte activité biologique. Les quinones sont utilisées dans les colorants, les médicaments et les fongicides.

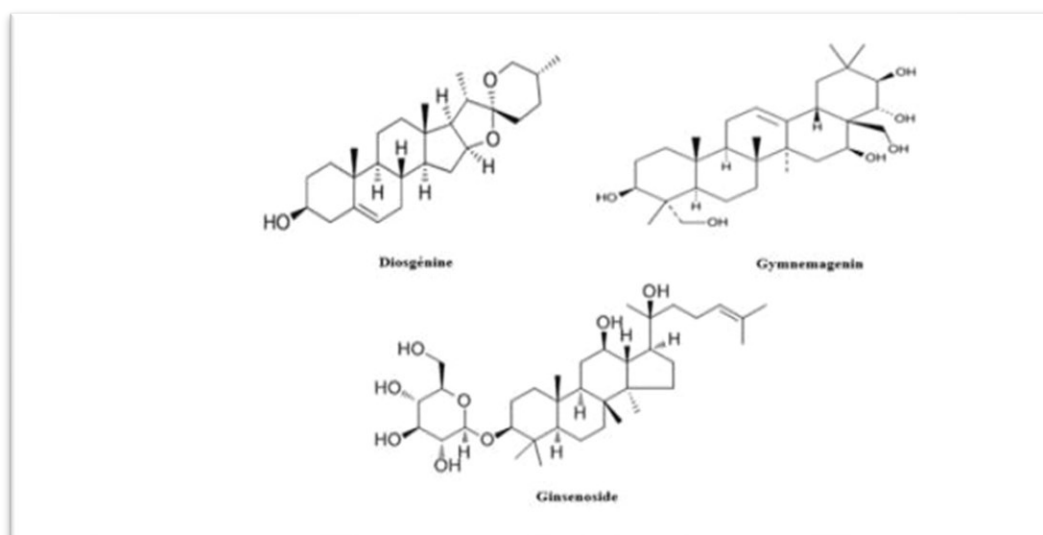
Les quinones sont des transporteurs d'électrons spécifiques pour les membranes mitochondriales (internes) et les thylakoïdes, que nous avons également trouvés dans ce groupe des plantes colorées. Enfin, la plupart des anthraquinones ont un effet appétissant, mais aussi un effet laxatif, agissant directement sur le tissu musculaire lisse du côlon et gênant la réabsorption d'eau (Bruneton, 2009).



**Figure 12 :** la structure chimique des Quinones (Bruneton, 2009).

### *F. Saponines*

Les saponines sont des métabolites secondaires largement présents dans certaines familles du règne végétal. Ces derniers sont surtout générés par des plantes supérieures, mais également par des animaux marins de rang inférieur et certaines bactéries. Il s'agit de glycosides à fort poids moléculaire composés d'une portion lipophile, d'un aglycone (ou aglycone) et d'une partie glycoside hydrophile. L'explication de leur comportement moussant dans les solutions aqueuses réside dans la présence d'éléments structuraux polaires et non polaires au sein des molécules. Ainsi, les saponines possèdent une variété d'activités biologiques (Guessoum, 2021).



**Figure 13 :** Structures des saponines (Guessoum, 2021).

## 1.4. Conséquences du stress oxydatif

### 1.4.1 Moléculaire

#### A. Oxydation de l'ADN

L'ADN (Acide désoxyribonucléique) est continuellement attaqué par des espèces réactives pouvant gravement altérer sa structure et son rôle. Les modifications structurales de l'ADN engendrent intrinsèquement des altérations de ses bases, des cassures de brins d'ADN et des transformations de multiples protéines en interaction avec l'ADN (Jena, 2012). Ces modifications pourraient causer des transformations génétiques touchant les oncogènes et les gènes inhibiteurs de tumeurs (Borrego *et al.*, 2013).

#### B. Peroxydation lipidique

Le stress oxydatif provoque une peroxydation des lipides au sein des membranes cellulaires lorsque les radicaux libres interagissent avec les éléments de la membrane, en particulier les acides gras polyinsaturés et les lipoprotéines de basse densité. Selon Ahmed *et al.* (2013), l'interaction entre les espèces réactives de l'oxygène et les lipides se déroule en trois phases : initiation, propagation et terminaison.

La peroxydation lipidique est un processus qui entraîne la dégradation des lipides de la membrane, des dérèglements métaboliques et inflammatoires, ainsi que la création et la diffusion de radicaux libres lipidiques aux multiples conséquences nuisibles (Zhao *et al.*, 2013), tels que le malondialdéhyde (MDA), qui est un indicateur spécifique de ce processus (Rofi' *et al.*, 2013).

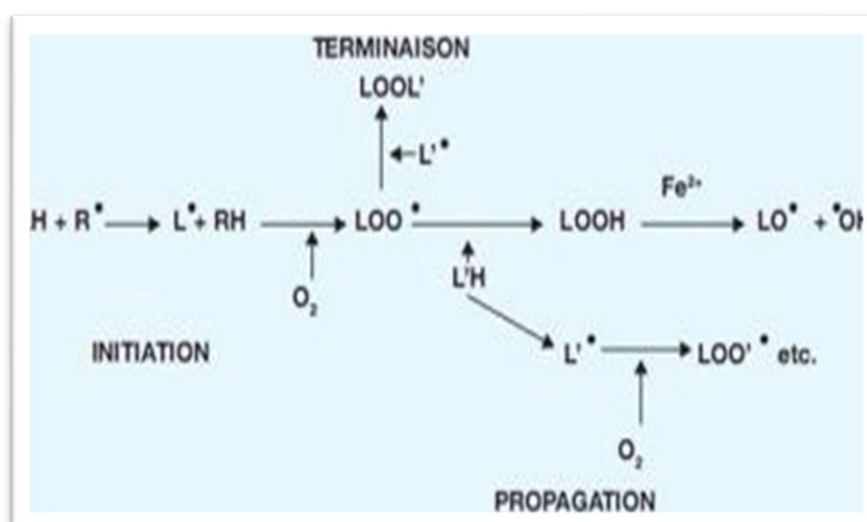


Figure 14 : Mécanisme de la peroxydation des lipides (Ababsa *et al.*, 2023).

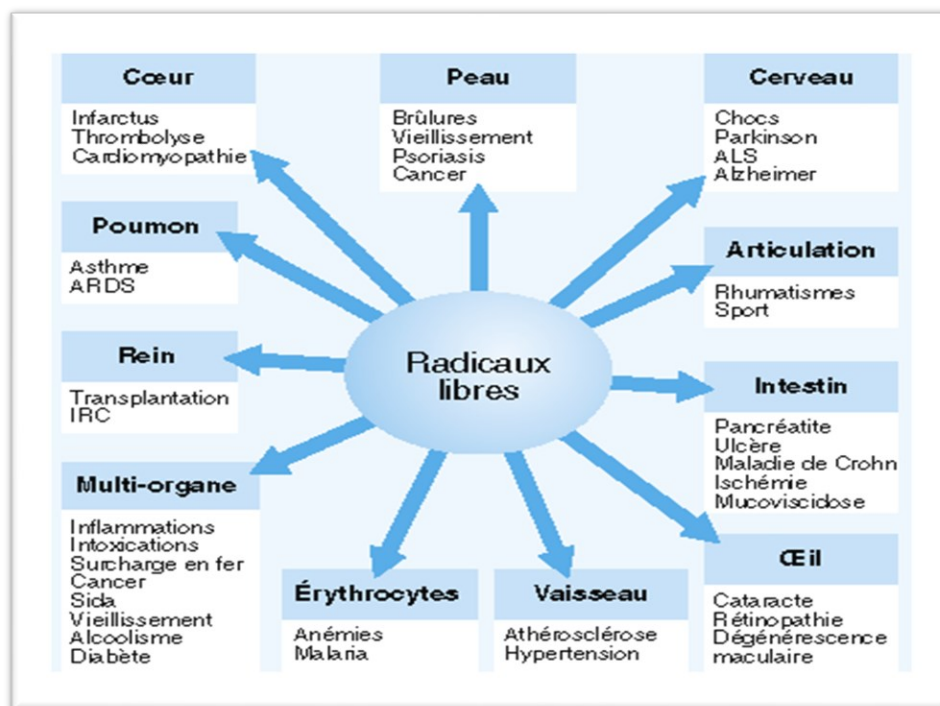
### C. Oxydation des protéines

Les ROS peuvent provoquer des altérations des protéines, qui peuvent se manifester par des modifications structurelles (comme la dimérisation, la fragmentation ou la modification des acides aminés) et/ou fonctionnelles (telles que la perte de l'activité enzymatique ou la perturbation des processus protéolytiques).

Selon **Kruidenier et Verspaget, (2002)** les acides aminés les plus affectés par ses effets sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine et la cystéine.

#### 1.4.2 Pathologie du stress oxydatif

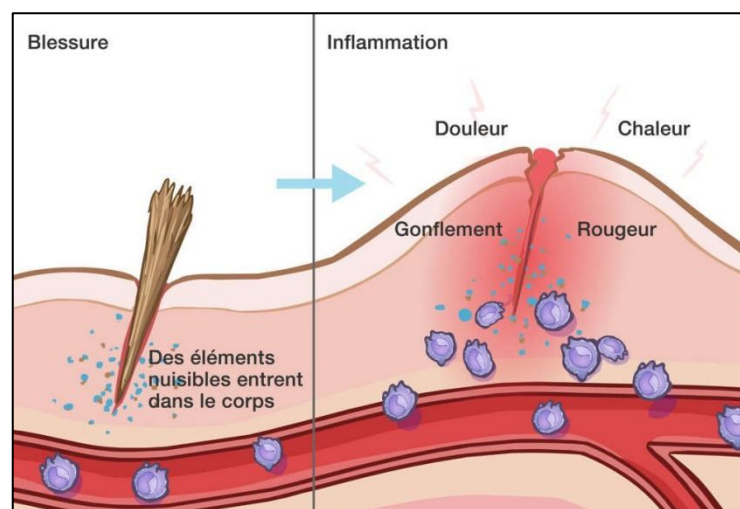
Le stress oxydatif est impliqué dans de nombreuses pathologies (Figure 16), comme le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le vieillissement accéléré. C'est l'un des facteurs de survenue de maladies multifactorielles telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Kada, 2018**).



**Figure 15 :** Principales circonstances pathologique s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire (**kehili, 2018**).

## 2. L'inflammation

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus de l'organisme à des stimuli nocifs tels que des agents pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Il s'agit d'un mécanisme de protection destiné à éliminer la cause initiale de la blessure, à supprimer les cellules et les tissus endommagés et à lancer le processus de guérison ; caractérisée par des rougeurs, de la chaleur, des gonflements, des douleurs et parfois une perte de fonction. L'inflammation est un élément essentiel de la défense du système immunitaire (Oronsky *et al.*, 2022).



**Figure 16.** L'inflammation et le système immunitaire (About Health, 2013).

### 2.1. Types d'inflammation

L'inflammation constitue une réponse complexe de l'organisme, se classifiant en deux types : aiguë et chronique.

#### 2.1.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë constitue une réaction immunitaire rapide et efficace qui se manifeste en réponse à une lésion tissulaire, une infection ou une irritation. Ce processus, qui peut s'étendre sur quelques heures à plusieurs jours, se caractérise par une série de mécanismes biologiques permettant à l'organisme de maîtriser les agents pathogènes, de réparer les tissus lésés et de rétablir l'homéostasie (Stiel & Blot, 2024). Les manifestations cliniques de l'inflammation aiguë sont bien établies : rougeur, chaleur, œdème et douleur, résultant d'une augmentation du flux sanguin dans la zone touchée ainsi que de l'accumulation de fluides et de cellules immunitaires (Calvino, 2023).

Ce phénomène inflammatoire mobilise différents types de cellules, notamment les neutrophiles, les macrophages et les lymphocytes, qui se déplacent vers le site de l'inflammation grâce à des signaux chimiotactiques. Des médiateurs chimiques tels que les cytokines, les prostaglandines et les leucotriènes jouent un rôle clé dans la régulation de la réponse inflammatoire, en influençant la perméabilité des vaisseaux sanguins et le recrutement cellulaire. Bien que cette réponse soit cruciale pour l'élimination des agents pathogènes, une régulation inadéquate peut entraîner des maladies auto-immunes ou des dommages tissulaires (Piccolo, 2021).

### **2.1.2. Inflammation chronique**

L'inflammation chronique constitue une réponse prolongée et dysfonctionnelle du système immunitaire, pouvant durer des mois, voire des années. À la différence de l'inflammation aiguë, qui est généralement une réaction temporaire et protectrice face à une agression, l'inflammation chronique peut être provoquée par divers éléments, tels que des infections persistantes, des maladies auto-immunes ou des facteurs environnementaux comme la pollution. Ce processus physiopathologique se manifeste par la présence continue de cellules immunitaires, notamment des lymphocytes, des macrophages et des plasmocytes, qui infiltrent le tissu touché et créent un environnement inflammatoire souvent déséquilibré (De Burghgrave, 2023).

Les effets de l'inflammation chronique entraînent des lésions tissulaires irréversibles. Des maladies telles que l'arthrite rhumatoïde, la colite ulcéreuse et certaines affections cardiovasculaires en découlent fréquemment. L'accumulation de cytokines inflammatoires provoque progressivement la destruction des cellules saines, perturbant ainsi les fonctions organiques. De plus, l'inflammation chronique est associée à des déséquilibres métaboliques, augmentant le risque d'obésité, de diabète de type 2 et de certains cancers (Mainguy-Seers, 2022).

### **2.2. Médiateur de l'inflammation**

L'inflammation, en tant que réponse immunitaire fondamentale, est orchestrée par une multitude de molécules qui jouent des rôles spécifiques dans la régulation et la diffusion des signaux inflammatoires. Ces médiateurs, comprenant les cytokines, les chemokines, les prostaglandines et d'autres médiateurs lipidiques, sont synthétisés par diverses cellules immunitaires ainsi que par les cellules endothéliales, les fibroblastes et même les cellules

parenchymateuses. Parmi les acteurs majeurs du processus inflammatoire figurent les cytokines telles que l'interleukine-1 (IL-1), le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ) et l'interleukine-6 (IL-6), qui déclenchent et soutiennent l'inflammation, favorisant ainsi la migration des leucocytes vers les tissus affectés et amplifiant la réponse immunitaire (**Charlot et al., 2021**).

Les chemokines, qui constituent une sous-catégorie de cytokines, ont pour rôle principal d'attirer les cellules immunitaires vers les zones d'inflammation, garantissant une réponse rapide et ciblée. Ces molécules se lient à des récepteurs spécifiques sur les cellules concernées, facilitant leur accumulation dans les tissus touchés et créant un environnement favorable à la cicatrisation (**Maquet, 2022**). Par ailleurs, les prostaglandines, dérivées des acides gras, jouent un rôle dans la modulation de la douleur et de la vasodilatation, augmentant la perméabilité des vaisseaux sanguins pour permettre aux cellules immunitaires d'accéder aux zones lésées. Cette coordination est essentielle, car une dérégulation des médiateurs inflammatoires peut conduire à des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite ou les maladies auto-immunes (**Calvino, 2021**).

### **2.3. Pathologie inflammatoire**

Les maladies inflammatoires comprennent un vaste éventail de troubles qui découlent d'une réponse immunitaire excessive ou inappropriée, provoquant un déclin de l'homéostasie dans l'organisme. Bien que cette réponse soit essentielle pour lutter contre l'infection et favoriser la guérison, elle peut devenir pathologique si elle persiste trop longtemps. (**Stiel & Blot, 2024**). Des maladies telles que l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn, et le lupus érythémateux systémique illustrent cette dynamique où l'inflammation chronique contribue non seulement aux symptômes cliniques, mais également à des dommages tissulaires irréversibles. Ces conditions se caractérisent souvent par des épisodes de douleur, de rougeur, de chaleur et de gonflement, manifestations cliniques observables au niveau des articulations, des organes internes, voire de la peau (**Lopez, 2022**).

Les mécanismes sous-jacents à ces pathologies sont complexes et impliquent une interaction entre les cellules immunitaires, les cytokines pro-inflammatoires et des médiateurs biologiques. Les lymphocytes T, les macrophages et les cellules dendritiques jouent un rôle central dans la modulation de la réponse inflammatoire. Parallèlement, des cytokines comme le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine-1 (IL-1) et

l'interleukine-6 (IL-6) sont fréquemment impliquées dans la transmission de signaux inflammatoires (Arce-Gorvel *et al.*, 2023). Ces médiateurs peuvent provoquer des dégradations des tissus et exacerber la réponse inflammatoire, créant ainsi un cycle de destruction et d'inflammation qui aggrave l'évolution de la maladie (Raki, 2022).

## **2.4. Anti-inflammatoires**

Les anti-inflammatoires constituent une classe essentielle de médicaments utilisés pour traiter divers troubles inflammatoires, allant des affections chroniques comme l'arthrite aux réactions aiguës telles qu'une blessure ou une infection. Ces agents pharmacologiques se répartissent principalement en trois catégories : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (ANS), les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires d'origine végétale, chacune ayant des mécanismes d'action, des indications et des profils d'effets secondaires distincts (Douyon, 2024).

### **2.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (ANS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (ANS) constituent une catégorie cruciale de médicaments utilisés pour atténuer la douleur, réduire la fièvre et diminuer l'inflammation. Ce groupe inclut des substances largement répandues comme l'ibuprofène, l'aspirine et le naproxène, qui agissent principalement via l'inhibition des enzymes cyclooxygénases (COX-1 et COX-2). Ces enzymes sont essentielles à la synthèse des prostaglandines, des médiateurs clés impliqués dans les processus inflammatoires. En entravant la production de ces molécules, les ANS permettent de soulager divers états douloureux, allant des maux de tête aux douleurs articulaires liées à l'arthrite (Simpara, 2024).

Cependant, bien que efficaces, les ANS ne sont pas dépourvus d'effets secondaires. Les complications gastro-intestinales, comme les ulcérations et les saignements, sont parmi les risques les plus étudiés, particulièrement avec une utilisation prolongée. De plus, ces médicaments peuvent également influencer la fonction rénale et augmenter le risque de maladies cardiovasculaires. Ainsi, la nécessité d'un usage judicieux et d'une surveillance médicale appropriée est primordiale, surtout pour les populations à risque, telles que les personnes âgées ou celles souffrant de conditions préexistantes (El Chamieh, 2024).

#### **2.4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) sont des médicaments dérivés des corticostéroïdes, hormones produites naturellement par les glandes surrénales. Leur principal mécanisme d'action repose sur la modulation de la réponse immunitaire et l'inhibition de la production de médiateurs inflammatoires, tels que les prostaglandines et les leucotriènes (**Sahli, 2023**). En réduisant l'inflammation, les AIS jouent un rôle essentiel dans le traitement d'un éventail de pathologies, y compris l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, les maladies auto-immunes et certaines affections dermatologiques. Par leur efficacité, ils permettent non seulement de soulager la douleur, mais aussi de prévenir les complications associées à l'inflammation prolongée (**Boungou-Tsona, 2023**).

L'utilisation des AIS, toutefois, doit être soigneusement surveillée en raison de leurs effets secondaires potentiels. Les traitements à long terme peuvent entraîner des complications significatives, telles que l'ostéoporose, l'hypertension artérielle, et une susceptibilité accrue aux infections, du fait de l'immunosuppression induite (**Demont et al., 2023**). De plus, l'arrêt brusque du traitement peut entraîner un phénomène de sevrage, caractérisé par des effets indésirables graves, notamment une crise surrénalienne. Ainsi, bien que les AIS représentent une avancée majeure dans la gestion des pathologies inflammatoires, leur prescription doit se faire en tenant compte d'un équilibre entre les bénéfices cliniques et les risques (**Lallemant-Moe, 2017**).

#### **2.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale**

Les anti-inflammatoires d'origine végétale représentent une catégorie importante et croissante dans le domaine de la pharmacothérapie, offrant des alternatives naturelles aux traitements conventionnels souvent associés à des effets secondaires. De nombreuses plantes ont longtemps été utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés anti-inflammatoires. Des composés bioactifs, tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes et les acides phénoliques, agissent en ciblant différents mécanismes de l'inflammation (**Massei, 2022**). Par exemple, le curcuma, qui contient de la curcumine, est réputé pour sa capacité à inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi à la réduction des douleurs articulaires et des symptômes associés à l'arthrite (**Salah, 2022**).

D'autres plantes telles que le gingembre et la *Boswellia serrata* sont également mises avant pour leurs propriétés anti-inflammatoires. Le gingembre, par exemple, agit en bloquant des enzymes telles que la cyclooxygénase, ce qui diminue l'inflammation et soulage la douleur. La résine de boswellia a démontré une efficacité dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde, grâce à sa capacité à moduler la réponse immunitaire en régulant l'expression des molécules d'adhésion des leucocytes et en réduisant la production de médiateurs pro-inflammatoires (**Barbeau-Grégoire, 2023**) (**Heshelow, 2023**)

### **3. Infection bactériennes**

Les infections bactériennes constituent un défi pour la santé publique mondiale en raison de leur diversité et capacité d'adaptation. Ces microorganismes unicellulaires peuvent provoquer des affections allant de maladies bénignes comme la pharyngite à des infections graves comme la septicémie. Les bactéries pathogènes peuvent entrer dans l'organisme via l'air, la nourriture ou la peau, et se transmettent souvent d'une personne à une autre, d'où l'importance des mesures d'hygiène et de prévention (**Thompson, 2024**).

#### **3.1. Résistance aux antibiotiques**

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques sont complexes et témoignent de la réponse des bactéries face aux antibiotiques. On les classe en deux catégories : les résistances naturelles ou intrinsèques, et les résistances acquises (**Illouz et al., 2021**).

Les résistances naturelles sont inhérentes à l'espèce bactérienne, souvent dues à une structure cellulaire ou un métabolisme spécifique. Par exemple, les mycoplasmes possèdent une imperméabilité naturelle à de nombreux antibiotiques, rendant certaines classes inefficaces. Cela souligne l'importance de comprendre la biologie bactérienne pour le développement des traitements (**Baquer et al., 2021**).

##### **3.1.1. Résistances naturelles ou intrinsèques**

Les résistances naturelles, ou intrinsèques, représentent un aspect fondamental de la biodiversité bactérienne, illustrant comment certaines espèces ont évolué pour survivre malgré la présence d'antibiotiques (**Harris, 2024**). Ces mécanismes de résistance sont souvent le résultat de caractéristiques intrinsèques de l'organisme, telles que la structure de la membrane cellulaire, la présence de pompes à efflux ou l'absence de cibles spécifiques

pour les antibiotiques. Par exemple, les bactéries à Gram négatif disposent d'une membrane externe qui réduit la perméabilité des antibiotiques hydrophiles, tandis que certaines espèces, comme *Staphylococcus saprophyticus*, possèdent des pompes qui expulsent activement ces molécules de l'intérieur de la cellule, limitant ainsi leur efficacité (Ansaldi & Le Marrec, 2025).

### **3.1.2. Résistance acquise**

La résistance acquise aux antibiotiques représente un défi majeur dans le domaine de la santé publique, se caractérisant par l'émergence de souches bactériennes capables de contrecarrer l'effet des médicaments antimicrobiens après une exposition préalable. Contrairement à la résistance naturelle, qui découle des caractéristiques biologiques inhérentes aux pathogènes, la résistance acquise résulte de mécanismes évolutifs adaptés à l'environnement, notamment par le biais de mutations génétiques ou de l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal (Maissa & Roqiya, 2024). Ce phénomène illustre un processus dynamique, où les bactéries, soumises à la pression de sélection exercée par l'utilisation fréquente et parfois inappropriée des antibiotiques, développent des stratégies élaborées pour survivre (DE, 2024).

## **4. Classification des antibiotiques**

La classification des antibiotiques repose sur plusieurs critères, permettant de mieux comprendre leur mode d'action, leur spectre d'activité ainsi que leur utilisation clinique. On peut généralement catégoriser selon leur structure chimique, leur mécanisme d'action et leur spectre d'activité (Diallo, 2024). Les antibiotiques à large spectre, comme les pénicillines ou les céphalosporines, sont capables d'agir contre une vaste gamme de bactéries, tandis que les antibiotiques à spectre étroit, tels que la vancomycine, ciblent des microorganismes spécifiques. Cette distinction est cruciale, car l'utilisation inappropriée d'antibiotiques à large spectre peut engendrer des résistances bactériennes, un problème de santé publique majeur (Amor, 2021).

### **4.1. Modes d'actions**

Les antibiotiques agissent par plusieurs mécanismes spécifiques qui ciblent la biologie des bactéries, entraînant ainsi leur inhibition ou leur destruction. Les modes d'action les plus courants peuvent être regroupés en plusieurs catégories, chacune visant des

composants cellulaires distincts. Parmi les plus répandus, on trouve l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, de la protéine, de l'acide nucléique et de la membrane cellulaire (**Thuillier, 2023**).

L'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, un mécanisme clé de plusieurs antibiotiques comme la pénicilline, agit en empêchant la formation de peptidoglycan, un constituant fondamental de la paroi cellulaire bactérienne. Cette action altère l'intégrité structurelle de la bactérie, la rendant vulnérable aux pressions osmotiques, conduisant à la lyse et à la mort cellulaire (**Martin, 2021**). D'autres inhibiteurs de la synthèse protéique, tels que les aminoglycosides et les tétracyclines, se fixent aux ribosomes bactériens, interrompant ainsi la traduction des protéines essentielles. En bloquant cette étape cruciale de la biosynthèse protéique, ces antibiotiques affectent la croissance et la reproduction des bactéries. (**Adhel, 2023**)

Certains antibiotiques ciblent l'acide nucléique, perturbant la réplication et la transcription. Les fluoroquinolones inhibent des enzymes comme l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, compromettant ainsi l'intégrité de l'ADN bactérien. D'autres, comme la polymyxine, agissent sur la membrane cellulaire, altérant sa perméabilité et provoquant des fuites, inhibant les fonctions vitales de la cellule. Ces modes d'action illustrent la complexité des interactions antibiotiques-bactéries et l'importance d'une utilisation réfléchie pour éviter les résistances (**Peillard, 2024**).

#### **4.2. Mécanismes des résistances aux antibiotiques**

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques sont des adaptations évolutives des microorganismes qui leur permettent de survivre en présence d'agents antimicrobiens. Cette résistance peut résulter de diverses stratégies biologiques, souvent classées en trois grands types : la résistance naturelle, acquise, et la résistance associée à des facteurs environnementaux (**Achour, 2024**). La résistance naturelle, par exemple, découle de l'absence de cibles potentielles pour les antibiotiques dans certaines espèces bactériennes. Cela inclut des organismes comme *Mycobacterium tuberculosis*, qui présente une paroi cellulaire imperméable aux  $\beta$ -lactamines (**Bernard, 2023**).

En revanche, la résistance acquise est souvent due à des mutations génétiques ou à l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal. Ce processus peut impliquer des mécanismes tels que la transformation, la transduction ou la conjugaison, qui facilitent

l'échange d'ADN entre les bactéries (**Blons et al., 2023**). Par exemple, des bactéries comme *Staphylococcus aureus* ont développé des résistances à la méticilline (MRSA) en acquérant des gènes responsables de la synthèse d'une protéine de liaison de la pénicilline modifiée, évitant ainsi l'inhibition par les  $\beta$ -lactamines (**Zongo, 2024**). Les antibiotiques peuvent également entraîner des mécanismes d'expulsion actifs : certains pathogènes, comme *Pseudomonas aeruginosa*, exploitent des pompes à efflux pour expulser les antibiotiques de leur cytoplasme, réduisant de facto leur efficacité (**Richard et al., 2022**).

#### **4.3. Traitement des infections bactériennes**

Lorsqu'un praticien choisit un traitement antibiotique, il doit tenir compte de divers facteurs, notamment le type d'infection, la sensibilité bactérienne aux antibiotiques, ainsi que l'état de santé global du patient (**Madec 2022**). Dans de nombreux cas, un antibiogramme est réalisé pour déterminer le type de bactérie responsable de l'infection et son éventuelle résistance à certains antibiotiques (**Yao et al., 2025**). Toutefois, le concept de « traitement empirique » est fréquemment utilisé, où un antibiotique à large spectre est administré avant d'obtenir les résultats du laboratoire. Ce choix doit être judicieux pour éviter le risque de résistance aux antibiotiques, un problème de santé publique croissant qui menace l'efficacité des traitements existants. (**Diallo, 2024**).

#### **4.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols**

Les polyphénols possèdent des activités antibactériennes significatives et variées, probablement en raison de leurs diversités structurelles. Les emplacements et le nombre de groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être liés à leur toxicité relative envers les microorganismes, avec des preuves indiquant que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a également été rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés, plus ils inhibent les microorganismes (**Scalbert, 1991**). Les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu une attention particulière en raison de leur large spectre et de leur forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols. (**Daglia, 2011**).

Ces composés exercent un rôle inhibiteur, n'agissant pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. Ils sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique (**Ulanowska et al., 2008**). Ils ont la capacité de supprimer plusieurs facteurs de virulence microbienne, tels que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de

l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes, ainsi que leur capacité à établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

#### **4.5. Activités antimicrobiennes des flavonoïdes**

Les flavonoïdes, présents dans de nombreuses plantes médicinales et alimentaires, possèdent une activité antimicrobienne notable grâce à leur capacité à altérer la perméabilité membranaire des bactéries, à inhiber des enzymes clés de la synthèse d'ADN et à prévenir la formation de biofilms. Par exemple, la quercétine a montré des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 25 et 100 µg/mL contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, tandis que la galangine induit une fuite de potassium cellulaire, signe de perturbation membranaire chez des souches résistantes aux quinolones (**Nguyen & Bhattacharya, 2022 ; Zhang et al., 2025**).

### **5. *Punica granatum L.***

#### **5.1. Description et classification botanique**

*Le punica granatum L.*, ou le grenadier son nom est dérivé du latin « *granatum* » qui signifie « fruit à grain » (**Fortin, 1996**). Sont considérée comme un petit arbre ou plus clairement un grand arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux. Il croît majoritairement dans toute la région méditerranéenne, de façon spontanée ou cultivée (**Wald, 2009**).

Les feuilles, ayant un court pétiole, sont entières, placées en opposition et présentent une forme oblongue-elliptique à obovée lisse et brillante (**Godet, 1991**).

Les fleurs hermaphrodites sont terminales, solitaires ou dispersées par paires. Le calice tubuleux est épais, persistant, rouge, pourvu de 5- 6 lobes triangulaires ; la corolle comporte 5 – 7 pétales écarlates et abrite de nombreuses étamines (**Ducourthial, 2003**).

Le péricarpe du fruit est une coque épaisse, de consistance dure, de saveur amère et astringente qui varie selon les cultivars poussant dans différentes régions du monde. Il est très coloré, généralement de teinte brun-rougeâtre (**Chakass et al., 2007**).

**Erken et Kader (2011)**, indiquent qu'il existe plusieurs cultivars exceptionnels avec des écorces de fruits de couleur noire.



**Figure 17 :** Arbre de *punica granatum* (Garnier, 1961).

## 5.2. Classification botanique de *Punica granatum*

*Punica granatum* appartient s à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces (Spichiger, 2004).

La taxonomie de *Punica granatum L* selon Spichige, (2004) est présentée dans le tableau 02

**Tableau 1 :** Classification botanique de *Punica granatum* (Spichiger, 2004).

### Classification 2003

<b>Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Sous-embranchement</b>	Dicotylédones vraies
<b>Classe</b>	Rosidées
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Lythraceae
<b>Genre</b>	<i>Punica</i>
<b>Espèce</b>	<i>Punica granatum</i>

## 5.3. Utilisation traditionnelle

### 5.3.1. Utilisation pharmacologique et impact sur la santé

Depuis des millénaire *punica granatum L*, ses fruits, ses graines ainsi que son écorce, sont utilisées pour ses propriétés médicinales dans plusieurs régions dont il est originaire et son apparition dans la pharmacopée française en 1818, la grenade avait comme premier

usage ou un effet vermifuge pour soigner les affections parasitaires (**Lunsky et Newman,2008**).

La deuxième propriété majeure des écorces de *punica granatum L* exploitées dans la médecine populaire est leur forte astringence, qui en a fait un remède populaire sous la forme d'une décoction (en faisant bouillir des écorces dans l'eau pendant 10 à 40 minutes). Pour traiter la dysenterie, la diarrhée, les aphtes, l'hygiène buccale (**Olapour et Najafzadeh,2010**).

En médecine traditionnelle, elle a été utilisée pour traiter plusieurs maladies. Les graines et les écorces de fruits pour arrêter les saignements, guérir les ulcères (**Bhowik,2013**). Contrôler l'inflammation et traiter les troubles du système digestif et les maladies gastro-intestinales (**Colombo, 2013**).

En plus de ses utilisations traditionnelles historique, *punica granatum L* et ses différent parties ont été utilisée comme médicament dans le domaine pharmaceutique pour traiter plusieurs pathologies. Celles-ci peuvent agir comme antioxydants, antitumoraux, anti-hépatotoxique, (**Lin et al., 2003**).

### **5.3.2. Utilisation agroalimentaire**

Le fruit de *Punica granatum L* est savouré frais, et également consommé sous forme de jus qui est la base pour certaines limonades. Le jus peut être transformé en gelées par addition de pectine et de sucre. Dans l'industrie agro-alimentaire, les écorces de grenade ont été utilisées pour l'enrichissement et la formulation de produits alimentaires tels que les barres de céréales, les boissons, les glaces et les yaourts afin d'améliorer leurs propriétés fonctionnelles (**Elsaid et al.,2014**).

L'addition de l'extrait d'écorce de *punica granatum L* à la viande de poulet a montré une augmentation de la durée de sa conservation de deux à trois semaines pendant un stockage à froid. Ce phénomène est dû à l'activité antimicrobienne contre les *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas* et à l'inhibition de la rancidité oxydative par la capacité antioxydante très efficace (**kanatt et al., 2015**).

### **5.3.3. Utilisation industrielle**

Le grenadier fournit de nombreux principes tinctoriaux, aux couleurs très variée, comme le vert, une large palette de jaunes, des gris, bruns et noire. Les parties utilisées sont

essentiellement l'écorce du fruit, les fleurs, les écorces des racines, des tiges et du tronc. Ces substances colorantes sont utilisées de façon traditionnelle, dans plusieurs pays pour la teinture des tapis, et plus précisément l'écorce et les fleurs qui sont utilisées pour teindre le textile (Wald, 2009).

### 5.3.4. Utilisation de la *Punica granatum L* dans les produits cosmétiques

Actuellement, il existe sur le marché plusieurs produits cosmétiques à base des extraits de *Punica granatum L* (crèmes, soins capillaires, huiles corporelles...). L'application d'extrait d'écorce de *punica granatum L* après la coloration des cheveux tend à améliorer son maintien lors des lavages successifs. La richesse de l'écorce de grenade en tanins, environ 60% de l'extrait, semble être responsable de cette capacité à préserver les couleurs et ainsi éviter l'utilisation fréquente de teintures sur les cheveux (Wald, 2009). Les extraits méthanoliques de *Punica granatum L* aident à la cicatrisation des plaies cutanées car ils sont riches en catéchine et acide gallique, molécules qui pourraient avoir un intérêt dermatologique (Wald, 2009).



**Figure 18 :** Utilisations de *punica granatum* dans les produits cosmétiques (Site web).

### 5.4. Composition Chimique

Les fruits du *punica granatum L* sont de multiples constituants ainsi que ses graines, écorce et jus (Edeas, 2010). De nombreux composés chimiques ont été identifiés dans différents extraits de *Punica granatum L* notamment des polyphénols, des alcaloïdes, des triterpénoïdes, des vitamines et des minéraux (Shaygannia *et al.*, 2016).

Le jus contient une grande quantité de tanins hydrolysables, notamment des ellagitanines, des anthocyanines ainsi que des acides phénoliques. Environ 50 % de poids total de *Punica granatum L* correspond à l'écorce et aux membranes blanches qui sont une source très importante de composés bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanines (**Shaygannia et al., 2016**).

L'écorce de la grenade est riche en tanins hydrolysables, principalement en punicaline, pédunculagine et punicalagine (**Saad, 2013**).

L'huile de pépins de *Punica granatum L* contient principalement des acides gras insaturés, notamment des acides oléiques, linoléiques et en particulier, des niveaux élevés d'acides linoléiques conjugués, également appelés acides trinéoïques. (**Hadjib et al., 2021**).

## **5.5. Les activités biologiques**

### **5.5.1. Activité antioxydant**

Les extraits de fruits de *punica granatum* présentent une activité de piégeage contre les radicaux hydroxyles et les anions superoxydes, qui pourraient être liés aux anthocyanidines (**Guo et al., 2007**).

Des études ont examiné les effets bénéfiques de l'activité antioxydante des grenades *in vivo* et *in vitro* et ont montré que la consommation de jus de *Punica granatum* entraîne une diminution de l'activation du procarcinogène par l'expression du CYP (CYP1A2 et CYP3A), protection de la muqueuse gastrique du rat de la toxicité de l'éthanol ou de l'aspirine, protection du cerveau de rat nouveau-né contre l'hypoxie, inversion des effets proathérogéniques induits par la contrainte de cisaillement perturbée, effets protecteurs contre les ultraviolet A et les ultraviolet B -les dommages cellulaires induits (**Pacheco-Paencia et al., 2008**).

### **5.5.2. Activité anti-inflammatoire**

Selon **wang et al (2014)**, l'extrait aqueux de la grenade (500-1000mg/Kg) inhibe le développement de l'œdème à 4-5 h après le traitement par la carragénine. Pour l'extrait aqueux de *Punica granatum* à la dose 1000 mg/Kg, les niveaux de (v) volume de l'œdème ont été abaissés à 61 % de ceux observés dans le groupe témoin après 5 h de traitement.

Ces données impliquent que l'extrait aqueux de *Punica granatum* peut agir comme un inhibiteur dans les processus inflammatoires aigus *in vivo*.

### **5.5.3. Activité anti-cancéreuse**

Le fruit de *Punica granatum* a des effets inhibiteurs sur différents types de cancers tels que les cancers de la prostate, du sein, du colon et du poumon. Pour cette raison, ces dernières années, *Punica granatum* ont de plus en plus attiré l'attention des chercheurs. Il a été démontré que la grenade module la prolifération et la transformation cellulaire (**Rahimi et al., 2012**).

Également le fruit de la grenade pouvait être employé dans le traitement du cancer de la prostate chez l'homme, parce qu'il pouvait inhiber la croissance cellulaire et induire l'apoptose. Il induit les protéines pro-apoptotiques (Bax et Bak) et conduit à la régulation négative des protéines anti-apoptotiques. (Bcl-xL et Bcl-2). En outre, la présence de NFκB et la viabilité cellulaire des lignées cellulaires du cancer de la prostate ont été inhibées lors de l'utilisation d'extraits de fruit de *Punica granatum*, car elle bloque le NFκB (**Zarfeshany et Asgaru, 2012**).

### **5.5.4. Activité antidiabétique**

La consommation de jus de *Punica granatum* par les patients diabétiques entraîne une diminution de l'absorption par les macrophages de LDL oxydé et une réduction du stress oxydatif sérique. Un niveau d'oxydation inhabituellement élevé qui peut endommager les biomolécules vitales et augmenter ainsi le risque de maladie (**Rosenblat et al., 2006**).

Plusieurs parties de *Punica granatum* ont démontré des effets hypoglycémiantes in vivo. Les extraits méthanoliques de *Punica granatum* contenant 7,5 % d'acide gallique et 54,6 % d'acide ellagique ainsi que d'autres composants mineurs n'ont pas modifié les niveaux d'insuline mais ont abaissé les niveaux de glucose chez des rats sains normoglycémiques (**Parmar et Kar, 2008**). L'administration d'alloxane a augmenté la glycémie et réduit l'insuline sérique. Cependant, l'administration d'alloxane avec l'extrait d'écorce de *Punica granatum* a normalisé ces altérations.

Chez des rats diabétiques de type2 induit par la streptozotocine- nicotinamide, l'administration de L'extrait de *Punica granatum* a considérablement réduit les taux plasmatiques de cholestérol total, de triglycérides et de LDL (Low Density lipoprotéine). Bien qu'une réduction non significative des niveaux de glucose plasmatique ait été trouvée, ce fruit a considérablement amélioré la taille de Langerhans et le nombre d'îlots par rapport aux rats diabétiques. Ces résultats suggèrent que les composés du jus de grenade aux

propriétés anti- oxydantes élevées sont responsables de leurs effets anti-hyperlipidémies et anti-inflammatoire et de leurs effets de restauration sur les ilots de Langerhans endommagées (Taheri Rouhi *et al.*, 2017).

# *Partie expérimentale*

## *Matériel et méthodes*

## **1. Matériels et méthodes**

### **1.1. Matériels**

#### **1.1.1. Réactifs et appareillages**

##### **Réactifs**

DPPH, Méthanol, Ethanol, AlCl<sub>3</sub>, l'eau distillée, FeSO<sub>4</sub>, Salicylate de sodium, Folin, TCA, FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>4</sub>, Hcl, Tris, Blancs d'oeuf, FeCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, Chloroforme, Acide sulfurique, β Corothéne, Tween 80, DMSO, BSA, Acide linoléique, Vitamine C, Aspirine, BHT, Milieux de Muller Hinton, Eau physiologie.

##### **Appareillages**

- Balance, L'étuve, Spectrophotomètre
- UV-Vis à double faisceau, Agitateur, Plaque chauffante, Frigidaire,
- Vortex, Centrifuges, Bain marie, pH mètre, Rote à évaporation

#### **1.1.2. Matériel végétal**

- Dans cette étude la plante utilisée correspond à l'espèce de *punica grantum* L (grenade)
- Les parties utilisées sont l'écorce et les grains.

##### **Matériel Bactérienne**

L'activité antibactérienne d'extrait hydrométhanolique de *punica grantum* L a été testé contre:

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Bacillus cereus*
- *Klebsiella pneumoniae*

## **1.2. Méthodes**

### **1.2.1. Préparation des extraits**

Selon la méthode d'Upson et coll. (2000), 10 g de matières végétales séchées sont placés dans un récipient en verre couvert de 70 mL de méthanol aqueux 70% ou d'acétone aqueux 70% ; le tout est chauffé à 70°C pendant 5 minutes (ce procédé tue le tissu végétal et empêche l'oxydation ou l'hydrolyse enzymatique). L'échantillon est laissé macérer durant 24h, et l'opération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant.

Après filtration des fractions sur du papier filtre, elles sont réunies et évaporées à sec en utilisant un rota vapeur à température 45-50°.

### 1.2.2. Screening phytochimique

Ce test est utilisé pour réaliser une analyse qualitative en se basant sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Des réactifs spécifiques sont utilisés pour détecter la présence ou l'absence de certaines molécules ou groupes de molécules dans un échantillon donné. Les résultats obtenus confirment la présence et/ou l'absence, mais ne permettent pas de quantifier leur concentration (**Boudjema et al.,2021**).

**Tableau 2** : Résumé des tests Screening phytochimique

Groupement chimique	Titre du test	Préparation	Résultats positifs	réf
Polyphenol	Chlorure de fer	2 mL d'extrait + quelque gouttes de FeCl <sub>3</sub> 5 %	Apparition d'une Coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée	(Prakash et al.,2015)
Flavonoïdes	Shinoda (ou cyanidine)	Quelque mL d'extrait + 5 mL (EtOH) + 1 mL de HCl + 5 mg Copeaux de magnésium + attendre 1 ou 2 min	Apparition d'une coloration rouge ou marr	(Gul et al.,2017)
Saponosides	Test de mousse	10 mL d'extrait + 1 mL H <sub>2</sub> O + agitation	Formation d'une mousse persistante	(Sushama Raj ,2017)

Terpènes et Stérols	Test de Salkowski	5 mL extrait + 1 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Apparition d'une Coloration Rouge avec coloration brun rougeâtre à l'interphase (Un anneau rouge brun	<b>(Ganatra &amp; Gurubaxani.,2016).</b>
---------------------	-------------------	--	---	--

**a) Les quinones libres**

A un volume de 1mL de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres **(Oloyede, 2005).**

**b) Les anthraquinones**

On a dissous quelques milligrammes de chaque extrait dans 1 ml du mélange éther de pétrole/chloroforme (1:1, v/v). On a traité la solution obtenue avec 1 ml de soude NaOH (10%). L'apparition de la couleur rouge indique la présence des anthraquinones **(Oloyede, 2005).**

**c) L'amidon**

Principale forme de réserve glucidique des végétaux, il existe sous forme d'une structure correspondante à un homopolymère de D- glucose. Il est caractérisé au moyen du réactif à l'eau iodée par apparition d'une couleur bleu **(Guignard, 1979).**

**1.2.3. Détermination de teneur en polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait **(Mayouf et al., 2019).**

**a) Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ).

En présence d'un phénol, ce réactif est réduit dans un milieu alcalin en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 760 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

**b) Méthode de dosage**

Dans des Tubes à essai 125UL de chaque extrait ou standard dissous dans le méthanol sont mélangés avec 500UL d'eau distillée et 125UL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 min, 125  $\mu$ L  $Na_2CO_3$  2 % et 1000  $\mu$ L eau distillée sont ajoutés à la solution précédente, mélangés et incubés à une température ambiante et à l'obscurité pendant 90 min. lecture de la D.O. à 760nm.

Une courbe d'étalonnage standard a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires avec différentes concentrations (0-800 $\mu$ g/ml) d'acide gallique ainsi que l'acide tannique. La teneur en phénols totaux a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'extrait brut. Les analyses ont été effectuées 3 fois et la valeur moyenne a été calculée.

**1.2.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux**

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux (**Ghedira, 2005**).

**a) Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes, qui donnent une couleur jaunâtre par chélation des métaux (**Mayouf et al., 2019**).

## **b) Méthode de dosage**

Dans des tubes à essais ,1 ml de chaque extrait (préparer avec des dilutions convenables dans le méthanol ou l'eau distillée) a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 60 minutes d'incubation, l'absorbance est effectuée à 415 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine/g d'extrait brut en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires avec différentes concentrations de quercétine (0-800µg/ml). Les analyses ont été effectuées 3 fois et la valeur moyenne a été calculée.

### **1.2.5. Détermination de la teneur en flavonols totaux**

Les flavonols sont mesurés par la méthode du trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> suivant le protocole réalisé par **Kosalec et al., (2004)**.

On met dans un tube à essai, 500 µL de l'extrait, 1500 µL d'éthanol, 100 µL d'AlCl<sub>3</sub>, 100 µL d'acétate de potassium (CH<sub>3</sub>COOK) (1M), 2800 µL d'eau distillée. Le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes.

L'absorbance est lue à 415 nm. La quercitrine est utilisée comme standard. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercitrine par milligramme d'extrait. Les mesures sont réalisées deux fois.

### **1.2.6. Détermination de la teneur des Protéines (méthode kjeldhal)**

Il existe plusieurs méthodes permettant de quantifier les protéines au laboratoire notamment, Les protéines solubles quantifiées par la méthode de Bradford (**Bradford,1976**) et les protéines hydrosolubles quantifiées par la méthode décrite par Ammar et al. (**Ammar,1995**), qui font appel aux spectrophotomètres.

La technique de kjeldhal consiste au laboratoire, par un mode opératoire strict et rigoureux qui consiste en une succession d'étapes : On débute par peser 1 g de l'échantillon que l'on met dans les tubes de digestion. Auquel on ajoute 7 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, et 0,8 g de CuSO<sub>4</sub> puis 12 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, On place le portoir dans le système de digestion et on règle l'aspirateur d'eau, ensuite on charge le portoir dans le bloc de digestion préchauffé à 420 C°, jusqu'à ce que tous les échantillons soient clairs avec une solution bleue / verte.

On retire les tubes et on les laisse refroidir pendant 10-20 min afin de passer à l'étape de distillation. On ajoute soigneusement 80 ml d'eau désionisée dans les tubes et 25-30 ml de solution réceptrice. Les tubes de digestion sont dans l'unité de distillation et on distribue 50 ml de NAOH à 40 % dans le tube, puis on titre le distillat avec HCL normalisé (habituellement 0,1 N ou 0,2 N) jusqu'à atteindre le point final bleu / gris. On note le volume d'acide consommé lors du titrage.

$$\% \text{ de protéine} = N * F$$

- N= Volume titré
- F= Facteur de conversion de l'azote en protéine selon la nature du produit

### 1.2.7. Dosage des glucides (méthode Dubois)

Les glucides totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (**Dubois et al.,1956**). Elle consiste à additionner 3 ml d'éthanol à 80 % à 100mg de matière végétale fraîche. Le mélange est mis à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, l'éthanol est évaporé par passage à l'étuve à 80°C. L'extrait obtenu est additionné à 10 ml d'eau distillée. Une prise d'essai de 0,5 ml de la solution analyser est mélangée à 0,5ml de phénol 5%. a laquelle on ajoute rapidement 2.5ml d'acides sulfurique concentré 96%, on remarque que le mélange vire à la couleur jaune orange. Après homogénéisation au vortex, l'échantillon est placé au bain-marie pendant 10 à 20min à une température de 30°C. La couleur de la solution est stable pendant plusieurs heures. L'absorbance est lu à 485nm. Les valeurs obtenues sont reportées sur la gamme étalon, à l'aide de l'équation suivante :  $Y=4,3918X-0,1946$ , avec :  $Y$  : étant l'absorbance.  $X$  : étant la quantité des sucres totaux exprimée en mg/g.m.f. Au laboratoire.

### 1.2.8. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

#### a) Test de l'effet scavenger du radical DPPH

L'effet scavenger du radical DPPH (2,2 diphényl -1- picryl hydrazine) est déterminé selon la méthode de Que *et al.* (2006). En présence des antioxydants, le radical libre DPPH est réduit en acceptant un hydrogène ou un électron, le degré de décoloration de la solution violette du DPPH reflète le potentiel de piégeage de l'extrait (**Nic'Iforovic et al., 2010**). (**Mayouf et al., 2019**).

Le milieu réactionnel pour ce test est composé de 1 ml de chaque échantillon à différentes concentrations et 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (0.01 M). Les mélanges sont incubés pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'hydroxytoluène butylé (BHT) est utilisé comme contrôle positif. La capacité antiradicalaire est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

La concentration inhibitrice de 50% (CI50) du DPPH et exprimée en µg/ml.

### b) Effet scavenger du radical OH·

La capacité de piégeage des radicaux hydroxyles (OH·-) est mesurée selon la méthode décrite par Ates *et al.*, (2008). Le mélange réactionnel (3 ml) est composé d'un ml de FeSo4 (1.5mM), 0.7 ml de H2O2 (6 mM), 0.3 ml de salicylate de sodium (20 mM) et de différentes concentrations d'extrait ou d'antioxydant standard (BHA). Après une heure d'incubation à 37°C, l'absorbance est mesurée à 562 nm. L'effet scavenger du radical OH·- est déterminé selon l'équation :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Contrôle}] \times 100.$$

### 1.2.9. Test de blanchissement du β-carotène/ acide linoléique

Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique, selon la méthode décrite par Miraliakbari et Shahidi (2008). L'émulsion de β-carotène/acide linoléique est préparée par solubilisation de 0,5 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme, 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de tween 40. Ensuite, le chloroforme est complètement évaporé à 45°C au rotavapeur, avant d'ajouter 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène. 500 µl de la solution d'extrait ou BHT solubilisé dans du méthanol (2 mg/ml) sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion. Pour le contrôle négatif l'échantillon est remplacé par 500 µl de méthanol.

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence des échantillons est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 2 heures. La capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

## 2. Méthode d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

## 2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation de l'albumine de l'oeuf

### a) Préparation de réactifs à 0,5 % d'albumine d'oeuf :

- 50 mg d'albumine d'oeuf dissous dans 10 ml d'eau.

### b) Méthode

- **La solution d'extrait** : est constituée de 450 µl d'albumine d'oeuf (0,5% solution aqueuse), et 50 µL de solution d'extrait dissoudre dans le DMSO et diluée avec de l'eau distillée à différentes concentrations.
- **La solution de contrôle** : est constituée de 450 µl d'albumine d'oeuf (solution aqueuse à 0,5 %) et 50µl d'eau distillée.
- **Le contrôle du produit** : comprend 450 µl d'eau distillée et 50µl de solution d'extrait à différentes concentrations étaient prises respectivement.
- **Solution standard** : composée de 450 µl d'albumine d'oeuf 0,5 %, et 50 µl de diverses concentrations de diclofénac. Ce dernier a été utilisé comme médicament de référence

Les échantillons sont incubés à 37°C pendant 20 min, ensuite à température de 70°C pendant 15 min. Après refroidissement, 2,5 ml de tampon phosphate sont ajoutés aux solutions ci-dessus. L'absorbance est mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (type SHIMADZU) à 660 nm. Le contrôle représente 100% de la dénaturation des protéines. L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante :

- **Inhibition (%)** =  $[(\text{Abs de contrôle} - \text{Abs de l'extrait}) / \text{Abs de contrôle}] \times 100$
- **Abs** : Absorbance La moyenne retenue est obtenue sur trois répétitions.

## 3. L'inhibition de la dénaturation de BSA

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation et conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité antiinflammatoire (Osman *et al.*, 2016 ; Rahman *et al.*, 2015).

**a) Principe**

- Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH 6,6.
- Préparation des Différentes concentrations de l'extrait de plante à partir d'une solution mère de 10 000 ppm.
- Préparation du standard (ASPIRINE).

**b) Préparation des blancs**

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-HCl (0,05 M à pH 6,6) est préparé Ce blanc a pour but de oustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-HCl des résultats obtenus.

Préparation de la solution BSA 0,2%.

**c) Mode opératoire**

Pour d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, une gamme de concentrations de chaque extrait végétal, allant de 0 à 10 mg/ml, est réalisée. 1ml de chaque dilution est ajouté à 1 ml de la solution de BSA à 0,2 % préparée dans le Tris-HCl (0,05 M à pH 6,6). Le mélange est ensuite incubé à 37 C ° pendant 15 min puis à 72°C pendant 5 min. A la fin de l'incubation, et après l'avoir vortexé, le mélange est refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- Dans ce test, LASPIRINE a été utilisée comme anti-inflammatoire de référence.
- L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux échantillons.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{[DO \textit{Control} - DO \textit{blanc}] - (DO \textit{échantillon} - DO \textit{blanc})}{(DO \textit{controle} - DO \textit{blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA.
- **DO Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).
- **DO Contrôle** : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA.

### **3. Activité antioxydante totale (CAT)**

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  au molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo (V) à pH acide. L'absorbance du milieu est déterminée à 695 nm.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

### **4. Activité antibactérienne**

#### **4.1. Matériel et équipement**

- Hotte microbiologique.
- Bain Marie.
- Etuve.
- Bec Bunsen.
- Gélose Mueller Hinton.
- Boîtes de Pétri.
- Micropipettes.
- Embouts.
- Ecouillons.
- Micro-filtres.
- Disques stériles
- Pinces stériles.
- Souches bactériennes *Escherichia coli*, *Bacillus creuss.* *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

## **4.2. Méthode de diffusion**

### **4.2.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé**

#### **a) Mode opératoire**

##### **Stérilisation du matériel**

Le matériel nécessaire pour l'activité bactérienne, y compris les disques en papier Whatman, les embouts jaunes et bleus, ainsi que les tubes Eppendorf et tubes à essai, est stérilisé en autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

Les étapes suivantes sont réalisées sous une hotte microbiologique et devant un bec Bunsen afin de prévenir toute contamination

#### **b) Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture est préparé en faisant bouillir la gélose Muller Hinton jusqu'à sa dissolution complète dans un bain-marie à 95°C. Ensuite, le milieu est coulé dans des boîtes de Petri stériles et laissé à refroidir pour qu'il solidifie

#### **c) Préparation des extraits et séries de dilutions**

Une série de dilutions est réalisée à partir d'une solution mère allant de 200 mg/ml, 150 mg/ml et 100 mg/ml jusqu'à 1/64 dans du DMSO. Ces solutions sont ensuite filtrées à travers des microfiltres de 0,22 µm.

#### **d) Préparation et standardisation de l'inoculum**

Les quatre souches bactériennes sont mises en culture dans du bouillon nutritif et incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'inoculum est préparé à partir de cette suspension dans de l'eau physiologique stérile pour atteindre une densité équivalente à 0,5 McFarland.

#### **e) Ensemencement et dépôt des disques**

Pour l'ensemencement, les suspensions bactériennes sont étalées à la surface de la gélose M.H. par écouvillonnage. Ensuite, les disques imbibés de différentes concentrations d'extraits et de DMSO (contrôle négatif) sont déposés à l'aide d'une pince stérile, délicatement sur la surface de la gélose inoculée. Les boîtes de Petri sont ensuite placées au réfrigérateur

**f) Incubation et lecture**

Enfin, les boîtes de Petri sont incubées pendant 24 à 48 heures à 37°C. Après l'incubation, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques de test sont mesurées à l'aide d'une règle. (**Biondi *et al.*,1993**).

**5. Analyse statistique**

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD, tandis que. Les résultats sont représentés sous la forme de moyenne  $\pm$  écart type. En utilisant le logiciel de Graph Pad. Prism.V5.00. La différence est considérée statistiquement significative au seuil de 5%( $P<0.05$ ).

# *Résultats et discussion*

## 1. Résultats et discussions

### 1.1 Screening phytochimique

Le screening phytochimique a permis de nous renseigner sur les familles chimiques produites par le fruit *punica grunatum*. Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Composition phytochimique de *punica grunatum*L.

Composants	RM
Polyphénol	+
Flavonoïde	+
Tannin	+
Terpénoïde	+
Saponoside	+
Quinone	+++
Anthraquinone	+
Amidon	+

+ Présence / - Absent

Notre étude montre que l'EHM contienne aussi bien, des flavonoïdes, des tanins, polyphénols, des anthraquinone et d'amidon, que les terpénoïdes et les saponosides.

La présence de l'amidon dans l'extrait a été confirmé par la coloration vert bleu, et une coloration vert foncé a été observé lors de test de présence des tanins. Les polyphénols et les flavonoïdes sont faiblement présents dans l'extrait.

Ces résultats sont en accord avec ceux établis par **Benmehdi et al, (2011)** ; cependant, ces derniers notent aussi la présence : de stéroïdes, de terpénoïdes et d'anthraquinones.

### 1.2. Teneur des poly phénols, flavonoïdes, flavonols

Les Poly phénols possèdent des propriétés médicinales et ont déjà été utilisés autres fois par la pharmacopée traditionnelle asiatique ; tel que les activités anti-inflammatoire, anti allergique, hépato protectrice, anti thrombotique, anti cancérigène et antivirale, mais la propriété la plus marquante est l'activité antioxydants due à leur haute réactivité, piégeant les radicaux libres, tel que les radicaux hydroxyles (OH), les radicaux peroxylipidiques et

les super oxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Les flavonoïdes ont la capacité d'inhiber certaines enzymes dont l'ARN polymérase, ADN synthétase, les hydrolases et certaines enzymes impliquées dans le stress oxydant.

La teneur en poly phénols totaux, flavonoïdes, flavonols, d'extrait hydro éthanolique de *Punicagranatum L.* est déterminée en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 4 :** Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols

	EXTRAIT HYDROMETHANOLIQUE		
	Polyphenols	Flavonoïde	Flavonol
EHM	116.22±0.0036	3.98±0.008	8.54±0.044

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *punicagranatum L.* est plus riche en polyphénols, puis flavonol et flavonoïdes respectivement (116.22±0,0036 ; 8.54±0,044 ; 3.98 ±0,008 mg/g d'extrait). Le taux de polyphénols présent dans nos fractions est très important, ceci serait peut-être utile pour envisager l'étude des activités biologiques.

L'extrait aqueux de l'écorce de grenade est caractérisé par un pouvoir antioxydant. Dans le jus de grenade, les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydant du jus de grenade et sont concentrés dans l'écorce, les membranes et les moelles du fruit (Seerametal.,2004).

En 1996, les travaux antérieurs de Ben Nasr ont révélé que les polyphénols totaux dans l'extrait d'écorce de la grenade est égale à 216,9 ± 7.3 (mg GAE/g). Cette teneur élevée est due à la contenance des écorces d'une quantité importante de polyphénols tels que l'acide ellagique, les ellagitanins et les acides galliques (Nasr et al., 1996). Les travaux de Li en (2006) montrent que la fraction d'écorce de la grenade a une teneur en phénols totaux de l'ordre de 249,4 mg / g et qui est plus élevée que la fraction de pulpe (Li et al., 2006).

La différence de la teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols, et tannins peut être s'expliquer par un certain nombre de paramètres influençant l'extraction de ces composés tels que : la nature chimique des composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension

des particules d'échantillon et temps d'extraction (Nacz et Shahidi, 2006). La grenade contient certaines espèces de flavonoïdes et d'anthocyanidines (delphinidine, cyanure et pèlargonidine) dans son huile de graines et son jus (Seeram et al., 2007) et présente une activité antioxydante trois fois supérieure à celle de l'extrait de thé vert (Okamoto et al.,2004).

### 1.3. Détermination de la teneur des Protéines et des sucres

Les résultats donnés montrent que l'extrait de *punicagranatum l.* est plus riche en sucresque les protéines Globalement, le pourcentage de protéines totales dans le jus de grenade est faible (1 à 1,1 %). Cependant le pourcentage de protéines totales dans la graine de grenade varie de 4,1 à 16,4 %, ce qui est assez large (Bar-Ya'akovet al., 2019).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5 : Détermination de la teneur des Protéines et des sucres**

EHM		
EHM	PROTEIENS	SUCRES
	7.767+-0.0035	2009.24-+0.47

Elfalleh et al (2011) ont déterminé la teneur de protéines dans les graines de deux cultivars de grenade commerciaux tunisiens. La teneur de protéines de stockage des graines était de 167,8 8, 9mg/g de poids sec, ce qui présente 16,9 % du poids sec de graines. Les teneurs moyennes en proteines des jus se situent entre 1,49 'Djeibi'et8,51 g/L'Dwarf Semi Evergreen'. Dans une autre et d'élaborée par Al-Maiman and Ahmad (2002), cette teneur est de 1,05%. Ils ont montré aussi un faible changement de protéines contenant dans le jus autours de la maturation et qui passe de 0.97 à 1.03. Le changement de la composition en protéines au cours de la maturation est deja signale dans d'autres fruits (Al Khalifa and Dilshad, 1998).

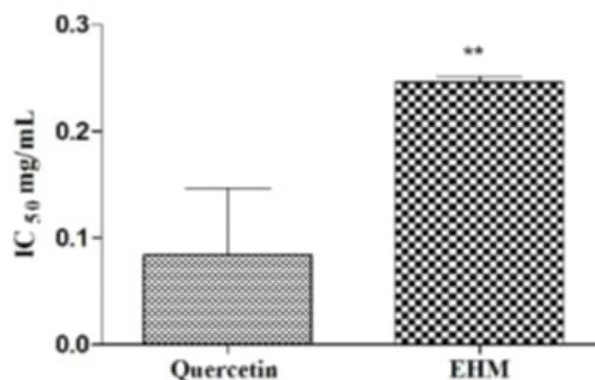
Selon les autres études on conclure que l'extrait de *Punicagranatum L* et contient un quantiste important en sucres et importants en protéine Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro La dénaturation des protéines est l'une des causes bien documentées de l'inflammation et conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Osman et al.,2016 ; Rahman et al., 2015).

#### 1.4 Evaluation de l'activité antioxydante in vitro

L'activité antioxydante se manifeste par diverses actions, telles que le transfert d'un hydrogène, la chélation des métaux de transition, l'inhibition des enzymes d'oxydation ou la détoxification enzymatique des ROS. Les activités antioxydantes devraient être évaluées par différentes méthodes afin de caractériser le potentiel antioxydant des extraits (Prior *et al.*, 2005 ; Popovici *et al.*, 2009). Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, plusieurs méthodes in vitro (test de DPPH, test de radical hydroxyle, test du  $\beta$ -carotène et TAC) ont été réalisées pour évaluer l'effet antioxydant de l'extrait hydro éthanolique.

##### 1.4.1 Le test de DPPH

Les résultats sont exprimés en concentration inhibitrice à 50% ( $IC_{50}$ ) illustrent dans la figure 21



**Figure 19 :** Activité antioxydants de l'extrait hydromethalique de *punica granatum* et quercetine vis-à vis du radical DPPH  $P^{**}<0,01$ .

Selon ces résultats obtenus ont remarquent que l'extrait EHM représente une activité antioxydante significative avec une valeur d' $IC_{50}$  de  $(0,25 \pm 0,005)$  en raison de la présence de polyphénols et flavonoïdes.

En effet, ces résultats divergent de ceux obtenus par Belhaoues, (2018). Ce dernier a réalisé une expérimentation sur l'évaluation du profil antioxydant de l'extrait hydrométhanolique de *Chamaerops humilis L*, qui présente un pouvoir anti oxydant avec

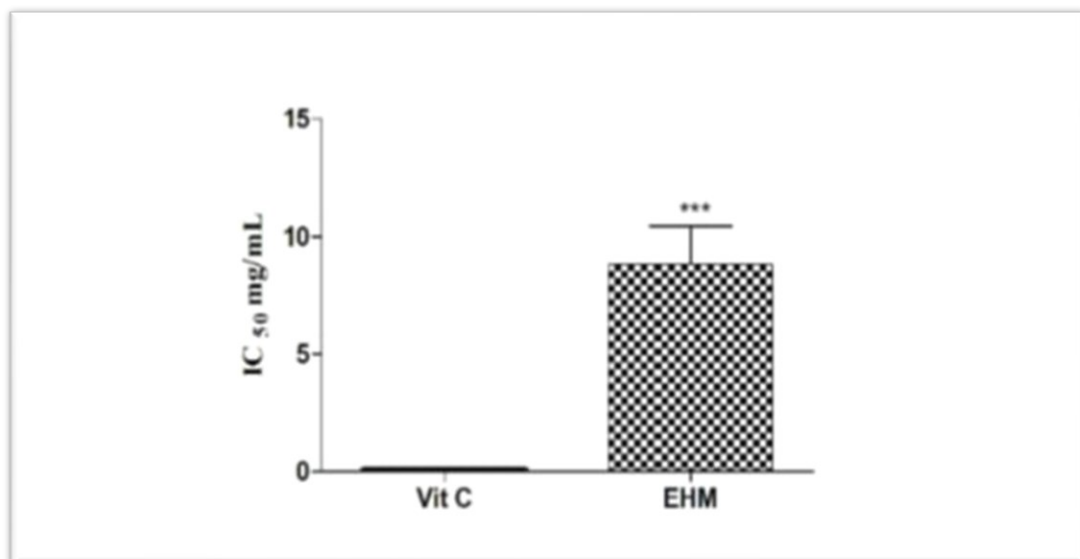
une valeur d'IC de 12,41  $\mu\text{g/mL}$ . Cette différence peut s'expliquer par l'usage d'une plante non identique à celle de notre plante, également dans la méthode d'extraction telle que la macération ou bien les solvant d'extraction tel que l'acétone.

Negi et Jayaprakasha, (2003), ont rapporté que l'extrait d'écorces de la grenade présent une forte activité antioxydante dans le test de DPPH. Aussi, Madrigal-Carballo *et al.*, (2009), ont suggéré que les composés phénoliques de la *punica granatum* prouvent une réaction redox étant donné que les groupes hydroxyles des molécules phénoliques fournissent de l'hydrogène aux agents réducteurs.

Amarrowicz *et al.*, (2004), affirment que l'activité antioxydante des composés phénoliques est due à son habileté pour attraper les radicaux libres.

#### 1.4.2. Le test du piégeage du radical hydroxyle

L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de *punica granatum* par la méthode du piégeage du radical libre hydroxyle  $\text{OH}\cdot$ , a été évaluée dans les mêmes conditions que celle d'antioxydant standard (Vitamine C). Les résultats sont exprimés en concentration inhibitrice à 50% (IC<sub>50</sub>). Voir Figure 22.



**Figure 20 :** Activité anti-radicalaire de l'extrait hydrométhanolique de *punica granatum* et vitamine C vis-à-vis du radical hydroxyle.  $P^{***} < 0.001$ .

D'après ces résultats on remarque que l'extrait EHM représente une activité antioxydant très significative par rapport au vitamine C avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de (8.83  $\pm$  1.62) mg/mL

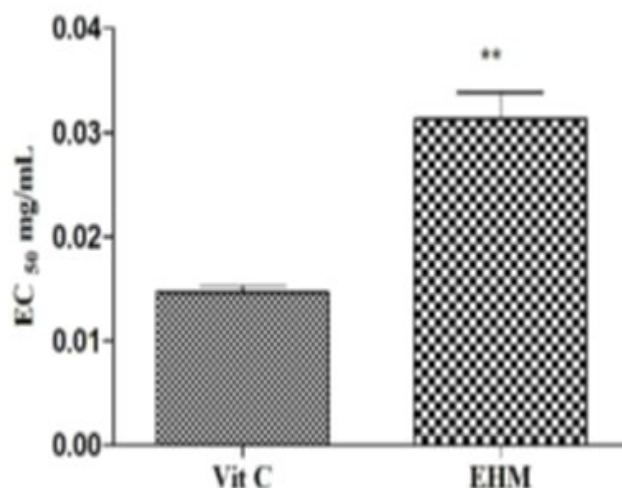
Toutefois, ce pouvoir est largement supérieur à celui constaté avec vitamine C. Donc l'EHM a le pouvoir de neutraliser ce radical très réactif, impliqué dans le stress oxydatif.

Les antioxydants peuvent réduire les radicaux libres par deux mécanismes majeurs : par transfert d'électron ou par transfert d'atome d'hydrogène. La méthode DPPH joue sur le transfert d'un atome d'hydrogène (Belhaoues,2018), les anthocyanidines et les flavonoïdes présente une activité de piégeage contre les radicaux hydroxyles et les anions superoxydes (Guo *et al.*, 2007). En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, on peut conclure que l'extrait hydro methanolique de *punica grunatum L*, possèdent un pouvoir antioxydant très important.

Miguel *et al*, (2014) dans leur 'évaluation, à l'aide de la méthode DPPH, de l'activité antioxydante de 11 plantes médicinales du Maroc notent que l'extrait des feuilles de *C. humilis* présente la plus forte activité antioxydante ( $IC_{50} = 0,035\text{mg/mL}$ ).

### 1.4.2. Teste de total anti oxydant capacité (TAC)

Cette méthode a utilisé pour évaluer la capacité globale de notre extrait à neutraliser les radicaux libres ou à prévenir l'oxydation. Les résultats sont exprimés en concentration inhibitrice à 50% ( $IC_{50}$ ).



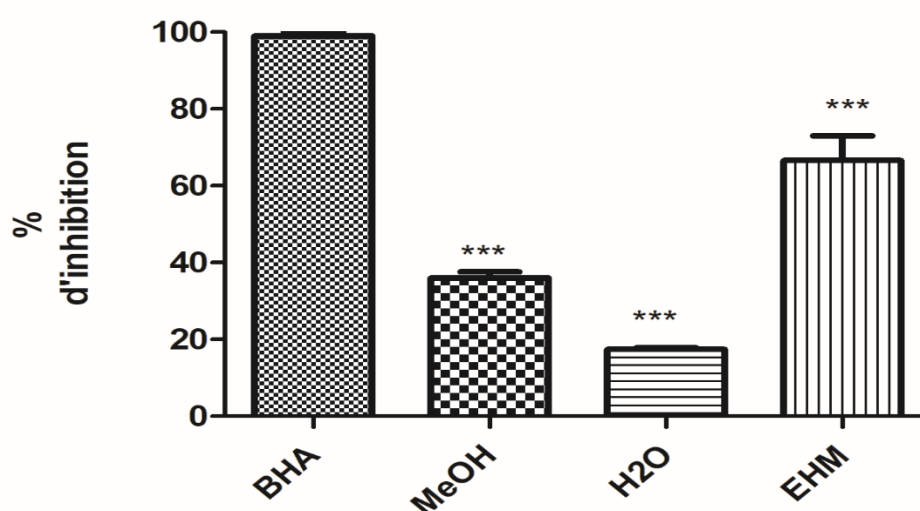
**Figure 21 :** Activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux de *punica grunatum L*. et vitamine C vis-à-vis du TAC. P \*\*< 0.01.

Selon les résultats obtenus, on remarque que notre extrait possède une activité antioxydant significative, cela pourrait être expliqué par les teneurs considérables en composés phénoliques dans l'extrait hydro methanolique de *punica grunatum L*. Ces

résultats montrent qu'il existe une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la capacité antioxydante de l'extrait EHM (Ouerfelli *et al.*, 2017).

#### 1.4.4. Teste de B-carotène

Dans ce test, la capacité antioxydante d'extrait hydrométanolique est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$  carotène (disparition de sa couleur) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Aslan et ses collaborateurs (2006).



**Figure 22:** Activité antioxydante de l'extrait hydrométanolique de *punica grunatum L.* rapport au BHA, MeOH et H<sub>2</sub>O par le test de  $\beta$ -carotène / acide linoléique. P\*\*\*<0.001; p\*\*\*<0,001.

D'après les résultats, le BHA et l'extrait brut testé inhibent d'une manière significative ( $p \leq 0.001$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$  carotène par rapport au blanc au temps 0 qui représente 0 % de la peroxydation. Selon Liyana-Pathriana (2006), un extrait qui inhibe ou retarde le blanchissement du  $\beta$  carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire.

Les résultats obtenus montrent que l'EHM exerce un très bon effet de pourcentage 70% sur la peroxydation lipidique. En effet, le blanchissement du  $\beta$ -carotène a été ralenti fortement en présence dans l'extrait. Ces résultats suggèrent que l'extrait de curcuma a une capacité considérable de réagir avec les radicaux libres pour la transformation en espèces non réactives et interrompre la chaîne de réactions radicalaires.

L'activité antioxydante enregistré de EHM est en corrélation avec son teneur élevé en composés phénoliques, ce qui est en accord avec les résultats trouvés par **Baghiani et ses collaborateurs (2010)** et **Boumerfeg et ses collaborateurs (2012)** plus la teneur en polyphénols est élevée, plus l'activité antioxydante est élevée.

## 1.5. Evaluions d'activité antiinflammatoire

### 1.5.1 La méthode de dénaturation d'albumine d'œuf

Pour l'activité anti-inflammatoire in vitro, par la méthode de dénaturation d'albumine d'œuf, de l'extrait aqueux de punica à la concentration de 60 mg/mL était de 84.56 %, alors que l'aspirine présentait un pourcentage d'inhibition de 82.83% à une concentration de 20mg/ml.

**Tableau 6 :** Inhibition de la dénaturation (%) de l'activité anti-inflammatoire in vitro par différentes concentrations d'extrait aqueux par la méthode de dénaturation de l'albumine d'oeuf.

Traitements	Concentration (mg/mL)	Inhibition de la dénaturation (%)
<b>Contrôle Négative</b>	/	00
<b>Extrait hydro mehanolique</b>	60	84,5605094 ± 3.74
	55	77,98 ± 2.56
	50	72,42± 1.74
	45	75,23± 0.53
	40	71,51 ± 1.99
	35	68,73± 1.25
	30	67,28± 1.19
	25	64,48± 1.84
	20	63,16± 10.59
	10	55,74± 2.01
<b>Contrôle positive : Aspirine</b>	5	49,68± 3.79
	20	82,83 ± 0,304
	10	90,04 ± 0,255
	5	92 ± 0,301
	2	93,50 ± 0,303

L'activité anti-inflammatoire in vitro, par la méthode de dénaturation d'albumine d'oeuf, de l'extrait *hydromethanolique* de *Punica* à la concentration de 60 mg/mL était de 84.56 %, alors que l'aspirine présentait un pourcentage d'inhibition de 82.83% à une concentration de 20mg/ml. Nos résultats ont clairement démontré que l'extrait hydromethanolique de *punicagrantum L.* présente une activité anti inflammatoire très importante lorsque la concentration est égale 60mg/l par contre l'extrait donne une activité anti-inflammatoire importante lorsque la concentration varie entre 40 et 55mg/ml. A faible concentration par exemple l'extrait ne donne pas un effet anti-inflammatoire. Donc il y a une relation proportionnelle entre la concentration et l'activité anti-inflammatoire (Nazck & Shahidi., 2006).

### 1.5.2. La méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine

Dans notre étude, l'action anti-inflammatoire de l'extrait a été évaluée in vitro par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA)

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 7 :** Effet de l'extrait hydro méthanolique sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine

	Concentration	% d'inhibition
<b>Contrôle</b>	----	100
<b>EHM</b>	18 mg/mL	73.18 ± 3.87 <sup>ns</sup>
	10 mg/mL	77.02 ± 0.49 <sup>ns</sup>
	4 mg/mL	79.70 ± 1.32 <sup>ns</sup>
	2 mg/mL	80.28 ± 0.90 <sup>ns</sup>
	1 mg/mL	82.67 ± 2.97 <sup>ns</sup>
<b>Aspirine</b>	10 mg/mL	77.06 ± 0.49
	4mg/mL	79.70 ± 1.32
	2 Traitements mg/mL	80.28 ± 0.90
	1 mg/mL	81.51 ± 1.81

Selon le tableau suivant les résultats montrent qu'à faible concentration (1mg/ml) l'extrait donne une activité anti-inflammatoire très importante tandis qu'à une concentration plus forte donne un effet important. Donc il y a une relation inversement proportionnelle la concentration. D'après les résultats obtenus, on peut suggérer que l'extrait a une activité protectrice très importante, où le meilleur taux de protection est (82.67) à la concentration minimale utilisée (1mg/ml). En parallèle de l'aspirine a été utilisée comme standard pour

comparer son activité anti-inflammatoire à notre extrait. Il a été trouvé un pourcentage de protection de (81.51) à la concentration minimale (1mg/mL) donc on conclure que *punicagrantum* posséd d'un effet protecteur proche de l'aspirine L'extrait de l'écorce de grenade possède aussi des propriétés anti-inflammatoire et anti ulcérrogénique (**Ghazalehetal.,2013**).

**LEE et al (2010)** ont analysé quatre tanins hydrosolubles, dont la punicalagine et la punicaline, toutes isolées de la grenade. Chacun de ces composés, à différentes doses, produit une inhibition spécifique de la production de monoxyde d'azote. De plus, **Larrosaet al. (2010)** ont démontré que l'activité anti- inflammatoire de la grenade et due également à la présence d'acide ellagique qui contribue à la diminution des niveaux de prostaglandines

### 1.6. L'activité anti bactérienne *in vitro*

La microbiologie prévisionnelle est un outil qui permet de prévoir, par des modèles mathématiques, l'impact de différentes conditions environnementales, de température, de pH, d'activité de l'eau (**Augustin et al., 2005 ; Membre et al., 2005**), de concentration en acides organiques et en inhibiteurs et de leurs interactions éventuelles sur la croissance, l'inactivation ou la survie des microorganismes (**Buchanan and Whiting, 1996**). Des modèles spécifiques ont ainsi été développés pour prévoir d'une part la croissance microbienne, et d'autre part la décroissance ou l'inactivation, et ce pour le germe pathogène ou pour les germes d'altération (**Koutsoumanis, 2009**).

#### 1.6.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Punica grantum* L. a été testée vis-à-vis cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus Creus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) à partir la méthode de diffusion sur disques En 1940, la technique de diffusion sur disque de gélose a été mise au point afin de tester l'efficacité antimicrobienne des extraits de plantes.

L'objectif est d'utiliser des disques de papier stérilisés de 6 mm, remplis de l'extrait végétal désiré, puis déposés sur une surface d'un milieu gélose approprié, comme Mueller Hinton. Le standard d'inoculum est de  $1 \times 10^8$  UFC/ml de bactéries, ce qui correspond à la norme de turbidité de 0,5 McFarland. Le délai de séchage du disque de papier imprimé peut varier, les chercheurs le séchant pendant 2 heures à une nuit dans une chambre à flux laminaire. Ensuite, les plaques sont placées en incubation à une température de 37°C

(bactéries) et 25°C (champignons) pendant 24 heures et 48 heures. Une fois l'incubation terminée, on mesure le diamètre de la zone au millimètre près où l'on observe une diminution significative de 80% de la croissance (**Das et al., 2010**).

Les résultats sont interprétés selon quatre niveaux d'activité (**Bouharb et al., 2014**) :

- $D < 8$  mm : bactérie non sensible ;
- $9 < D < 14$  mm : bactérie sensible ;
- $15 < D < 19$  mm : bactérie très sensible ;
- $D > 20$  mm : bactérie extrêmement sensible.

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par l'extrait hydro méthanolique de sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 8** : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro méthanolique de *Punica grantum L*

Diamètre de zones d'inhibition en mm				
Gram	Souche bactérienne	Dilution d'EAC par DMSO (mg / mL)		
		25	50	100
Positif	<i>Bacillus Creus</i>	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
Négatif	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-
	<i>Klebsiellapneumoniae</i>	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	12	-

Daprès le tableau au-dessus on a trouvé que l'extrait hydrométhanolique de *punica grantum* possède une activités antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa* dont la zone d'Inhibition est de 9-12 mm.

Les polyphenols de grenade ont des effets antiviraux et antimicrobiens intéressants. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entree du HIV-1 qui peuvent etre isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains recepteurs cellulaires (**Neurath et al., 2004**).

**Prashanth et al. (2001)** ont étudié, *in vitro*, l'action de différents extraits d'écorce de grenade (pericarpe) sur 5 espèces bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*. Les extraits d'écorce de grenade employés sont obtenus à partir de solvants différents, permettant d'isoler les divers principes actifs de ce fruit. Ainsi, en utilisant comme solvant l'eau à température ambiante. Il y aura isolement des tanins et d'autres composés phénoliques, tandis qu'avec le méthanol, des tanins et des alcaloïdes sont extraits. Toutefois, le chloroforme permet d'extraire les alcaloïdes et enfin avec l'éther de pétrole, des stéroïdes. Les résultats de cette étude ont montré que tous les extraits testés présentent une activité antibactérienne, quelle que soit l'espèce bactérienne cultivée. Néanmoins, l'extrait méthanolique semble posséder une activité antibactérienne plus importante que les autres extraits, essentiellement sur *S. aureus*, *P. vulgaris* et *B. subtilis*.

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède, *in vitro*, une activité antimicrobienne remarquable sur des souches pathogènes tel *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, et aussi *Candida albicans* et *Penicillium expansum*. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, expliquent probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et en alcaloïdes (**Prashanth, 2001**).

D'après **Lairini et al (2014)**, l'extrait aqueux de la grenade a un effet antimicrobien sur les bactéries. Les bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) sont les plus susceptibles en comparaison avec les bactéries Gram- (*Escherichia coli*) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram+ et les bactéries Gram-.

**Reddy et al. (2007)** ont démontré que différents extraits de grenade dans différents solvants présentent une activité antimicrobienne significative contre *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *S. aureus*. De plus **Al-Zoreky (2009)** a démontré que les extraits de l'écorce de grenade constituent un puissant inhibiteur de la croissance de *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* et *Yersinia enterocolitica*.

D'après les résultats des différentes études que nous avons trouvées et avec notre étude nous concluons que *Punica granatum L* possède une activité antimicrobienne quel que soit la structure de la bactérie (gram + ou gram-) ou la partie utilisée (grains écorce). En fin on peut dire que notre étude est similaire à celle **Reddy et al. (2007)**.

*Conclusion et  
perspective*

## Conclusion

---

---

### Conclusion et perspectives

Notre étude s'est focalisée sur la composition qualitative et quantitative en composés phénoliques d'un fruit de *punica grunatum*. L. utilisé dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies et en particulier les spasmes et les troubles gastro-intestinaux.

L'objectif du présent travail à portée sur l'évaluation de l'activité antioxydant, anti inflammatoire, antibactérienne et anticoagulante de l'extrait hydrométhanolique de *punica grunatum* L.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante effectuée à partir des quatre tests DPPH, radical hydroxyle, TAC et B-carotène, effectuée à partir de l'extrait hydrométhanolique obtenu à partir de notre fruit, a montré une bonne activité antioxydante ceci est justifié par la présence des composés phénoliques, réputés comme d'excellents agents antioxydants.

Notre étude avait clairement démontré que l'extrait de *punica grunatum* possède une activité anti-inflammatoire in vitro a été mise en évidence par l'évaluation de leur effet inhibiteur, contre la dénaturation thermique de l'albumine d'œuf et BSA.

L'estimation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disque sur gélose Muller Hinton en utilisant cinq souches bactériennes. Les résultats d'évaluation de l'effet antibactérien de l'extrait de *punica grunatum*. Montrent que la bactérie de *Staphylococcus aureus* est sensible aux concentrations (25 et 50 mg/mL). Donc on peut dire que ce fruit a une activité antibactérienne importante et représenter une source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

Les résultats obtenus sont très prometteurs et valident scientifiquement l'usage traditionnel de cette plante médicinale. Cependant d'autres études sont nécessaires pour compléter la caractérisation chimique et biologique de cette espèce.

► Il serait intéressant de poursuivre l'évaluation des activités biologiques des composés majoritaires sur d'autres souches bactériennes et d'autres lignées cellulaires et éventuellement de déterminer leur mécanisme d'action.

► Il serait opportun de réaliser des tests in vivo afin d'apprécier l'activité réelle de ces molécules et de comprendre leur mécanisme d'action.

## Conclusion

---

---

► Il serait intéressant d'isoler, de purifier et de caractériser les composés phénoliques par RMN (résonance magnétique nucléaire), spectrométrie de masse et d'établir les études de la relation structure-activité des molécules actives.

► Enfin, il serait intéressant d'élargir le panel des activités biologiques à étudier, notamment en évaluant les activités anti-inflammatoires, anti-cancéreuses et antivirales de nos extraits.

*Références  
bibliographiques*

### Références bibliographiques

- About Kids Health. (2013). *L'inflammation et le système immunitaire*. The Hospital for Sick Children. Disponible sur <https://www.aboutkidshealth.ca/inflammation-et-le-systeme-immunitaireSickKids>. Consulté le 10.04. 2025
- ACHOUR, I. (2024). Bacteriophages: la place de la phagothérapie dans la lutte contre l'antibiorésistance.. [Unistra.fr](https://unistra.fr)
- Adhel, E. (2023). Nouvelles stratégies d'inhibition de *Chlamydia trachomatis* par la synthèse de nano-objets ou de composés organiques. [hal.science](https://hal.science)
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragán, L. A., Favela-Torres, E., & Aguilar, C. N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 189–199.
- Ahmed, M., Khan, M. I., Khan, M. R., Muhammad, N., & Khan, A. U. (2013). Role of medicinal plants in oxidative stress and cancer. *Open Access Scientific Reports*, 2(2), 1–3.
- Aitouguinane, M. (2022). Stimulation des défenses naturelles de la tomate et de l'olivier et induction de la résistance vis-à-vis de la verticilliose par les poly/oligosaccharides d'algues marines .... [hal.science](https://hal.science)
- Ajjan, R., Grant, P. J. (2006). Complement activation and its role in coagulation and thrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*, 96(6), 713–725.
- Al-Zorky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244–248.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., & Trinajstić, N. (2003). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55–61.
- Ammar M., Barbouche N. et Ben Hamouda M. (1995). Action des extraits décomposés des feuilles de *Cestrum parqui* et d'*Olea europea* sur la longévité et la croissance du criquet *Schistocerca gregaria*. *Med. Fac. Landbouw. Univ. Gent* 60/3a, pp: 831–835
- Amor, S. H. (2021). Criblage d'une gamme de fruits rouges pour identifier des alternatives aux antibiotiques contre les pathogènes microbiens antibiorésistants. [inrs.ca](https://inrs.ca)

- Ansaldi, M. & Le Marrec, C. (2025). Les virus des bactéries à l'ère de l'Anthropocène : amis ou ennemis de leurs hôtes ?. médecine/sciences. [medecinesciences.org](https://medecinesciences.org)
- Arce-Gorvel, V., Hysenaj, L., de Laval, B., Sieweke, M. H., Sarrazin, S., & Gorvel, J. P. (2023). La danse entre Brucella et les cellules souches hématopoïétiques. médecine/sciences, 39(11), 822-824. [medecinesciences.org](https://medecinesciences.org)
- Ates B, Abraham L, Ercal N. Antioxidant and free radical scavenging properties of N-acetylcysteine amide (NACA) and comparison with N-acetylcysteine (NAC). *Free Radical Res.*2008; 42(4): 372-7.
- Augustin, J. C., & Garry, P. (2005). *Comportement de Listeria monocytogenes dans les produits de charcuterie*. Fédération Française des Industriels Charcutiers, Traiteurs, Transformateurs de Viandes.
- Baquer, F., Giraudon, E., & Jehl, F. (2021). Bactéries multirésistantes et hautement résistantes émergentes: définition et mécanismes de résistance d'intérêt épidémiologique. Revue Francophone des Laboratoires. [\[HTML\]](#)
- Barbeau-Grégoire, M. (2023). Nutrition enrichie et nutraceutiques dans l'arthrose canine et féline: une revue systématique et méta-analyse en 2022. [scholaris.ca](https://scholaris.ca)
- Barouki, R. (2006). Le stress oxydant : mécanismes et implication dans les pathologies. Médecine/Sciences, 22(3), 266–272.
- Beaudry, J.-P. (1984). Traitement des eaux (pp. 27–41). Canada : Le Griffon d'argile Inc.
- Béguel, J. P. (2012). Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thèse de doctorat). Université de Bretagne occidentale – Brest.
- Belaid, H. A. R. (2021). De la translocation bactérienne digestive dans l'insuffisance rénale chronique terminale: focus sur les lipopolysaccharides circulants, l'inflammation et le microbiote .... [hal.science](https://hal.science)
- Belkhiri, N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes (Thèse de doctorat). Université Toulouse III – Paul Sabatier.
- Bernard, C. (2023). Identification des mécanismes de tolérance à la céfoxitine chez *Mycobacterium abscessus*. [hal.science](https://hal.science)
- Bernard, C. (2023). Identification des mécanismes de tolérance à la céfoxitine chez *Mycobacterium abscessus*. [hal.science](https://hal.science)

- Bhowmik, D., Gopinath, H., Kumar, B. P., & Duraivel, S. (2013). Medicinal uses of *Punica granatum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(5), 28–35.
- Biegala, I. C., Rigaud, L., Sibat, M., Jauffrais, T., Lorquin, J., Brunet, N., ... & Lanceleur, R. (2023). Des microalgues produisent des eaux colorées dangereuses pour la santé (Doctoral dissertation, CRESICA). [hal.science](#)
- *Biochemical systemical systematic and ecology*, 28: 991-1007.
- Biondi, D., Cianci, P.A., Geraci, C., Ruberto, G., 1993. Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants, *Flavor fragr. j.* 8, 331-377.
- Blons, H., Lupo-Mansuet, A., Garinet, S., Wislez, M., Mascaux, C., Levallet, G., & Leroy, K. (2023). Oncogénèse pulmonaire et bases biologiques des traitements ciblés: Lung Oncogenesis and biological bases of targeted treatments. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 15(2), eS1-eS12. [\[HTML\]](#)
- Boes, A. (2021). Étude des interactions et des régulations au sein du noyau de synthèse du peptidoglycane septal d'*E. coli*. [proquest.com](#)
- Boisseau, M. (1984). Clotting system in prethrombotic state. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 164, pp. 19–29). Boston, MA: Springer.
- Borrego, S., Vázquez, A., Dasí, F., Cerdá, C., Iradi, A., Tormos, C., ... Sáez, G. (2013). Oxidative stress and DNA damage in human gastric carcinoma: 8-oxo-7'8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a possible tumor marker. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 3467–3486.
- Boudjema, K. N. E. H. Nahoui, K. Temmimi, K. Azine, L. Hali, et F. Fazouane, « Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait méthanolique obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L. », 2021
- Boutgourine, M. (2019). Guide d'hémostase à l'usage de l'étudiant en médecine (Mémoire de doctorat en pharmacie). Université Saad Dahlab, Blida, Algérie.
- Bradford M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales (4<sup>e</sup> éd., pp.1286-1289). Paris : Lavoisier Tec & Doc.

- Buchanan, R. L., & Whiting, R. C. (1996). Risk assessment and predictive microbiology. *Journal of Food Protection*, Supplement, 31–36.
- Calvino, B. (2021). La phase de résolution de l'inflammation, une phase active orchestrée par le rôle des médiateurs «pro-resolving»: résolvines, protectines, et marésines. Douleurs: Évaluation-Diagnostic-Traitement. [\[HTML\]](#)
- Calvino, B. (2023). Inflammation aiguë, inflammation chronique: arthrite rhumatoïde (AR) et ostéoarthrite (OA). Douleurs: Évaluation-Diagnostic-Traitement. [\[HTML\]](#)
- Causse, C. (2005). Les secrets de santé des antioxydants : c'est naturel, c'est ma santé (p.95). Paris : Alpen Éditions S.A.M.
- Cezard, A., Monard, S., Bréa-Diakite, D., Guillon, A., & Si-Tahar, M. (2021). Les métabokines, des médiateurs essentiels de l'immunité anti-infectieuse. *médecine/sciences*, 37(4), 342-348. [medecinesciences.org](http://medecinesciences.org)
- Charlot, A., Boumiza, R., Roux, M., & Zoll, J. (2021). Obésité, inflammation et COVID-19: intérêt préventif de l'alimentation cétogène?. *Biologie Aujourd'hui*. [biologie-journal.org](http://biologie-journal.org)
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ... & Zhao, L. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204.
- Colin, E., Sangiovanni, E., & Dell'Agli, M. (2013). A review on the anti-inflammatory activity of pomegranate in the gastrointestinal tract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 247145, 11 pages.
- Coll Cardenas, F., Giannuzzi, L., & Zaritzky, N. E. (2008). Mathematical modeling of microbial growth in ground beef from Argentina: Effect of lactic acid addition, temperature and packaging film. *Meat Science*, 79(3), 509–520.
- Colvin, B. T. (2004). Physiology of haemostasis. *Vox Sanguinis*, 87(Suppl. 1), S43–S46.
- Corrége, I., Poissonnet, A., & Hémonic, A. (2021). Caractéristiques des élevages de porcs forts utilisateurs d'antibiotiques et identification de leviers d'action. In 53es Journées de la recherche porcine (JRP). IFIP/INRAE. [hal.science](http://hal.science)
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564 – 582.

- Daglia, M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1 – 8.
- Dai, D. F., & Marcinek, D. J. (2011). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *Journal of Signal Transduction*, 646354.
- Daoust, L. (2021). L'impact du microbiote intestinal sur la santé métabolique dans un modèle de souris obèses : le rôle des polyphénols et de facteurs environnementaux. [ulaval.ca](https://hal.science/hal-03111111)
- Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104–111.
- De Burghgrave, M. (2023). Étude de la réponse des cellules endocrines du pancréas à l'inflammation. [hal.science](https://hal.science/hal-03611111)
- DE, M. D. E. D. D. (2023). Quorum Quenching, Inhibiteur De La Communication Bacterienne: Mecanismes Et Applications. [unistra.fr](https://unistra.fr)
- DE, M. D. E. D. D. (2024). Les bactéries hautement résistantes émergentes: leur influence sur la santé publique et les nouveaux enjeux pour le .... [unistra.fr](https://unistra.fr)
- Debard, F., Desicy-Huiez, Q., Kehiha, S., Laudouze, J., Vizzari, M., & Latifi, A. (2023). Découverte de la pierre angulaire assurant la coordination de la synthèse de la paroi bactérienne avec le métabolisme central. *médecine/sciences*, 39(8-9), 681-685. [medecinesciences.org](https://medecinesciences.org)
- Delattre, J., Beaudoux, J.-L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques (1<sup>re</sup> éd.). Paris : Tec & Doc Lavoisier. •Ducourthial, A. (2003). Flore médicinale de la France : histoire, usages et traditions. Paris: Éditions Le Cherche-Midi.
- Demont, G., Mrozik-Demont, K., & Chaudet, V. (2023). Mémo-fiches DEAES-Diplôme d'Etat d'Accompagnant Educatif et Social: L'essentiel pour réviser-DF 1 à DF 5. [\[HTML\]](#)
- Deslande, M. (2024). Étude des effets de l'hippurate et de ses cibles sur la biologie des cellules bêta et hépatiques. [hal.science](https://hal.science/hal-03611111)
- Diallo, A. (2024). Profil bactériologique des hémocultures et leur sensibilité aux antibiotiques dans le centre de santé de référence de Kati en 2023. [bibliosante.ml](https://bibliosante.ml)

- Diallo, A. (2024). Profil bactériologique des hémocultures et leur sensibilité aux antibiotiques dans le centre de santé de référence de Kati en 2023. [bibliosante.ml](https://bibliosante.ml)
- Dos Santos, W. B. (2023). Études fonctionnelles et structurales de deux pompes d'efflux ABC tripartites de type VII des bactéries à Gram-négatif. [hal.science](https://hal.science)
- Dos Santos, W. B. (2023). Études fonctionnelles et structurales de deux pompes d'efflux ABC tripartites de type VII des bactéries à Gram-négatif. [hal.science](https://hal.science)
- Douyon, Y. (2024). Recherche de principes actifs de synthèse antalgiques et anti-inflammatoires dans des produits à base de plantes vendus à Bamako. [bibliosante.ml](https://bibliosante.ml)
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers, P.A & Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28:350-356
- Dubois, E. (2024). Impact des huiles essentielles sur l'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* cultivé seul ou en co-culture. [hal.science](https://hal.science)
- Dubreuil, A. (2021). Synthèse de nouveaux sels de benzimidazolium rigide pour la perméabilisation membranaire. [scholaris.ca](https://scholaris.ca)
- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie. édition 5*. 264–270.
- Edeas, M. (2010). Pomegranate (*Punica granatum L.*): a medicinal plant with myriad biologic properties – a short review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(28), 2830–2839.
- El Chamieh, C. (2024). Influence des toxines urémiques sur la morbi-mortalité cardiovasculaire des patients en Maladie Rénale Chronique dans la cohorte CKD-REIN. [hal.science](https://hal.science)
- El-Habib, I. (2024). Nanomatériaux microbicides à base d'oxydes métalliques: Mécanisme d'action et Procédés de mise en forme. [hal.science](https://hal.science)
- Erken, S., & Kader (2011). Indications of several exceptional cultivars with black fruit peels.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64, 390–396.
- Ganatra, S., & Gurubaxani, S. (2016). Preliminary Phytochemical and TLC profiling of *Lantana camara* leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(15), 614- 617

- Garnier, G., Bezanger-Beauquesne, L., Debraux, G., Pinkas, M. (1961). Ressources médicinales de la flore française (Tome II, pp. 838–842). Paris, France : Éditions Vigot Frères.
- Guessoum, B. (2021). Étude des extraits de la plante *Cyperus conglomeratus*, leurs activités biologiques et leurs efficacités inhibitrices de la corrosion (Thèse de doctorat en génie des procédés). Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Garrel, C., Ceballos-Picot, I., Germain, G., Al-Gubory, K. H. (2007). Oxidative stress-inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F<sub>2</sub>α-induced luteal cell death in vivo. *Free Radical Research*, 41, 251–259.
- Guignard J.L. (1979). Abrégé de biochimie végétale. 2ème ED. Masson Paris, p : 84.
- Gul, R., Jan, S. U., Faridullah, S., Sherani, S., & Jahan, N. (2017). Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* indigenous to Balochistan. *The Scientific World Journal*, 2017.
- Hajib, A., Nounah, I., Harhar, H., Gharby, S., Kartah, B., Matthäus, B., Bougrin, K., & Charrouf, Z. (2021). Oil content, lipid profiling and oxidative stability of “Sefri” Moroccan pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil. *OCL – Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 28(5), Article 5.
- Harris, C. (2024). Bactéries : Diversité, Classification et Importance dans les Écosystèmes et la Santé Humaine. *Insight into Epidemiology* (Ed. française). [docentra.com](https://www.docentra.com)
- Henni, R., & Chekoufi, F. Z. (2020). Étude de l'activité biologique (antioxydante, antibactérienne, antifongique) des extraits de l'écorce de *Pinus pinaster* (Mémoire de magister). Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira.
- Heshelow, E. (2023). Livre D'huiles Essentielles Pour Les Débutants: Améliorez le sommeil, l'énergie, la digestion, la peau et le système immunitaire en comprenant le pouvoir des .... [\[HTML\]](#)
- <https://doi.org/10.3390/molecules27082494>
- Illouz, M., Alcaraz, M., Roquet-Banères, F., & Kremer, L. (2021). *Mycobacterium abscessus*, un modèle de résistance aux différentes classes d'antibiotiques. *médecine/sciences*, 37(11), 993-1001. [medecinesciences.org](https://www.medicinesciences.org)

- Illouz, M., Alcaraz, M., Roquet-Banères, F., & Kremer, L. (2021). Mycobacterium abscessus, un modèle de résistance aux différentes classes d'antibiotiques. *médecine/sciences*, 37(11), 993-1001. [medecinesciences.org](https://www.medecinesciences.org)
- Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(2), 385–400. Rezaire, A. (2012). Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (Patawa) (Thèse de doctorat en phytochimie). Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne
- Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales (2<sup>e</sup> éd.). Paris: Larousse.
- Jannadi, H. (2024). Étude de l'association de vésicules membranaires avec différentes espèces bactériennes. [scholaris.ca](https://scholaris.ca)
- Jannadi, H. (2024). Étude de l'association de vésicules membranaires avec différentes espèces bactériennes. [scholaris.ca](https://scholaris.ca)
- Jena, N. R. (2012). DNA damage by reactive species: mechanisms, mutation and repair. *Journal of Bioxi*, 37(3), 503–517.
- Jobin, F. (1995). La thrombose (Physiologie de l'hémostase primaire, p. 1–321). Paris, France : Maloine Éditeur.
- Joutey, M. T. (2023). Etude des effets protecteurs de substances naturelles issues du cactus sur le stress oxydant et l'inflammation liés à l'absence de la  $\beta$ -oxydation peroxysomale. [hal.science](https://hal.science)
- Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques (Thèse de doctorat). Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(2), 216–222.
- Kehili, (2018). L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, 2328–2375.
- Kosalec I., Bakmaz M., Pepeejnjak S., Kneevi S.V. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* 54 . 65-72.

- Koutsoumanis, P. K., & Sofos, J. N. (2005). Effect of inoculum size on the combined temperature, pH and  $a_w$  limits for growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 104(1), 83–91.
- Laguerre, M., Lopez-Giraldo, L. J., Lecomte, J., Piña, M., & Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *OCL – Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 14(5), 278–292.
- Lallemand-Moe, H. R. (2017). Changements climatiques et souveraineté menacée en Océanie. *L'Océanie convoitée*. [hal.science](https://hal.science)
- Lebreton, L., Hennart, B., Baklouti, S., Trimouille, A., Boyer, J. C., Becquemont, L., ... & Picard, N. (2024). Pharmacogénétique de l'ototoxicité des aminosides : état des connaissances et des pratiques–recommandations du Réseau francophone de pharmacogénétique (RNPGx). *Therapies*, 79(6), 709-717. [sciencedirect.com](https://www.sciencedirect.com)
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *125 (2)*, 288–306.
- Lhamdi, (2021). Composition phénolique, activité antioxydante et biologique des extraits d'*Euphorbia granulata* Forssk et *Euphorbia retusa* Forssk. (Thèse de doctorat). Université Mohamed Khider, Biskra.
- Lopez, T. (2022). Place des récepteurs beta3-adrenergiques dans les maladies intestinales. [hal.science](https://hal.science)
- Lunsky, Y., & Newman, R. A. (2008). Historical and ethnobotanical perspectives on *Punica granatum* L. with emphasis on its early medicinal uses in French and American pharmacopeias. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(2), 191–198.
- Madec, J. Y. (2022). Généralités sur les antibiotiques et l'antibiorésistance-Le vétérinaire face à l'antibiorésistance. Guide pour un bon usage des antibiotiques chez les animaux de compagnie, 15-17. [hal.science](https://hal.science)
- Mainguy-Seers, S. (2022). Interactions entre l'inflammation neutrophilique et le remodelage bronchique dans l'asthme : investigations chez le modèle naturel de l'asthme équin sévère. [scholaris.ca](https://scholaris.ca)
- Maissa, C. & Roqiya, S. (2024). La résistance des probiotiques aux antibiotiques.. [centre-univ-mila.dz](https://centre-univ-mila.dz)
- Mamron ,F. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the *Generalavandula* and *Sabaudia*.

- Maquet, C. (2022). Etude de L'importance des Monocytes Éduqués Par les Gammaherpèsvirus Pour Prévenir le Développement D'une Inflammation Délétère. [proquest.com](https://proquest.com)
- Martin, C. (2021). Synthèse et étude de nouveaux ligands d'ARN pour le ciblage des systèmes toxine-antitoxine: vers des nouvelles thérapies antibiotiques. [hal.science](https://hal.science)
- Massei, K. (2022). Caractérisation et valorisation de matières premières aromatiques: le ciste, la myrrhe et l'encens. [hal.science](https://hal.science)
- Membre, J. M., Leporq, B., Vialette, M., Mettler, E., Perrier, L., Thuault, D., & Zwietering, M. (2005). Temperature effect on bacterial growth rate: Quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food. *International Journal of Food Microbiology*, 100(1–3), 179–186.
- Milenkov, M. (2022). Antibiotiques et antibiorésistance, de quoi parle-t-on?. L'antibiorésistance: Un fait social total. [\[HTML\]](#)
- Miraliakbari H, Shahidi F. (2008). Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chemistry*. 111: 421-7.
- Mondemé, M. (2023). Impact d'une  $\beta$ -lactamine sur les neutrophiles au cours de la pneumonie à *Streptococcus pneumoniae*. [hal.science](https://hal.science)
- Nazck M. and Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables : occurrence, extraction And analysis. *Journal of Pharmacology Biomedical Analysis*. 41(5) .1523–1542.
- Neurath, A. R., Strick, N., Li, Y. Y., & Debnath, A. K. (2004). Punica granatum (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infectious Diseases*, 4(1), 41. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-4-41>
- Nguyen, T. L. A., & Bhattacharya, D. (2022). Antimicrobial Activity of Quercetin: An Approach to Its Mechanistic Principle. *Molecules*, 27(8), 2494.
- Olapour, A., & Najafzadeh, M. (2010). Evaluation of the effectiveness of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract on the treatment of minor aphthous stomatitis. *Journal of Dentistry (Tehran University of Medical Sciences)*, 7(3), 105–109.

- Oloyede, O. I. (2005). Chemical profile of unripe pulp of carica papaya. *Pak. J. Nutr*, 379–381.
- Oronsky, B., Caroen, S., & Reid, T. (2022). What exactly is inflammation (and what is it not?). *International journal of molecular sciences*, 23(23), 14905.
- Pacheco-Páencia, L., Duncan, C. L., & Podolak-Pacheco, G. (2008). Protective effects of pomegranate against procarcinogen activation, gastric mucosal damage, neonatal brain hypoxia, disturbed shear-stress, and UVA/UVB injury: a comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 404–411.
- Parmar, H. S., & Kar, A. (2008). Antidiabetic potential of *Punica granatum* in alloxan-induced diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17(2), 261–264.
- Peillard, F. (2024). Étude de l'impact de l'environnement sur la transformation naturelle de l'ADN chez la bactérie pathogène *Streptococcus pneumoniae*. [ulaval.ca](https://ulaval.ca)
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidant in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Piccolo, E. (2021). Rôle de la protéine HMGB1 dérivée des macrophages au cours d'une réaction inflammatoire. [hal.science](https://hal.science)
- Prakash, V., Saxena, S., Gupta, S., Saxena, A. K., Yadav, R., & Singh, S. K. (2015). Preliminary phytochemical screening and biological activities of *Adinacardifolia*. *J MicrobBiochemTechnol*, 7, 33-38.
- Prashanth, D., Asha, M. K., & Amit, A. (2001). Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, 72(2), 171–173.
- Prieto P., Pineda M. et Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337-341.
- Que F, Mao L, Pan X. (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res. Inter.* 39: 581-7.
- Rahimi, H. R., Arastoo, M., & Ostad, S. N. (2012). A comprehensive review of *Punica granatum* (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and

- Raki, A. A. (2022). Rôle du facteur de transcription STAT5B des cellules dendritiques dans le contrôle de la réaction inflammatoire intestinale menant à la colite ulcéreuse. [usherbrooke.ca](http://usherbrooke.ca)
- Reddy, C. S., Reddy, K. R. N., Prameela, M., Mangala, U. N., & Muralidharan, K. (2007). Identification of antifungal component in clove that inhibits *Aspergillus* spp. colonizing rice grains. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 37(1), 87–94.
- Renard, E. (2021). Études biophysiques et structurales d'antibiotiques ciblant le ribosome. [hal.science](http://hal.science)
- Renard, E. (2021). *Études biophysiques et structurales d'antibiotiques ciblant le ribosome* (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).
- Rezaire, A. (2012). Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (Patawa) (Thèse de doctorat en phytochimie). Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne.
- Richard, N., Jean-Jacques, B., Cortot, A., & Levallet, G. (2022). Oncogenèse pulmonaire et bases biologiques des traitements ciblés. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 14(2), 2S16-2S29. [\[HTML\]](#)
- Rizk A M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterpia*, p :35-42
- Rofi'I, A., Fatchiyah, F., Rahayu, P., Muhyi, R., Sumitro, S. B. (2013). Reactive oxygen species, NF- $\kappa$ B, and p53 levels in tissue of undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 2(2), 143–147.
- Rosenblat, M., Hayek, T., & Aviram, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*, 187(2), 363–371.
- Rosenblat, M., Hayek, T., Aviram, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*, 187(2), 363–371.
- Saad, H. (2012). Characterization of pomegranate peels tannin extractives. *Industrial Crops and Products*, 40(1), 239–246. Schved, J.-F. (2007). Physiologie de l'hémostase [Mémoire de m.jster]. Université de Mostaganem.
- Salah, N. (2022). Etude de la potentialisation de la curcumine par des nanoparticules pour traiter les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. [hal.science](http://hal.science)

- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875 – 3883.
- Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punica granatum* L. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 5(1), 1–8.
- Shimoni, E., & Labuza, T. P. (2000). Modeling pathogen growth in meat products: Future challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 11(9–10), 394–402.
- Simpara, F. (2024). Evaluation de la connaissance des Anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les prescripteurs et utilisateurs : Une étude transversale prospective dans la commune de .... [bibliosante.ml](http://bibliosante.ml)
- Soumaré, H. (2024). Etude de la prescription des antibiotiques au CHU du Point G.
- Stiel, L. & Blot, M. (2024). Les bases de la réponse immunitaire innée pour le réanimateur: Innate immune response for the intensivist. *Médecine Intensive Réanimation*. [srlf.org](http://srlf.org)
- Stiel, L. & Blot, M. (2024). Les bases de la réponse immunitaire innée pour le réanimateur: Innate immune response for the intensivist. *Médecine Intensive Réanimation*. [srlf.org](http://srlf.org)
- Sushama Raj R.V. (2017). Preliminary phytochemical screening of *Lantana camara*, L., a major invasive species of Kerala, using different solvents, *Annals of Plant Sciences*, 6(11), 1794-1798
- Taheri Rouhi, S. Z., Ganji, F., Nazari, M., Hosseini, S. M., Khodamoradi, M., Mahmoudvand, H. (2017). Protective effect of *Punica granatum* juice against streptozotocin-nicotinamide induced oxidative stress and hyperglycemia in diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(7), 772–777.
- Thompson, L. (2024). L'impact de la résistance aux antimicrobiens sur la santé publique : défis et réponses stratégiques. *Insight into Epidemiology* (Ed. française). [docentra.com](http://docentra.com)
- Thuillier, S. (2023). Étude du mode d'action de la radulanine A, une molécule phytotoxique d'origine naturelle. [hal.science](http://hal.science)
- Tokarz, P., Kaarniranta, K., & Blasiak, J. (2013). Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). [Revue, 14(5), 461–482].

- Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G & Wegrzyn, G. (2008). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol*, 184 (5), 271 –278.
- Upson T. M., Grayer R. J., Greenham J. R., Williams C. A., Al-ghamdi F., et Chen V
- Vogler, E. A., & Siedlecki, C. A. (2009). Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*, 30(10), 1857–1869. Wald, E. (2009). Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes (Thèse de doctorat en pharmacie). Université Nancy 1, 158 pp.
- Wald, E. (2009). Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes (Thèse de doctorat en pharmacie). Université Nancy 1, 158 pp
- Yao, A. H., Kouame, Y. E., N’zibla, Y., Binaté, A. R., Adebayo, T., Tuo, M., & Noel, C. (2025). Profil Bactériologique de l’Infection Urinaire à Abidjan: Bacteriological Pattern of Urinary Infection in Abidjan. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 26(2). [hsd-fmsb.org](http://hsd-fmsb.org)
- Zarfeshany, A., Asgary, S., Javanmard, S. H. (2014). Potent health effects of pomegranate. *Advanced Biomedical Research*, 3, 100.
- Zerargui, F., Boumerfeg, S., Charef, N., Baghiani, A., Djarmouni, M., Khennouf, S., Arrar, L., Musa Abu Zarga, M. H., & Mubarak, M. S. (2015). Antioxidant and enzyme inhibition of *Tamus communis* furanocoumarins. *Medicinal Chemistry*, 11(5), 506–513.
- Zhang, Z., Cao, M., Shang, Z., Xu, J., Chen, X., Zhu, Z., Wang, W., Wei, X., Zhou, X., Bai, Y., & Zhang, J. (2025). Research Progress on the Antibacterial Activity of Natural Flavonoids. *Antibiotics*, 14(4), 334. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040334>
- Zhao, Y., Dou, J., Wu, T., & Akber Aisa, H. (2013). Investigating the antioxidant and acetylcholinesterase inhibition activities of *Gossypium herbaceum*. *Molecules*, 18(1), 95.
- Zongo, P. D. (2024). Contribution de l’intégration du gène blaOXA-48 dans la dissémination des clones ST38 d’*Escherichia coli* producteurs de carbapénémase. [hal.science](http://hal.science)

- Zongo, P. D. (2024). Contribution de l'intégration du gène blaOXA-48 dans la dissémination des clones ST38 d'Escherichia coli producteurs de carbapénémase. [hal.science](https://hal.science).