

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie

Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Activité antiulcéreuse de *Punica granatum*

Présenté par ^{Melles} **Brahimi Nihad & Bentouati Sara Abir.**

Soutenu le 02.07.2025 à 11h Devant le Jury :

M . Chelghoum H.	MCA	SNV, Blida1	Président (e)
M . Rahim I.	MCA	SNV, Blida1	Examineur (ice)
M . Ait Yahia N.	MCA	Faculté de pharmacie , Alger-1	Promoteur (ice)
M . Zerouti K.	MCB	SNV, Blida1	Co-Promoteur (ice)

Session 2024 / 2025

Remerciements

Au terme de ce travail, il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce mémoire. Que chacun trouve ici l'expression de notre reconnaissance la plus sincère.

Nous tenons à adresser nos plus chaleureux remerciements à **Madame Dr Ait Yahia Nadia**, notre encadrante, pour sa bienveillance, sa rigueur scientifique, sa patience inestimable ainsi que la générosité de son accompagnement. Son expertise, ses conseils éclairés et son écoute attentive ont largement nourri notre réflexion et guidé notre travail avec une finesse et une exigence intellectuelle que nous n'oublions pas.

Nos remerciements vont également à **Madame Dr Zerouti Khedidja**, notre co-promotrice, pour sa disponibilité, ses encouragements constants, ainsi que pour ses interventions précieuses qui ont enrichi la qualité de ce mémoire. Sa vision critique et ses orientations nous ont permis d'avancer avec assurance dans notre démarche scientifique.

Nous exprimons une reconnaissance toute particulière à **Madame Dr Chelghoum Hayat**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury d'évaluation de notre travail. Nous la remercions pour son regard pertinent, ses remarques constructives, et la considération qu'elle a témoignée à notre sujet. Nous remercions sincèrement **Madame Dr Rahim Ibtissam** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire. Au-delà de son rôle d'évaluatrice, nous tenons à saluer son engagement pédagogique au fil de notre parcours universitaire. Leurs enseignements, en immunologie et en biothérapie, nous ont transmis les bases solides qui ont grandement facilité la conception et la réalisation de ce projet.

Nos remerciements les plus profonds s'adressent également à **Monsieur Brahimi Hamid** et à son collègue **Monsieur Rahmani Abd Errahman**, pour leur aide déterminante dans la recherche d'un cadre adéquat à la réalisation pratique de ce mémoire. Leur soutien logistique et humain, tout comme leur confiance, nous ont été essentiels. Nous tenons également à exprimer notre gratitude envers l'ensemble de l'équipe de l'Institut Pasteur, et tout particulièrement : • **Monsieur Khettal Rabah**, • **Madame Ferkous Aphnane**, • **Madame Mouhoub Rima**, • **Dr Mokhtari Zineb**, **Dr Ammi Nassima**, pour leur accueil chaleureux, leur accompagnement scientifique, leur disponibilité ainsi que les conseils avisés qu'ils nous ont généreusement apportés tout au long de notre stage. Leur expertise et leurs soutiens ont été un apport inestimable pour la conduite et la qualité de notre travail expérimental.

Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance à nos camarades et amis, qui ont su, par leurs encouragements, leur présence bienveillante et leurs conseils, rendre ce parcours plus doux, plus riche et plus motivant. À toutes et à tous, merci du fond du cœur.

Dédicace

À mon cher père, Brahimi Hamid, Modèle de courage, de sagesse et de persévérance. Merci pour ta confiance inébranlable, ton soutien silencieux mais toujours présent, et pour avoir été cette force tranquille qui m'a portée dans les moments de doute.

À ma douce mère, Zoulikha, Ton amour infini, ta tendresse et tes prières ont été ma lumière et mon refuge. C'est à toi que je dois la patience, la douceur, et la force de croire en moi, merci mama

À mes sœurs bien-aimées, Bouchra, Kaouther et Radjaa, Merci pour vos encouragements constants, votre écoute et votre complicité. Chacune de vous m'inspire à sa manière, et votre présence dans ma vie est un trésor inestimable. je vous aime.

À mon petit frère, Nazim, Ton innocence, ta joie de vivre et ta curiosité me rappellent chaque jour pourquoi il est important de rêver grand. Tu es, sans le savoir, l'une de mes plus grandes motivations.

À vous, ma famille, pilier de mon cœur et de mon parcours, Ce mémoire est dédié avec tout mon amour et ma reconnaissance éternelle.

Brahimi Nihad

Dédicace

Je dédie ce travail

À Mes parents, Merci pour votre patience, votre bienveillance et présence tout au long de mon parcours académique À vous qui avez toujours cru en moi, ce travail vous revient autant qu'à moi.

À Mon père Rédha Bentouati, mon exemple, et mon repère. Ta patience et ta force m'ont inspirée à chaque étape merci pour ton soutien continu, encouragement puissant dans les moments les plus difficiles, rassurance, et ton regard plein de fierté qui m'a souvent donné le courage d'avancer.

À Ma Mère Amel merci pour ton amour sans limites, ta douceur, tes prières, et ton soutien cachée derrière chaque geste.

A mes chère sœurs **Farah, Karima, Meriem** Vous êtes une part précieuse de cette réussite, Merci d'avoir été là, simplement, pour m'écouter quand j'en avais besoin, et pour m'offrir cette présence douce qui compte beaucoup pour moi.

Sara ABIR

Résumé

Punica granatum est une plante connue pour ses propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires traditionnellement utilisée pour traiter les inflammations, les aphtes buccaux, et l'ulcère gastrique. Le but de ce travail est d'étudier l'activité gastro-protectrice des extraits de l'écorce de cette plante, sur des rats males de souche Albinos Wistar. Des doses de 1000, 1500mg/kg ont été préparés. L'Oméprazole à 40 mg/kg est utilisé pour le groupe de contrôle positif, Les extraits ont été administrés par voie intragastrique, une heure après, le diclofénac 80mg/kg a été administré aux animaux pour provoquer l'ulcère. Après 4 heure, les rats ont été sacrifiés. L'estomac de chaque rat a été ouvert pour observer les ulcères. L'évaluation histopathologique de la muqueuse gastrique ainsi que l'analyse des scores de gravité des lésions, ont révélé une amélioration de l'intégrité tissulaire chez les groupes traités et une muqueuse sans anomalie ainsi qu'une diminution significative de score de gravité d'ulcère ($p < 0,05$), notamment à la dose de 1500 mg/kg, contrairement au groupe pathologique qui présentait des altérations épithéliales et une forte inflammation. Le pH gastrique est resté inchangé chez les groupes traités avec *Punica granatum*, suggérant une absence d'effet sur la sécrétion acide. Ces résultats confirment l'effet gastro-protecteur attendu de l'extrait d'écorce de *Punica granatum*, attribué à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques à action antioxydante et anti-inflammatoire.

Mot clés : punica granatum, ulcère gastrique, antioxydants, muqueuse gastrique, AINS

Abstract

Punica granatum is a plant known for its antioxidant and anti-inflammatory properties traditionally used to treat inflammation, mouth ulcers, and gastric ulcer. The purpose of this work is to study the gastroprotective activity of extracts from the bark of this plant, on male rats of Albinos Wistar strain. Doses of 1000, 1500mg/kg were prepared. Omeprazole at 40 mg/kg is used for the positive control group. The extracts were administered per intragastric way , one hour later, diclofenac 80 mg/kg was administered to the animals to promote the ulcer. After 4 hours, the rats were sacrificed. The stomach of each rat was opened to observe ulcers. The histopathological evaluation of the gastric mucosa as well as the analysis of lesion severity scores revealed an improvement in tissue integrity in the treated groups and a mucous membrane without abnormality as well as significant reduction in ulcer severity score ($p < 0.05$), especially at the dose of 1500 mg/kg, unlike the pathological group which presented epithelial alterations and strong inflammation.

These results confirm the expected gastro-protective effect of *Punica granatum* bark extract, attributed to its richness in phenolic and flavonoid compounds with antioxidant and anti-inflammatory action.

Key words: *Punica granatum*, gastric ulcer, antioxidants, gastric mucosa, NSAID

ملخص

Punica granatum هو نبات معروف بخصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات ويستخدم تقليدياً لعلاج الالتهابات وقرحة الفم وقرحة المعدة. الغرض من هذا العمل هو دراسة النشاط الوقائي للمعدة لمستخلصات لحاء هذا النبات على ذكور الجرذان من سلالة ألبينوس ويستار. تم تحضير جرعات 1000، 1500 ملغم/كغم. يتم استخدام أوميبرازول بجرعة 40 ملغم/كغم لمجموعة التحكم الإيجابية. تم إعطاء المستخلصات داخل المعدة، وبعد ساعة واحدة، تم إعطاء ديكلوفيناك 80 ملغم/كغم للحيوانات لتعزيز القرحة. وبعد 4 ساعات تم التضحية بالفئران. تم فتح معدة كل فأر لمراقبة القرحة. كشف التقييم النسيجي المرضي للغشاء المخاطي للمعدة وكذلك تحليل درجات شدة الآفة عن تحسن في سلامة الأنسجة في المجموعات المعالجة والغشاء المخاطي دون خلل بالإضافة إلى انخفاض كبير في درجة شدة القرحة ($P < 0.05$)، خاصة عند جرعة 1500 ملغم/كغم، على عكس المجموعة المرضية التي أظهرت تغيرات ظاهرية والتهاب قوي.

تؤكد هذه النتائج التأثير الوقائي المتوقع للمعدة لمستخلص لحاء *Punica granatum*، والذي يعزى إلى ثرائه بالمركبات الفينولية والفلافونويدية ذات التأثير المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum*، قرحة المعدة، مضادات الأكسدة، الغشاء المخاطي في المعدة، مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية

Liste des abréviations

AINS : antiinflammatoire non stéroïdien

PG : *Punica Granatum*

PGE : *Punica Granatum* extrait

ROS : espèces réactives de l'oxygène

EEPG : extrait de l'écorce de *Punica granatum*

UGD : ulcère Gastro-duodénale

SM : métabolites secondaires

OCDE : organisation de coopération et de développement économique

EPPI : eau pour préparation injectable

Liste des figures

Figure 01 : Fruit et classification botanique de grenadier.....	03
Figure 02 : schémas représentatifs des différentes régions de l'estomac.....	08
Figure 03 : différentes couches de la paroi gastrique avec les cryptes et glandes gastriques ainsi que les cellules sécrétoires.....	09
Figure 04 : physiologie de la sécrétion gastrique acide.....	10
Figure 05 : Pathogenèse de l'ulcère gastrique	12
Figure 06 Ecorce de grenade après une semaine de séchage.....	14
Figure 07 : Observation macroscopique de la Poudre par une loupe	25
Figure 08 : Évolution du poids au cours de test de toxicité.....	28
Figure 09 : Coloration topographique à l'hématoxyline-éosine des coupes histologiques des différents tissu chez le témoin et chez le groupe testé pour la toxicité aigüe. Observés au microscope optique Grossissement X100	30
Figure 10 : Observations macroscopiques : (A) Estomac du témoin sain ; (B) Estomac du contrôle (-) ; (C) , Estomac du contrôle (+). (D) , (E) Estomacs traitées par les concentrations 1000/1500mg/kg de l'extrait d'écorce de Punica Granatum respectivement.....	32
Figure 11 : Résultats de l'examen anatomopathologique.....	34
Figure 12 : Variation du score d'ulcère selon les groupes.....	38
Figure 13 : Variation du pH gastrique selon les groupes expérimentaux.....	41

Liste des tableaux

Tableau I. Composition chimique de grenade.....	04
Tableau II. Répartition des lots des rats de l'essai de l'activité antiulcéreuse.....	21
Tableau III. Observation microscopique de la poudre de PG.....	25
Tableau IV. Résumé des résultats de la phytochimie qualitative.....	26
Tableau VI. Tableau de moyenne des signes cliniques observés chez les rats durant les 14 jours de l'étude de toxicité aiguë	29
Tableau VII. Variation du poids des rats selon le test de Shapiro wilk et Kruskal-Wallis.....	35
Tableau VIII. Résultats des tests de Dunn pour le score anatomopathologique d'ulcère.....	37
Tableau IX. Résultats des tests de Dunn pour le pH gastrique.....	40
Tableau X. Variation de l'urée selon les groupes.....	42

Sommaire

Résumé

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1	Propriété phytochimique et bio-thérapeutique de punica granatum	
I.1.1	Classification et description morphologique.....	03
I.1.2	Propriétés et composition phytochimique.....	04
I.1.2.1	Métabolites primaires.....	05
I.1.2.2	Métabolites secondaires.....	05
I.1.3	Utilisation médicinale et activités biologiques.....	07
I.2.	Physiopathologie de l'ulcère gastrique.....	08
I.2.1.	Anatomie et morpho-histologie	08
I.2.2.	Fonctionnement physiologique de l'estomac	09
I.2.3.	Physiopathologie de l'ulcère gastrique	10
I.2.3.1.	Définition et prévalence	10
I.2.3.2.	Physiopathologie.....	11
I.2.3.3.	Traitement des ulcères	13

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

II. 1.	Matériel biologique	14
II. 1. 1.	Matériel végétal.....	14
II. 1. 2.	Rats.....	14
II. 2.	Matériel non biologique et appareillage.....	15
II. 2.	Méthodes.....	15
II.2.1.	Observation macroscopique et microscopique de la poudre de <i>Punica granatum</i>	15
II.2.2.	Extraction du matériel végétal.....	15
II.2.3.	Test de solubilité de l'extrait	16
II.2.4.	Analyse phytochimique	16
II.2.4. 1.	Analyse qualitative	18
II.2.4. 2.	Analyse quantitative.....	18
II.2.5.	Étude de la toxicité de l'extrait.....	19

II.2.5. 1. Démarche expérimentale.....	19
II.2.5.2. Signes de toxicité et score.....	20
II.2.6. Étude de l'effet de PG chez un modèle expérimental de l'ulcère gastrique	20
II.2.6. 1. Induction expérimental de l'ulcère gastrique	21
II.2.6.2. Mesure des paramètres gastriques.....	22
II.2.6.3. Étude histologique.....	23
II.2.7. Étude statistique.....	24

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

III.1. Résultats de l'observation macroscopique et microscopique	25
II.2. Résultats de l'extraction et de l'analyse phytochimique.....	26
III.2.1. Solubilité et rendement.....	26
III.2.2. Composition phytochimique de l'extrait.....	26
III.3. Résultats de la toxicité aiguë de l'extrait	28
III.3. 1. Perte de l'animal	28
III.3. 2. Suivi des signes cliniques de toxicité	28
III.3. 2.1. Suivi de poids	28
III.3. 2.2. Signes cliniques.....	29
III.3. 2.3. Histopathologique de l'activité toxicologique.....	29
III.4. Effet de l'extrait sur l'ulcère gastrique expérimental	31
III.4. 1. Évaluation macroscopique.....	31
III.4. 2. Évaluation histologique.....	33
III.4. 3. Évaluation des paramètres cliniques et biologiques.....	35
Conclusion.....	48

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Introduction

L'ulcère gastrique touche près de 10 % de la population mondiale dont il représente la forme la plus courante de troubles inflammatoires gastro-intestinaux. Physiopathologiquement ; il s'agit d'un déséquilibre entre la sécrétion d'acide chlorhydrique, l'enzyme pepsine, le flux sanguin, les prostaglandines et la présence de bicarbonate dans l'estomac. Diverses facteurs en interaction complexe sont incriminés dans le développement de cette pathologie à l'instar des anti-inflammatoires AINS , l'infection bactérienne par *Helicobacter pylori* et d'autre facteur lié à l'alimentation et l'hygiène de vie (**Alam et al., 2019 ; Murray et al., 2021**).

L'approche thérapeutique comporte plusieurs médicaments antiulcéreux utilisés pour prévenir, réduire et traiter les ulcères gastriques, notamment des antiacides et les inhibiteurs de la pompe à protons. Cependant, ces médicaments ont de nombreux effets secondaires mineurs tels que la douleur à l'estomac et les maux de tête, observés après une courte période d'utilisation. En revanche, des effets ont été souvent observés après une longue durée d'utilisation de ces médicaments et dont plus graves sont l'hépatotoxicité et les infections entériques (**Tai et al., 2021**).

La grenade (*Punica granatum*) était utilisée dans l'antiquité en médecine populaire pour prévenir ou guérir de nombreuses maladies intestinales gastriques. Toutes les parties de la grenade contiennent de nombreux composés actifs tels que les composés phénoliques (acide gallique), les flavonoïdes (catéchines et quercétine) et les anthocyanidines (cyanidine). Ces biomolécules possèdent de nombreux effets biologiques divers mais sont plus étudiés pour leurs pouvoirs anti-inflammatoire, antioxydant et cytoprotecteur, antibactérien, et antiulcéreux (**Melgarejo-Sánchez, 2021**).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'effet gastro protecteur de l'extrait d'écorce de *Punica granatum* (PG) face à un ulcère gastrique induit expérimentalement par le diclofénac, chez les rats. Ce manuscrit est structuré en deux grandes parties ; la première est résumée en une revue bibliographique mettant en évidence les caractéristiques et phytochimiques et les activités biologiques généralement connues de ce fruit, en insistant notamment sur ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Cette revue comporte également une initiation cellulaire et moléculaire à la physiopathologie des ulcères gastriques, ainsi au potentiel gastro protecteur de PG dans différents modèles d'ulcère gastrique.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude expérimentale abordée afin de réaliser l'objectif tracé. Elle décrit tout d'abord le matériel végétal utilisé, puis les essais de toxicité aiguë réalisés selon le protocole limité recommandé par l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE). Elle détaille ensuite l'évaluation de l'activité antiulcéreuse de l'extrait de PG par les différents tests biochimiques et histopathologiques. Ce volet comprend la description du protocole expérimental, les méthodes employées, ainsi que la présentation, l'analyse et la discussion des résultats obtenus.



Synthèse bibliographique

I.1. Propriétés phytochimiques et bio-thérapeutiques de *Punica granatum*

I.1.1. Classification et description morphologique

La grenade (*Punica granatum L.*) est un fruit ancien de l'arbre Grenadier qui appartient à l'ordre des Myrtale et à la famille des Lythracées. Ce fruit est largement consommé sous état frais et en jus et son utilisation pour ses vertus thérapeutiques remonte à l'époque biblique où ont été rapportées à travers les millénaires (Longtin, 2003) (Figure 1).

Les feuilles du grenadier sont de forme oblongues, entières, de couleur rouge vif, de 3 cm de diamètre et ayant cinq pétales. C'est une espèce monoïque qui développe sur le même arbre des fleurs hermaphrodites fertiles en formes de "vase", et des fleurs males stériles avec un style très court et des ovaires atrophiés (en forme de cloche). La période normale de sa floraison est généralement entre mars- avril et juin- aout, elle dure jusqu'à 12 semaines ou plus selon les variétés et les conditions géographiques (Ben- Arie et al, 1984 ; Melgarejo et Salazar, 2003).

La transformation des fleurs donne un fruit rond à écorce épaisse et coriace d'une couleur qui varie du rouge au rose, voire au jaune, selon la variété et le degré de maturité. L'intérieur est rempli de nombreuses petites graines, appelées arilles, entourées d'une pulpe juteuse et translucide, souvent de couleur rouge vif. La grenade est un fruit au goût sucré et acidulé (Longtin, 2003) (Figure 1).



- **Règne :** Plantae
(Angiosperme)
- **Clade :** Résidées
- **Ordre :** Myrtale
- **Famille :** Lythracées
- **Genre :** punica
- **Espèce :** *punica granatum*

Figure 1. Fruit et classification botanique de grenadier (Grandmont-JP, 2014)

I.1.2. Propriétés et composition phytochimique

La partie comestible des fruits contient des acides, des sucres, des vitamines, des polysaccharides, des polyphénols et des minéraux. Cependant, plusieurs facteurs peuvent contribuer aux changements chimiques, notamment les cultivars, les conditions environnementales, la maturation, le stockage et les traitements post-récolte, qui peuvent affecter la qualité des fruits et les composés bénéfiques pour la santé (**Tableau I**) (**Schwartz et al., 2009**).

Les écorces de grenade sont riches en dérivés d'acide ellagique tels que les ellagitanins, la punicalagine et la punicaline et certains dérivés de l'acide ellagique. Les acides phénoliques sont les principaux composés phénoliques de la peau de grenade, suivis des tanins hydrolysables, des pro anthocyanidines et des flavonoïdes, principalement présents sous forme insoluble. L'écorce renferme également des molécules de coloration jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades (**Lansky et al., 2007 ; Ambigaipalan et al., 2016**).

Tableau I. Composition chimique de grenade (Yilmaz, 2007)

Composant	Constituantes
Humidité	72.6-86.4%
Protéines	0.05-1.6%
Matières grasses	0.01-0.9%
Minéraux	0.36-0.73%
Fibres	3.4-5.0%
Glucides	15.4-19.6%
Calcium	3.0-12.0 mg
Phosphore	8.0-37.0 mg
Fer	0.3-1.2 mg
Sodium	3.0 mg
Magnésium	9.0 mg
Acid ascorbique (Vitamine C)	4.0-14.0 mg
Thiamine (Vitamine B1)	0.01 mg
Riboflavine (Vitamine B2)	0.012-0.03 mg
Niacine	0.18-0.3 mg

I.1.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des composés de plantes impliqués dans divers processus métaboliques d'un organisme essentielle à sa croissance et développements à savoir ; la photosynthèse, la respiration, la synthèse d'hormones et de protéines. La production de métabolites primaires ce fait généralement à un rythme élevé, Parmi les métabolites Primaires qui existe, les lipides, les glucides et les acides aminés. Ces métabolites sont essentiellement les protéines, les lipides et les glucides (Adetunji et al., 2021).

I.1.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes comportent plusieurs produits chimiques qui appartiennent à différentes familles de métabolites, comme les alcaloïdes, les isoprénoïdes et les composés phénoliques tel que les phénylpropanoïdes et flavonoïdes qui peuvent être une origine importante d'antibiotiques, d'antinéoplasiques, d'analgésiques et d'agents cardioprotecteurs (Pagare et al., 2015 ; Kumar et al., 2021).

En effet, les métabolites secondaires (SM) sont des composés qui ne sont pas nécessaires à la vie d'une plante, cependant jouent un rôle dans les réactions des cellules avec leur environnement. Ces composés sont généralement inclus dans la protection des plantes contre les stress biotiques ou abiotiques (Pagare et al., 2015). Les métabolites secondaires notés comme présents dans la grenad peuvent être résumé en :

- **Polyphénols**

Les composés phénoliques (ou polyphénols) sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout de la phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façons variables selon les végétaux, à partir du préphénate. Les composés phénoliques interviennent dans un grand nombre de processus physiologiques chez la plante et dans les interactions avec leur environnement, leur structure leur conférant des fonctions très spécifiques (Desjardins, 2008 ; Guignard, 2000).

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits. De nombreuses études médicales ont été faites sur les flavonoïdes, ces études ont révélé que ces dernières ont des propriétés thérapeutiques très importantes (activités antivirales, anti-

radicalaires, anti-inflammatoires, antiallergiques, anti-cancéreuses, antioxydante, antibactériennes (Naghbi et al, 2013).

- **Alcaloïdes**

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007).

- **Tanins**

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans plusieurs plantes, leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétrique (Dllaoui, 2021). La pelure de grenade est particulièrement riche en tanins hydrolysables, notamment des gallo tannins et ellagitannins. Une étude publiée dans Frontières in Plant Science révèle que plus de 60 tanins hydrolysables ont été identifiés dans les différentes parties du fruit (pelure, jus, graines), dont plus de 30 sont présents dans la pelure seule. Les punicalagins (isomères α et β) constituent à eux seuls plus de 85 % des tanins totaux de la pelure, accompagnés de punicaline, d'acide ellagique, d'acide gallique et divers glycosides ellagiques (Yoshida et al 2009 ; Joourdes et al 2013).

- **Terpènes**

Le terpène est un composé naturel aux propriétés médicinales variées, présent aussi bien chez les plantes que chez les animaux, Parmi les produits naturels qui interviennent dans les interactions antagonistes et bénéfiques au sein de l'organisme, le terpène joue divers rôles. Il protège de nombreux organismes vivants, tels que les micro-organismes, les animaux et les plantes, des stress abiotiques et biotiques (Gershenzon 2007).

Plusieurs terpènes sont identifiés, notamment des monoterpènes tels que le β -Mycènes et l'*e*-caryophyllène, présents dans les graines à hauteur de 5–15 % pour le β -Mycènes, ainsi que d'autres aldéhydes et alcools volatils comme le 1-hexanol. Ces terpènes contribuent à la complexité aromatique de la grenade et pourraient jouer un rôle dans ses propriétés bioactives. (De Torres et al 2010).

I.1.3. Utilisation médicinale et activités biologiques

Outre ses usages historiques anciens, la grenade, y compris son écorce, est utilisée dans plusieurs systèmes de médecine pour traiter diverses affections. En médecine ayurvédique, la grenade est considérée comme une « pharmacie à part entière » ; elle est utilisée comme antiparasitaire, tonique sanguin (Naqvi et al., 1991) et pour soigner les aphtes (Lad et Frawley, 1986), la diarrhée et les ulcères (Caceres et al., 1987).

En effet, plusieurs études ont montré que les extraits de l'écorce et le fruit complet présentent plusieurs activités biologiques d'intérêt thérapeutiques :

- **Activité anti-inflammatoire**

La grenade et les constituants chimiques sélectionnés isolés du jus, de l'écorce et des graines se sont révélés avoir un large éventail d'effets qui modulent négativement l'inflammation. Certaines inhibent l'expression de la cyclooxygénase -2 (COX-2) et par conséquent la biosynthèse des eicosanoïdes (Schubert et al., 1999 ; Shukla et al., 2008).

D'autre agissent par une suppression synergique de l'expression des cytokines inflammatoires et l'inhibition des métalloprotéinases de la matrice (MMPs) (Okamoto et al., 2004 ; Ahmad et al., 2005 ; Aslam et al., 2006 ; Adams et al., 2006). Ainsi ; il a été démontré que l'extrait de grenade riche en polyphénols inhibe l'expression de IL-6 and IL-8 par la modulation de la voie NF-kB (Zhong X, et al 2014).

- **Activité antioxydante**

Les antioxydants sont fortement présents dans l'extrait aqueux de l'écorce de grenade. Les principaux polyphénols antioxydants présents dans le jus de grenade sont les anthocyanines et les ellagitanins, ces derniers comptent pour 92% de l'activité antioxydant du jus de grenade et ils sont concentrés dans l'écorce (Seeram et al., 2006).

- **Activités anti microbienne**

Il a été décrit que l'accumulation d'ellagitanins et de punicalagines dans l'intestin a modifié le microbiote intestinal ; cette modification a inhibé la croissance des clostridies pathogènes et de *Staphylococcus aureus* sans noter un effet indésirable sur le microbiote intestinal (Bialonska D et al .2009).

- **Activité anti cancéreuse**

Une étude menée sur la lignée cellulaire de cancer colorectal humain HT-29 a rapporté que les composants phytochimiques présents dans la grenade modulent la signalisation cellulaire inflammatoire en inhibant la propagation des cellules cancéreuses et l'apoptose par interférence avec les facteurs de transcription cellulaire et certaines protéines de signalisation (Adams et al., 2006).

I.2. Physiopathologie de l'ulcère gastrique

I.2.1. Anatomie et morpho-histologie

L'estomac (du grec, *gaster*= ventre) est un organe thoraco-abdominal, faisant partie du système gastro-intestinal. Intermédiaire à l'œsophage et au duodénum ; c'est un organe réservoir pourvu d'une musculature puissante et d'une muqueuse à sécrétion abondante. L'estomac a la forme d'un J majuscule comportant deux limites, appelées grande et petite courbure avec une taille variable en raison de la compliance importante de l'estomac. L'estomac comporte quatre régions : le cardia, le fundus, le corps, et le pylore (Figure 2) (Soybel, 2005).

La paroi gastrique a une épaisseur moyenne de 5mm et composée de quatre couches différentes, qui sont disposées de l'intérieur à l'extérieur. Il s'agit de la muqueuse, de la sous-muqueuse, la musculuse externe et la séreuse (Figure 3) (Didier, 2022).

La muqueuse gastrique est la couche tissulaire interne de l'estomac, en rapport direct avec la lumière stomacale. Cette muqueuse comporte un épithélium de surface en monocouche, les cryptes (plis) formés par les invaginations de l'épithélium dans le tissu conjonctif ; le lamina. En plus, la muqueuse comporte une fine couche musculaire lisse qui délimite en profondeur la muqueuse gastrique et forme les replis de la muqueuse sous-jacente et permet les mouvements locaux. Chaque tissu comporte des cellules particulières représentées dans la figure 3.

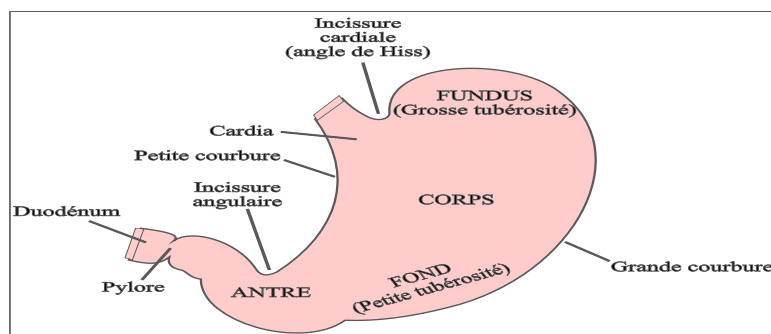


Figure 2. Schéma représentatif des différentes régions de l'estomac (Gray, H,1918)

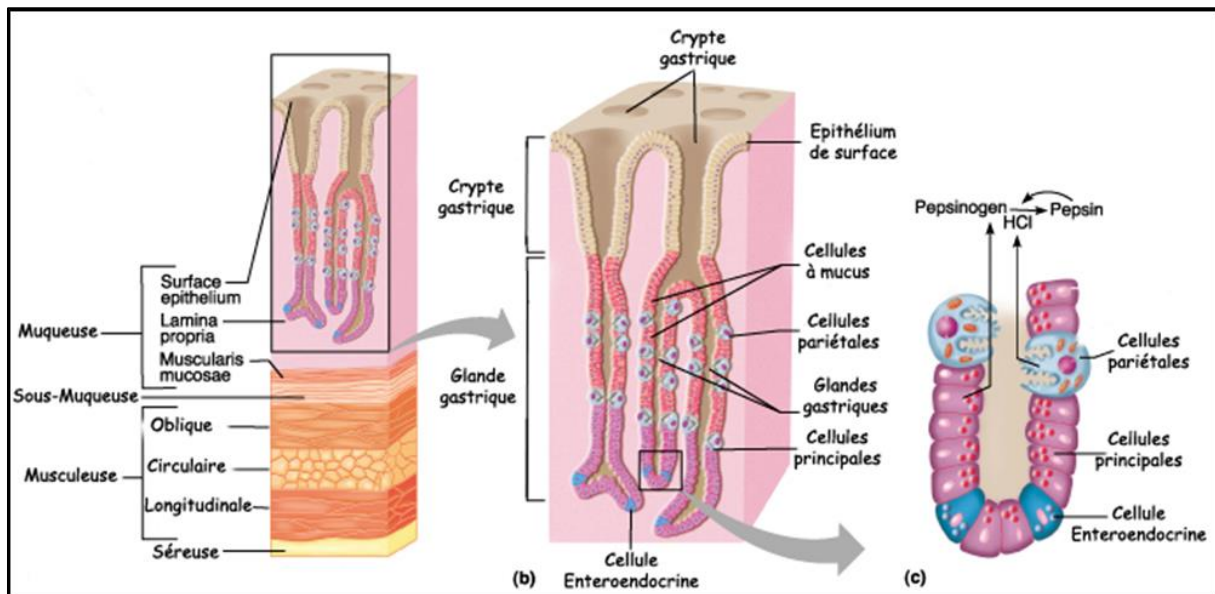


Figure 3. Différentes couches de la paroi gastrique avec les cryptes et glandes gastriques ainsi que les cellules sécrétoires (Didier,2022)

I.2.2. Fonctionnement physiologique de l'estomac

Les fonctions physiologiques assurées par l'estomac sont brièvement :

- Fonction motrice d'acheminement des aliments vers le duodénum,
- Renouvellement de la muqueuse,
- Fonctions exocrine : sécrétion de mucus qui aboutit à la formation d'un lubrifiant et protecteur de la muqueuse gastrique, ce dernier est constitué de : Acide chloridrique HCl, des facteurs intrinsèques (Pepsine, Bicarbonate) ainsi d'autres substances comme la gastrine, histamine et somatostatine.

En effet, le pH gastrique acide est en grande partie assuré par le fonctionnement des cellules pariétales du fundus et du corps gastrique. Ces cellules sont responsables de la sécrétion d'ions H^+ dans la lumière gastrique, créant un gradient de concentration entre le plasma et la lumière de l'estomac. Cette fonction nécessite une forte dépense énergétique, rendue possible grâce à sa riche densité mitochondriale. Dans les conditions physiologiques et en réponse à l'alimentation, la sécrétion gastrique est contrôlée par des mécanismes de stimulations et de freinages, de nature hormonale et nerveuse (Figure 4) (Bado et al., 2011).

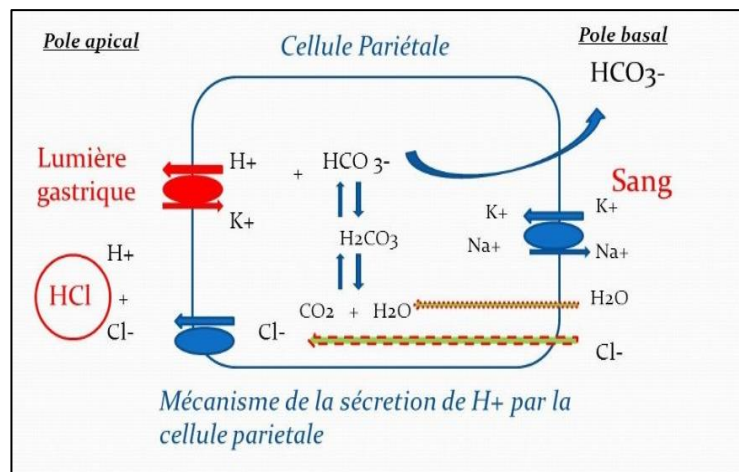


Figure 4. Physiologie de la sécrétion gastrique acide (Bado et al., 2011)

L'estomac assure également les phénomènes de comprotection contre la sécrétion gastrique acido-peptidique, cette protection comporte 3 composantes (Ineu et al., 2008)

- **Pré-épithéliale** : la barrière mucus- bicarbonates est la première ligne de défense. Le mucus s'oppose à la rétrodiffusion des ions H⁺. Les bicarbonates neutralisent les ions H⁺.
- **Epithéliale** : l'épithélium de surface est une ligne de défense principale. C'est une barrière dynamique grâce au renouvellement cellulaire rapide qui nécessite un flux sanguin muqueux de bonne qualité et protège contre l'autodigestion à jeun.
- **Sous-épithéliale** : flux sanguin muqueux qui assure l'apport d'O₂ pour le renouvellement cellulaire. Ces mécanismes de défense sont stimulés continuellement par les prostaglandines.

I.2.3. Physiopathologie de l'ulcère gastrique

I.2.3.1. Définition et prévalence

Les ulcères gastriques sont des pathologies courantes qui touchent un nombre important de personnes dans le monde. Le développement des ulcères gastriques est un processus complexe et multifactoriel, résultant d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs et protecteurs présents dans la muqueuse gastrique (Choi et al., 2009 ; Shaker et al., 2010). De plus, l'augmentation de l'incidence des ulcères gastriques est associée à des facteurs agressifs pour la muqueuse gastrique et qui favorisent le déclenchement des ulcères tels que l'exposition à l'éthanol, le stress, le tabagisme, l'infection à *Helicobacter pylori*, les carences nutritionnelles

et l'ingestion fréquente d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Belaiche et al., 2002 ; Shaker et al., 2010).

Toutefois, La prévalence de l'ulcère gastrique a diminué au cours des dernières décennies. Cependant, cette tendance à la baisse s'est stabilisée ces dernières années en raison de l'évolution des facteurs de risque associés à l'étiologie de l'UGD, tels que la prise des AINS. (Kaijie Ren et al., 2022). Selon une étude menée sur l'examen des caractéristiques épidémiologiques et sociodémographiques de l'UGD entre 1990 et 2019 ; il a été démontré que la prévalence mondiale des UG a augmenté de 25,82 % par rapport à 1990.

En Algérie et à la région de Tiaret, une étude de 2022 sur des patients souffrant de pathologies gastroduodénales a révélé que 43,7 % étaient infectés par *H. pylori*. Ainsi qu'une autre étude sur 735 patients endoscopes de 2002 à 2017, la prévalence était de 66,1 %, avec un pic à 71,4 % chez les 60–69 ans, et plus élevé chez les femmes (Randria, 2007).

I.2.3.2. Physiopathologie

La lumière gastrique est fortement acide, avec un $\text{pH} \approx 1$, Cet environnement hostile contribue à la digestion mais aussi au potentiel d'endommager la muqueuse. Multiples mécanismes de protections de la muqueuse gastrique dont le mucus sécrété par les cellules de surface empêche les grosses particules alimentaires de toucher directement l'épithélium. et la couche de mucus favorise également la formation d'une couche de liquide « non agitée » sur l'épithélium qui protège la muqueuse et a un pH neutre en raison de la sécrétion d'ions bicarbonate par les cellules épithéliales de surface et autres mécanismes de défense (Figure 5). (Forsell, 1988 ; Shaker et al., 2010).

L'ulcère gastrique peut survenir après une perturbation de l'un de ces mécanismes de protection. Par exemple, la réduction de la synthèse de mucus et de pepsine chez les personnes âgées est un facteur qui explique leur susceptibilité accrue à la gastrite (Shaker et al., 2010).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent interférer avec la cytoprotection normalement fournie par les prostaglandines ou réduire la sécrétion de bicarbonate, ce qui augmente la susceptibilité de la muqueuse gastrique aux blessures. L'hypoxie et la réduction du flux sanguin causées par la vasoconstriction splanchnique induite par le stress contribuent également à la pathogenèse aiguë de l'ulcère (Khan et al., 2023).

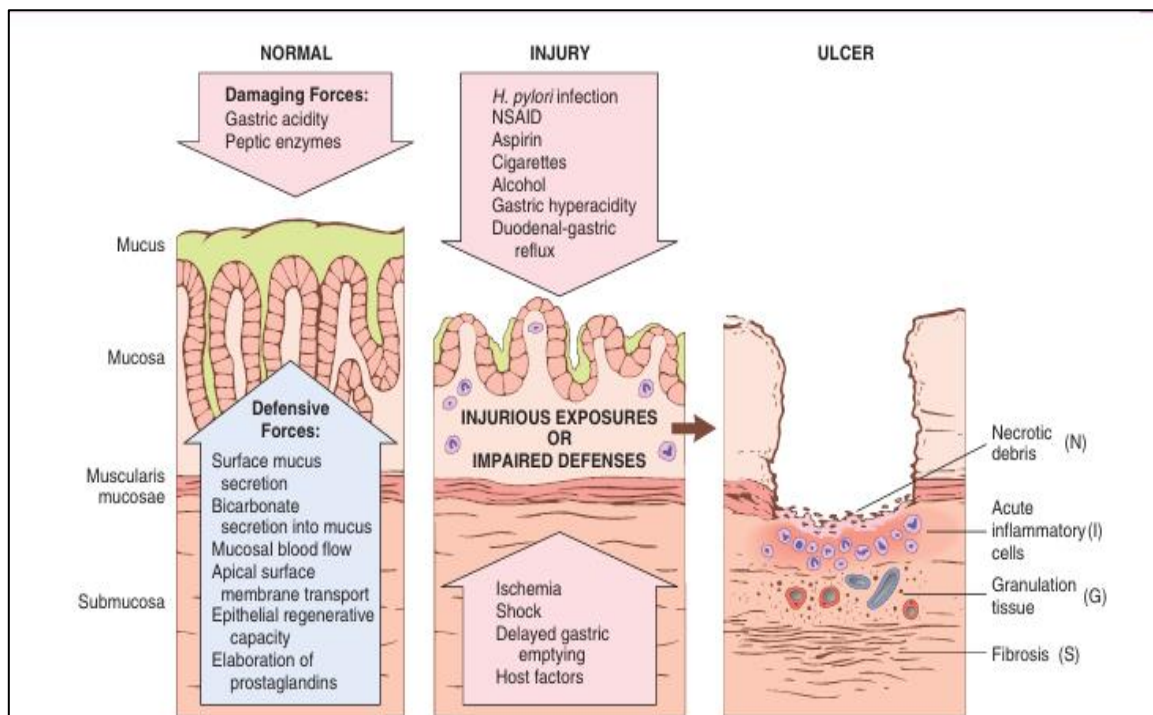


Figure 5. Pathogenèse de l'ulcère gastrique (Kumar, 2021)

Histologiquement, l'ulcère gastrique est une perte de substance à bords nets interrompant la muqueuse, la musculaire, et la musculeuse, suivi d'un retroussement de la musculeuse vers la muqueuse. L'importance de la lésion dépend de l'âge de l'ulcère (Bernier, 1987). À l'examen histologique plusieurs cas peuvent être enregistrés :

- En cas d'une gastrite aiguë : Le chorion ne présente qu'un œdème modéré et une légère congestion vasculaire. L'épithélium de surface est intact, bien que des neutrophiles dispersés puissent être présent au-dessus de la membrane basale, ce qui signifie une inflammation active.
- Avec des lésions muqueuses plus graves : une érosion ou une perte de l'épithélium superficiel peut survenir, entraînant la formation d'infiltrats neutrophiles muqueux et d'exsudats purulents. (Mills, 2011)
- Une hémorragie peut également survenir, se manifestant par un point sombre dans une muqueuse autrement hyperémique. La présence concomitante d'érosion et d'hémorragie est appelée *gastrite hémorragique érosive aiguë*. (Malfertheiner et al., 2009)
- Les lésions décrites comme des ulcères gastriques aigus varient en profondeur : allant d'érosions superficielles causées par des lésions épithéliales superficielles à des lésions plus profondes qui pénètrent dans la muqueuse.

- Les ulcères aigus sont généralement ronds de moins de 1cm avec une base souvent brun6noir due à la digestion des GR par l'acide peuvent être multiple et s'accompagne d'une inflammation transmrle et d'une sérosité locale. Contrairement aux ulcère chronique ils ne montrent ni fibrose ni épaissement vasculaire la guérison aura lieu après disparition de l'agent causale (**Polk et Peek,2010**).

I.2.3.4. Traitement des ulcères

Le traitement repose sur plusieurs stratégies selon les cas ; la démarche peut être :

- **Traitement médicamenteux**

Repose sur différentes classes pharmacologiques tels que les Inhibiteurs de la pompe à proton (IPP), les antiacides, antihistaminique (H2) pour réduire la sécrétion du suc gastrique (acide), les antibiotiques pour lutter à l'infection par *Helicobacter Pylori* (**Tack,2014 ; Coulibaly,2020 ; Heluwaert, 2022**).

- **Traitement médicamenteux**

Le recourt à la chirurgie est de plus en plus rare en raison de l'efficacité du traitement médical, elle est Indiquée en cas de perforation, hémorragie massive ou sténose résistante à la dilatation. (**Calvo ,2006 ; Mutter,2007**).

Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

II. 1. Matériel biologique

II. 1. 1. Matériel végétal

14 Kg de grenade des chambres froides a été achetée en mois de janvier, ramenés de la région de wilaya de Mascara à Dely-brahim Alger. Après rinçage avec l'eau du robinet, l'ensemble des fruits a été épluché soigneusement en enlevant le mésocarpe et les graines, puis l'écorce a été mis stockée dans une chambre aérée avec température ambiante pour séchage pendant une semaine. Une fois séchée, l'écorce a été pesé (906g) puis moulue dans un broyeur professionnel en acier inoxydable pour l'obtention d'une poudre et encore pesé en état de poudre avec l'enlèvement de tous les impuretés (764g) (**Figure 6**).



Figure 6. Ecorce de grenade après une semaine de séchage

II. 1. 2. Rats

Les expériences in vivo ont été menées sur des rats de la souche *Albinos Wistar*. Les animaux provenaient de l'institut Pasteur d'Alger, et acclimatés au sein de l'animalerie du l'agence nationale des produits pharmaceutiques dans des conditions standards (température de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, cycle lumière/obscurité 12 h/12 h) pendant une période de 6 semaines avant l'étude afin d'assurer leurs croissances et de s'adapter à leur nouvel environnement, les rats ont été entretenus dans des cages munies d'un porte-étiquette où est mentionné le nom du lot. Ils avaient libre accès à la nourriture et à l'eau. Leur litière était renouvelée tous les deux jours.

L'ensemble de cette expérimentation a été menée dans le strict respect des considérations éthiques relatives à l'utilisation des animaux à des fins scientifiques. Conformément au principe des 3R (Remplacement, Réduction, Raffinement), toutes les mesures ont été prises pour

minimiser le nombre d'animaux utilisés, limiter leur souffrance et optimiser les conditions de vie tout au long de l'étude.

II. 2. Matériel non biologique et appareillage

Les réactifs chimique et l'appareillage de bonne qualité ont été utilisés durant la réalisation de cette étude, l'ensemble est résumé en **Annex I**.

II. 2. Méthodes

II.2.1. Observation macroscopique et microscopique de la poudre de *Punica granatum*

L'analyse microscopique et macroscopique de l'écorce de PG a été réalisé au laboratoire de botanique médicale de la faculté de pharmacie d'Alger.

Une quantité de poudre a été prélevée à l'aide d'une spatule stérile, Ensuite, un petit échantillon a été transféré dans un verre a montré pour procéder aux observations. L'échantillon a été placés sous une loupe binoculaire afin d'effectuer une observation visuelle détaillée de la poudre.

Une observation au microscope a été également réalisée. L'échantillon de poudre a été observé entre lame et lamelle après addition d'eau physiologique, d'alcool suivi de chauffage, et d'hydrate de chloral suivi de chauffage

L'objectif de cette étape était d'examiner la contamination potentielle de l'échantillons à une échelle macroscopique, en recherchant des anomalies visibles.

II.2.2. Extraction du matériel végétal

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyse situé au Bloc C de la faculté de biologie à l'université de Saad Dahleb Blida en mois de février pendant une semaine.

L'extraction hydroalcoolique de la poudre d'écorce de PG a été réalisée à l'aide d'un extracteur Soxhlet. 25g de poudre d'écorce de PG a été pesé et placée dans une cartouche de Soxhlet en papier filtre ; puis 125ml d'eau distillé et 375 ml d'éthanol ont été mélangés dans un ballon de Soxhlet, après montage de l'appareil et réchauffement du ballon ; la procédure a duré quatre heures en sept cycles à une température correspondant au point d'ébullition.

L'extrait obtenu a été mis dans un évaporateur rotatif, où la température du bain-marie a été maintenue à 70°C. L'évaporation a été poursuivie jusqu'à l'élimination complète du solvant, laissant des résidus d'eau distillée qui a ensuite été évaporé dans l'étape de séchage en étuve à

70°C pendant 3 jours. Après séchage, l'extrait sec a été gratté et stocké dans des Eppendorf à l'abri de la lumière au réfrigérateur jusqu'à son utilisation ultérieure.

L'extrait résultant est un extrait hydroalcoolique de l'écorce de PG de couleur marron foncé ayant une texture cireuse. L'extrait final a été pesé pour calculer le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction en (\%)} = \frac{E1}{E0} \times 100$$

Avec : E1 : masse de l'extrait sec obtenu (g), E0 : masse de la prise d'essai de départ (g).

II.2.3. Test de solubilité de l'extrait

Avant l'utilisation de l'extrait de *Punica granatum* pour les essais sur les animaux, un test de solubilité a été réalisé afin d'évaluer sa capacité à se dissoudre dans un véhicule approprié et de vérifier si l'extrait était naturellement hydrosoluble ou s'il nécessitait l'ajout d'un agent dispersant tel que le Tween 80.

Une petite quantité de l'extrait sec mesuré à l'aide d'une balance analytique a été ajoutée dans l'eau physiologique stérile dépourvue de contaminants, et adaptée pour l'administration par voie orale chez les rats et qui ne contient aucun additif susceptible d'interférer avec les effets pharmacologiques de l'extrait étudié.

II.2.4. Analyse phytochimique

L'analyse phytochimique de l'extrait et de la poudre de *Punica granatum* a été réalisée au laboratoire de Botanique de l'Université d'Alger 1.

II.2.4. 1. Analyse qualitative

○ Les polyphénols

L'identification des polyphénols repose sur la capacité des groupements phénoliques à former des complexes colorés en présence de chlorure ferrique (FeCl₃).

Pour ce test, 200 mg de poudre d'écorce de *Punica granatum* ont été extraits à l'aide de 6 ml d'acétone et 2 ml d'eau distillée. Le mélange a été chauffé au bain-marie à 60 °C pendant 5

minutes, puis refroidi et filtré. Quelques gouttes de solution de FeCl_3 à 10 % ont été ajoutées au filtrat (Vennila, 2011).

L'apparition d'une coloration bleu-noir confirme la présence de composés polys phénoliques

- **Les flavonoïdes**

La détection des flavonoïdes repose sur la réaction à la Cyanidine (Diallo et al. 2004), basée sur la réduction des noyaux flavonoïdiques par le magnésium métallique en milieu acide, entraînant la formation de colorations caractéristiques.

Pour la préparation de l'extrait alcoolique, 300 mg de poudre d'écorce de *Punica granatum* ont été mélangés à 5 ml d'éthanol. Le mélange a été chauffé au bain-marie à 65 °C pendant 15 minutes, puis filtré à chaud.

Au filtrat, 1 ml d'eau distillée, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) et une rognure de magnésium métallique ont été ajoutés. Le tube a été placé dans un bécher contenant de l'eau froide pour éviter une élévation excessive de la température.

L'apparition d'une coloration orange indique un résultat positif et confirme la présence de flavonoïdes dans l'extrait.

- **Les tannins**

Le test repose sur la réaction de Stiasny, qui permet de détecter les tanins catéchiques par formation d'un précipité floconneux en présence d'HCl et de formol.

600 mg de poudre ont été extraits avec 18 ml d'acétone et 6 ml d'eau distillée, chauffés au bain-marie à 60 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement et filtration, 15 ml de filtrat ont été mélangés au réactif de Stiasny contenant 1 volume d'HCl concentré et 2 volumes de formol à 30 %. Le mélange a été chauffé 10 min au bain-marie. (Dohou et al. 2003) modifié.

L'apparition de flocons blancs indique la présence de tanins catéchiques.

- **Les monoterpènes (réaction Lieberman-Bouchard)**

Les iridoïdes réagissent avec un acide fort à la chaleur en formant un précipité noir.

5 g de poudre ont été décoctés dans 100 ml d'eau distillée sur plaque chauffante pendant 1 heure. Après filtration, 1 ml d'HCl concentré a été ajouté au filtrat, puis le mélange a été chauffé

au bain-marie. L'apparition d'un précipité noir indique la présence d'iridoïdes. (Wagner et al.1984)

- **Les triterpènes**

Les triterpènes réagissent avec l'acide sulfurique concentré en présence de chloroforme, formant un anneau rouge brunâtre à l'interface.

Un mélange de 20ml d'éther éthylique et 2g a été macéré pendant 12hr puis après filtration on complète à 20ml d'éther éthylique. Ensuite 0,5ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique a été ajouté au filtrat ; l'apparition d'un anneau rouge brunâtre indique une réaction positive au triterpène. (Ganesh et al, 2011)

- **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes, composés azotés basiques, réagissent avec des réactifs spécifiques (Mayer, Bouchardat, Dauendorf) pour former des complexes insolubles qui précipitent, indiquant leur présence.

1 g de poudre de plante a été mélangé dans 10 ml d'éthanol à 70 %. Le mélange a été réparti dans trois tubes :

À chacun des tubes, quelques gouttes des réactifs suivants ont été ajoutées (Tiwari et al., 2011).

Réactif de Dauendorf : l'apparition d'un précipité orange à brun-rouge indique une réaction positive.

Réactif de Mayer : l'apparition d'un précipité blanc témoigne de la présence d'alcaloïdes.

Réactif de Bouchardat : un précipité brun foncé ou rouge brun indique une réaction positive

II.2.4. 2. Analyse quantitative

- **Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait hydroalcoolique de PG a été déterminée selon la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu décrite par Vijayalakshmi et al., 2021. 200 µl de l'extrait à une concentration de 2 mg/ml dilué a été mélangé à 1 ml de réactif de Folin–Ciocalteu dilué (1 :10) et incubée pendant 5 minutes à température ambiante. Ensuite, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 7,5 %) ont été ajoutés. Le mélange a

été incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes dans un bain marie à 40°C. L'absorbance a été mesurée à 760 nm au spectrophotomètre (UV visible Dlab). Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec des concentrations croissantes d'acide gallique (allant de 1 à 0,007mg/ml), et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent acide gallique par millilitre d'extrait (mg EAG/ml).

○ Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été évaluée par la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl_3 2%) selon **Vijayalakshmi et al., 2021**. Un volume de 1 ml d'extrait [2mg/ml] a été mélangé avec 1ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2 %. Le mélange a été incubé à l'abri de la lumière pendant 10 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Une courbe étalon a été réalisée à partir de solutions de quercétine diluée de (0,1 à 0,007mg/ml), et les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine par millilitre d'extrait (mg EQ/ml).

○ Activité antioxydante

Le pouvoir antiradicalaire de l'extrait a été testé par la méthode du DPPH comme indiqué dans le protocole décrit par Wang et al, 2008 avec modification. Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 4 mg de ce dernier dans 100 ml de méthanol. 750 μL d'extraits à différentes concentrations allant de 0,5 à 0,0004 mg/ml et de l'acide ascorbique (vitamine C) diluée à la même concentration sont introduits dans des tubes à essai. Puis 1,5ml de DPPH a été ajouté, Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance (A) a été mesurée à $\lambda = 517$ nm contre un blanc contenant un volume de DPPH concentré. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la relation suivante (**Kachkoul R et al, 2019**).

II.2.5. Étude de la toxicité de l'extrait

II.2.5. 1. Démarche expérimentale

Pour le test de la toxicité aiguë et selon la ligne directrice de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE, n°425, (2022), l'expérience a été pratiquée sur des rats de souche *Albinos Wistar* femelles âgées de 8 à 12 semaines d'un poids qui varie entre 140g et 190g.

Le choix de l'essai limite a été pris en raison de l'existence des informations indiquant que l'extrait de l'écorce de PG est classé en catégorie non toxique. Selon un rapport du Cosmetic

Ingredient Review, l'administration orale d'extraits de fruit de PG chez le rat et la souris à des doses allant jusqu'à 5000 mg/kg n'a entraîné aucune mortalité ni effet toxique observé (**Wilma et al 2019**). L'extrait administré a été préparé à 2000 mg/kg selon le poids de chaque rate, et dissous dans de l'eau physiologique stérile et mis dans des seringues de 5ml pour le gavage.

La dose expérimentale a été administrée par gavage à l'aide d'une sonde intragastrique dans un volume de 2ml/100g à la première rate, Après 48heure l'animal a survécu, quatre animaux supplémentaires ont été traité par la même dose suivant une séquence, de telle sorte qu'un total de cinq animaux soit testé sous une observation continue de signes de toxicité et mortalité pendant 14 jours pour tout l'ensemble des rates.

Au quinzième jour de l'expérience, après une période de jeûne de 24 heures, les sept rats ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale de kétamine (100 mg/ml), permettant un prélèvement sanguin par voie oculaire. L'euthanasie a ensuite été réalisée par administration intrapéritonéale d'une dose létale de thiopental sodique (150 mg/ml). (**Brito, C. F et al.; 2020**) Ensuite les organes ont été prélevé à savoir le foie, la rate, l'estomac, le cœur, les poumons et les reins et fixé dans du formol à 10% en vue d'analyse histologique ultérieure .

II.2.5.2. Signes de toxicité et score

Les signes cliniques qui ont été observés sont :

Activité somato- motrice, diarrhées et vomissements, sécrétion (larme, salive), sensibilité aux stimuli et pilo-érection. Ils ont été gradés selon l'échelle suivante :

0 = Aucun signe. 1 = Signes légers 2 = Signes modérés 3 = Signes sévères

II.2.5.3. Signes de toxicité et score

Les paramètres biochimique et hématologique dosés par technique colorimétrique et suivant les instructions des fournisseurs des kits de dosage. Les paramètres sont les suivants :

- **Hématologique** : Globules blancs (GB) ; Globules rouges (GR) ; Hémoglobine (Hb) ; Hématocrite (Ht) ; Volume globulaire moyen (VGM) ; Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ; Indice de distribution des globules rouges (IDR-CV) ; Plaquette ; Volume moyen plaquettaire (VMP) ; Indice de distribution des plaquettes (IDP) ; Pourcentage de granulocytes polynucléaires neutrophiles (PN) ; Lymphocytes

- **Biochimique** : Aspartate aminotransférase (**ASAT**) ; Alanine aminotransférase (**ALAT**) ; Glycémie ; Protéines totales (**PT**) ; Urée ; Phosphatase alcaline (**PAL**).

II.2.6. Étude de l'effet de PG chez un modèle expérimental de l'ulcère gastrique

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de l'Institut Pasteur, au sein de l'animalerie de l'Agence Nationale de Produits Pharmaceutiques (ANPP) au mois de mai.

II.2.6. 1. Induction expérimental de l'ulcère gastrique

Un jeûne a été imposé aux rats pendant 24 heures avant l'expérimentation, avec accès libre à l'eau. L'ulcère gastrique a été induit par administration orale d'un AINS : le diclofénac à raison de 80mg/kg. Les rats ont été répartis sur cinq lots de cinq rats chacun, résumé en **tableau II**. Cette partie a concerné 25 rats males adultes de souche *Albinos wistar* pesant entre 160 et 240 g, âgés de 10 semaines.

Tableau II. Répartition des lots des rats de l'essai de l'activité antiulcéreuse

Dénomination du lot	Intervention
Groupe 01 : Témoin sain	Administration de 1ml de l'EPPI
Groupe 02 : control positif	Induction d'ulcère par le diclofénac 80mg
Groupe 03 : traitement low dose 1000mg/kg	Traitement par extrait de PG 1heure avant l'Induction d'ulcère par diclofénac
Groupe 04 : traitement high dose 1500 mg/kg	Traitement par PGE 1heure avant l'Induction d'ulcère par diclofénac
Groupe 05 : control négatif (Médicament de référence)	Administration de l'oméprazole 40mg/kg 1heure avant l'induction d'ulcère par diclofénac 80mg

Quatre heures après l'administration du diclofénac, les 25 rats ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale de kétamine 100mg/Kg qui permet l'analgésie et la sédation des rats afin de réaliser un prélèvement de sang par ponction oculaire et éviter la souffrance de l'animal. Le sang a été récupéré et réparti dans des tubes : EDTA pour les analyses hématologiques réalisé le jour même au laboratoire d'analyse médicale PRECIS LAB situé à Chéraga-Alger. Et des tubes héparinés pour les analyses biochimiques, ces derniers ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes puis le plasma a été récupéré dans des micro tubes et conservé au congélateur -20°C jusqu'à l'analyse.

L'euthanasie et le prélèvement d'organe a été effectués comme suivant ; une dose létale de thiopental 150mg/kg a été administrée par voie intrapéritonéale, puis après l'ouverture de la cavité abdominale les estomacs ont été ligaturés à l'aide d'un fil chirurgical des deux extrémités, l'œsophage et le pylore et ont été retirés, ensuite une incision a été pratiquée le long de la petite courbure et rincé à l'eau physiologique pour éliminer le contenu gastrique et les caillots sanguins.

II.2.6.2. Mesure des paramètres gastriques

❖ Evaluation macroscopique de la muqueuse gastrique

L'estomac de chaque rat a été retiré et étalé sur une surface et maintenu à l'aide d'aiguilles, et la muqueuse tournée vers le haut. Ils ont été examinés à la loupe afin d'évaluer la formation d'ulcères.

❖ Mesure de pH gastrique

Après retrait de l'estomac le suc gastrique a été aspiré à l'aide d'une seringue et recueilli dans un tube sec, en raison du faible volume obtenu, le pH gastrique de chaque rat a été mesuré avec les bandelettes de pH.

II.2.6.3. Étude histologique

L'étude histologique a été faite au niveau du laboratoire de Service cytologique du CHU Pr NEFFISSA-HAMOUD D'Hussein Dey à Alger, Au mois de mai. Le protocole utilisé pour cette étude passe par plusieurs étapes et s'enchaînent :

1- Fixation des organes

Les estomacs prélevés de chaque rat sont lavés à l'eau physiologique coupé par la petite courbure puis plongé dans des tubes en verre remplie de formol à 10% qui permet la conservation des constituants tissulaires et cellulaires de L'organe.

Après 48hr de fixation nous avons effectué des coupes transversales et longitudinale des différentes parties de l'estomac puis mis dans des cassettes identifiées par nom de lot et numéro de rat.

2- Lavage et déshydratation

Les cassettes sont rincées dans l'eau courante pendant deux heures ; puis placées dans l'automate pour la déshydratation, successivement dans 6 bains d'alcool de concentration croissantes comme suit : 2 bains de 70% ; 2 bains de 90% ; 2 bains de 96% puis dans deux bains de xylène.

3- Imprégnation à la paraffine

Les échantillons contenus dans les cassettes sont imprégnés dans deux bains de paraffine deux heures pour chacun.

4- L'inclusion et confection de bloc

La pièce à inclure est introduite dans le moule rempli de paraffine ensuite la cassette de la pièce est installé dans le moule en versant la paraffine sur elle, puis on la laisse refroidir et solidifie afin d'obtenir un bloc.

5- Micromisation et étalement des coupes

Les blocs solidifiés sont coupés à l'aide d'un microtome d'une épaisseur de 5µm, les rubans obtenus sont déposés dans un bain marie 40C° puis chaque lame identifiée est plongée dans le bain marie pour récupérer délicatement les coupes. Les lames étalées sont ensuite placées dans l'étuve pendant 48 heures.

6- Coloration

Deux colorations ont été faites :

L'Hématoxyline Éosine qui consiste à : Colorer à l'Hématoxyline pendant 2min, puis laver pendant 2min ; cette étape permet de colorer en bleu-violet les noyaux cellulaires, et Colorer à l'éosine pendant 30 secondes, puis laver pendant 1min ; cela permet de colorer en rose les constituants cytoplasmiques et fibres extracellulaires.

Trichrome de Masson : Afin de différencier les fibres de collagènes qui seront coloré en bleu-vert. En plongeant les lames dans des bains d'hématoxyline puis dans la fushine suivie de colorant vert de lumière.

Les lames préparées ont ensuite été examinées au microscope optique à différents grossissements afin d'évaluer les structures histologiques de manière détaillée. Cette étape a été réalisée au laboratoire privé d'anatomie pathologique Dr BENCHARIF à Bouzareah-Alger pour l'ensemble des groupes expérimentaux, y compris les groupes témoins et traités. Pour chaque lame, plusieurs champs ont été observés, et les images les plus représentatives ont été sélectionnées. Une image de référence par groupe a ainsi été retenue, illustrant au mieux les caractéristiques histopathologiques observées. À l'issue de ces observations, un compte rendu descriptif a été rédigé pour chaque groupe, mettant en évidence les éventuelles altérations tissulaires, les différences morphologiques et les éléments comparatifs entre les groupes.

II.2.7. Étude statistique

Pour réaliser les analyses statistiques, le logiciel R Commander version 4.4.1 a été utilisé afin de faciliter la manipulation des données et l'application des tests appropriés. Dans un premier temps, la normalité des distributions a été vérifiée afin de déterminer l'utilisation de tests paramétriques ou non paramétriques. Lorsque les données suivaient une loi normale, l'homoscédasticité des lots a été vérifiée, ensuite les moyennes des lots ont été comparés. Cette démarche garantit la validité des résultats en adaptant la méthode statistique aux caractéristiques des données.

Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'observation macroscopique et microscopique

L'observation macroscopique n'a pas montré des anomalies limitant son utilisation expérimentale. De même, l'observation microscopique a montré l'existence des composés naturellement présente dans cette poudre végétale (**Figure 7 et Tableau III**).

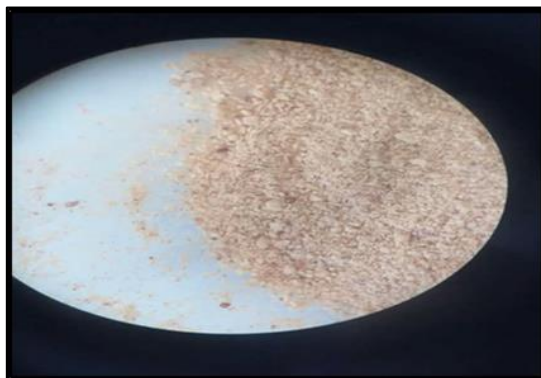


Figure 7. Observation macroscopique de la poudre PG

Tableau III. Observation microscopique de la poudre de PG

Fibre cellulosique	Cristaux et macles d'oxalate de calcium, et sclérite	Grains d'amidons
		
Sclérite	Vaisseau de conduction	Cellule scléreuse
		

III.2. Résultats de l'extraction et de l'analyse phytochimique

III.2.1. Solubilité et rendement

L'extrait obtenu a montré une solubilité complète au bout de cinq minutes, indiquant une bonne solubilité dans l'eau. Cette rapidité de dissolution témoigne la nature hydrosoluble de l'extrait.

Le rendement d'extraction de l'écorce a été calculé en rapportant la masse d'extrait sec obtenue à la masse initiale de poudre végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction en (\%)} = \frac{4,9}{25} \times 100$$

Donc soit 4,9g est la masse d'extrait sec obtenue et 25g est la masse initiale de la poudre, le rendement de l'extraction é été de 19,6%. Il est très difficile de juger ce rendement car les conditions expérimentales de l'extraction ont été très adaptées à la disponibilité et à la qualité de l'appareillage utilisé.

III.2.2. Composition phytochimique de l'extrait

Les résultats obtenus de l'analyse qualitative de l'extrait sont résumés dans le tableau ci-dessus :

Tableau IV. Résumé des résultats de la phytochimie qualitative

Composés bioactifs		Résultat	Observation
Polyphénols		+	Coloration bleu-noir réaction au FeCl ₃
Flavonoïdes		-	Pas de coloration orange
Tanins		+	Précipitation sous forme de flocon blanc
Monoterpènes		+	Formation de précipité noir
Triterpènes		-	Pas de précipité noir
Alcaloïdes	Dragendorff	+	Précipité orange ou brun-rouge
	Mayer	-	Pas de précipité blanc
	Bouchardat	+	Précipité brun foncé ou rouge-brun

(+) : présence (-) : absence

L'analyse quantitative des flavonoïdes, polyphénols et l'activité antioxydante a été établie pour l'extrait et en se basant sur les courbes d'étalonnage relatives à ces tests, résumé en

Annexe.

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait d'écorce a été de **0,171 mg/ml** d'équivalents quercétine (**mg EQ/ml**) soit **0,217 mg/g (EQ)**. Tandis que les résultats obtenus ont montré que la teneur totale en composés phénoliques est à une concentration de **8,917 mg/ml (mg EAG/ml)**, soit 52,43 $\mu\text{mol/g}$ (EAG) et **11,3 mg/g (EAG)**.

La teneur en polyphénols totaux obtenue par notre extrait, estimée à 8,917 mg/ml, se distingue par sa richesse significative par rapport à l'étude **Nebabche et al (2020)**, qui a rapporté une valeur de 2,94 mg/ml pour son extrait d'écorce de grenade. Cette différence notable peut être liée à plusieurs paramètres notamment le type de solvant et extraction utilisé, mais aussi à la concentration finale de l'extrait. Ainsi notre extrait a révélé une teneur de flavonoïdes à 0,171 mg/ml, légèrement inférieure à celle observée dans la même étude, qui était d'environ 0,269 mg/ml.

Par ailleurs, une étude menée par **Mannan (2013)** sur une variété iranienne de grenadier a mis en évidence une teneur en polyphénols encore plus importante, atteignant 15,19 mg EAG/ml. La teneur totale en flavonoïdes rapportée par **Mabrouk et al (2019)** qui ont mesuré une teneur de d'extrait éthanolique d'écorce de grenade est 82,33 mg/g (soit 0,165 mg/ml) ce qui est comparable à celle obtenue dans notre extrait est de 0,171 mg/ml.

Toutefois, la concentration d'extrait de l'écorce ainsi que l'acide ascorbique était de 0.5mg/ml, et le pourcentage d'inhibition de l'extrait est de 95%, et celui de l'acide ascorbique est de 97 %. Nous avons trouvé la valeurs d'IC₅₀ de notre extrait égales à 0,0016mg/ml et l'IC₅₀ de notre référence (l'acide ascorbique) 0.0017mg/ml.

Selon les résultats d'une étude publiée dans Scientific journal par **(Parisi.V et al.,2022)**, Une activité anti-radicalaire frappante (77 %) à 1 mg/ml. La concentration de l'extrait qui peut capturer 50 % des radicaux libres DPPH (IC₅₀) a également été déterminée. L'IC₅₀ de PGE été de 0,108 mg/ml comparables à celle de l'étalon de référence acide ascorbique (IC₅₀ = 0,082 mg/m), suggérant leur efficacité antioxydante.

Cette étude révèle une activité antioxydante exceptionnelle de l'extrait d'écorce de grenade, avec une IC₅₀ de 0,0016 mg/ml, et un taux d'inhibition de 95% à 0,5 mg/ml, des valeurs très proches de celles de l'acide ascorbique (IC₅₀ =0,0017 mg/ml, 97% d'inhibition). Ces résultats contrastent fortement avec ceux de l'étude de référence où le PGE présentait une IC₅₀ plus élevée (0,108 mg/ml) et une inhibition moindre (77% à 1 mg/ml). La référence montrait également un écart plus important entre l'extrait et l'acide ascorbique (IC₅₀ 0,082

mg/ml). L'extrait donc démontre ainsi une puissance antioxydante supérieure à celle rapportée dans la littérature, pour des concentrations testées plus faibles car la valeur IC₅₀ plus basse implique une activité antioxydante plus élevée.

III.3. Résultats de la toxicité aiguë de l'extrait

III.3. 1. Perte de l'animal

Aucun décès n'a été observé chez les rats femelles traités avec l'extrait d'écorce de PG durant les 14 jours d'observation. En l'absence de mortalité à la dose administrée, on peut conclure que la DL₅₀ orale est supérieure à 2000 mg/kg, conformément aux lignes directrices de l'OCDE 423.

Ces résultats sont en accord avec une étude de [Riaz et al., 2018](#) qui a montré que l'extrait aqueux de l'écorce n'a entraîné aucune mortalité ni signe de toxicité visible jusqu'à 5000 mg/kg, indiquant une DL₅₀ > 5000 mg/kg, ainsi que [Jafri et al., 2000](#) ont rapporté une DL₅₀ supérieure à 2000 mg/kg chez des souris traitées avec un extrait méthanolique de l'écorce, sans effet indésirable majeur.

III.3. 2. Suivi des signes cliniques de toxicité

III.3. 2.1. Suivi de poids

L'évolution du poids corporel des animaux traités avec l'extrait d'écorce à une dose de 2000mg/kg a été suivie pendant 14 jours. Le poids a été évalué dans cette étude car une perte de poids significative peut indiquer un effet toxique, une altération du métabolisme ou une diminution de l'appétit. Dans la présente étude, les rats ayant reçu l'extrait d'écorce de PG n'ont présenté aucune perte de poids notable durant les 14 jours d'observation. Ainsi, l'absence de variation significative du poids corporel soutient l'innocuité de l'extrait à court terme, et confirme qu'il peut être utilisé sans provoquer d'effets délétères apparents dans les conditions expérimentales de l'activité antiulcéreuse (**Figure 8**).

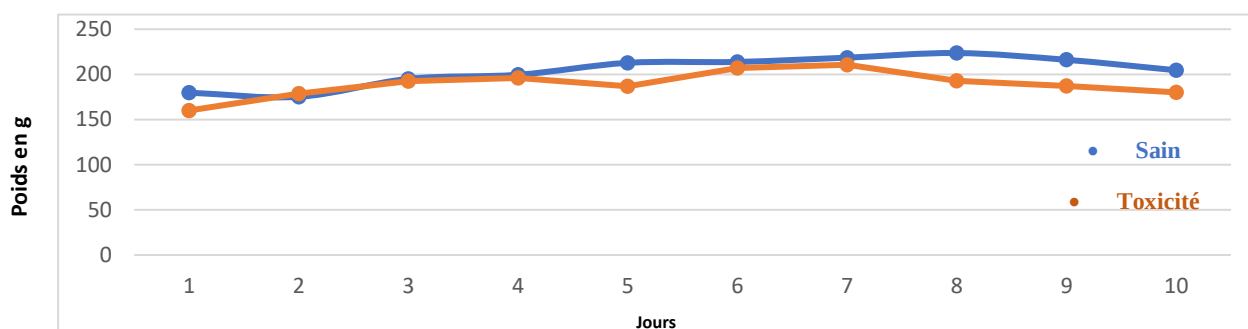


Figure 8. Évolution du poids au cours de test de toxicité

III.3. 2.2. Signes cliniques

L'ensemble des résultats montre une absence totale de manifestations cliniques chez tous les rats du lot traité. Aucune diminution de l'activité motrice ou une hyperactivité, ni troubles digestifs ou sécrétion ou hypersensibilité aux stimuli n'ont été relevés. De même, aucun signe de piloérection n'a été observé. Ce profil clinique sain suggère que PG n'induit pas d'effets toxiques comportementaux ou neurophysiologiques dans les conditions expérimentales de cette étude (**Tableau VI**).

Tableau VI. Tableau de moyenne des signes cliniques observés chez les rats durant les 14 jours de l'étude de toxicité aiguë

Signe clinique	Moyenne
Activité somato-motrice	0
Diarrhée / vomissement	0
Sensibilité au stimulus	0
Sécrétion (larme, salive)	0
Piloérection	0

III.3. 2.3. Histopathologique de l'activité toxicologique

L'analyse histologique comparative des groupes témoin sain et traités à la dose testée 2000mg/kg révèle une intégrité tissulaire préservée dans tous les organes examinés (**Figure 9**).

- **Foie** : Architecture lobulaire normale, avec hépatocytes bien organisés autour des veines centro-lobulaires, sans stéatose, nécrose ou infiltrat inflammatoire. Les espaces portes sont indemnes de fibrose ou de cholestase. Le maintien de l'intégrité hépatocytaire suggère une absence de stress oxydatif ou de perturbation des cytochromes, essentiels au métabolisme des xénobiotiques.
- **Rein** : Glomérules de taille et cellularité normales, tubules contournés proximaux et distaux intacts, absence de cylindres ou de lésions tubulo-interstitielles. La préservation des structures glomérulaires et tubulaires indique une filtration et une réabsorption normales, sans atteinte de la fonction d'élimination.
- **Estomac** : Muqueuse gastrique d'épaisseur normale, glandes fundiques bien individualisées, sans érosion ni hyperplasie des cellules pariétales.

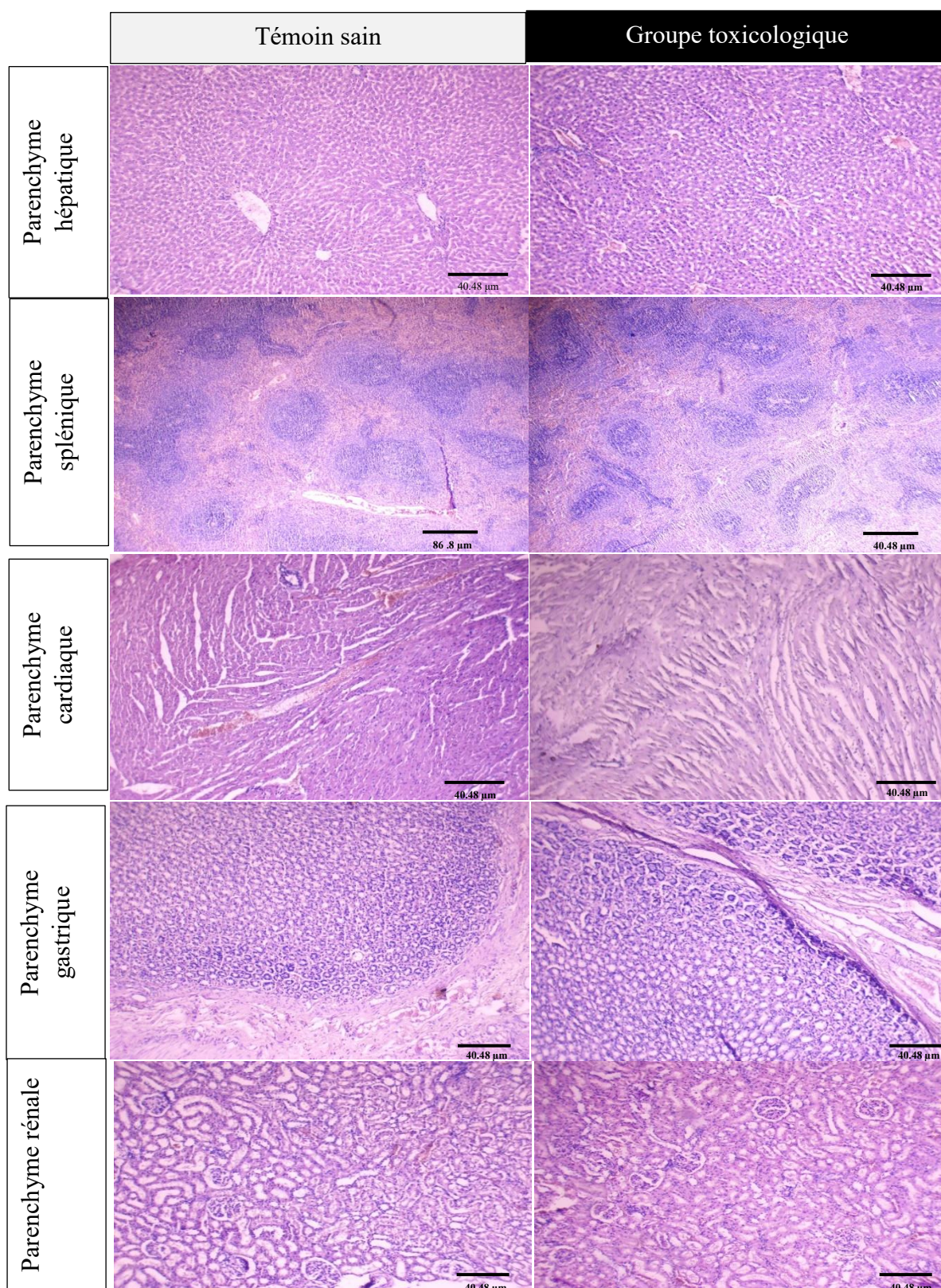


Figure 9. Coloration topographique à l'hématoxyline-éosine des coupes histologiques des différents tissu chez le témoin et chez le groupe testé pour la toxicité aigüe. Observés au microscope optique Grossissement X100

- **Cœur** : les fibres musculaires cardiaques striées disposées en faisceaux, à noyaux centraux, séparées par un fin tissu conjonctif interstitiel. L'architecture myocardique apparaît conservée avec absence de nécrose, de dégénérescence musculaire, d'infiltrat inflammatoire ou de congestion vasculaire.
- **Rate** : Conservation de l'architecture lymphoïde (centre germinatif et zone marginale), sans hémorragie ou hyperplasie splénique. La conservation de l'architecture splénique (centres germinatifs actifs, zone marginale distincte) démontre : une fonction immunitaire préservée (absence d'activation lymphoïde excessive ou de dépression immunitaire), une filtration sanguine normale (pas d'accumulation de débris cellulaires ou de thrombus).

Aucune différence morphologique significative n'a été observée entre les deux groupes. Cela confirme l'absence d'altération histologique dans les organes cibles confirme la sécurité d'emploi du traitement testé. Ces résultats rejoignent les résultats des signes cliniques déjà élucidé.

III.4. Effet de l'extrait sur l'ulcère gastrique expérimental

L'induction d'ulcère gastrique par le diclofénac 80mg/kg après l'administration des extraits a été réalisé pour évaluer l'activité gastro-protectrice d'écorce de PG aux doses de 1000 et 1500 mg/kg.

III.4. 1. Évaluation macroscopique

L'observation macroscopique des estomacs après le prélèvement a été réalisé à l'aide d'une loupe, il a révélé un aspect normal et intact chez le lot témoin sain. En revanche, le lot pathologique traité au diclofénac (control -) seul présentait des micro-ulcères, des hémorragies. Le traitement de référence à l'oméprazole (control +) a permis une réduction notable des lésions. Le lot traité à faible dose (low dose) 1000mg d'extrait de *Punica granatum* montrait une amélioration partielle, tandis qu'une atténuation significative des lésions a été observée chez le lot traité à forte dose (high dose) 1500mg, traduisant un effet protecteur plus marqué (Figure 10).



Figure 10. Observations macroscopiques : (A) Estomac du témoin sain ; (B) Estomac du contrôle (-) ; (C), Estomac du contrôle (+). (D), (E) Estomacs traitées par les concentrations 1000/1500mg/kg de l'extrait d'écorce de *Punica Granatum* respectivement.

III.4. 2. Évaluation histologique

La **figure 11** résume les principaux résultats de l'examen anatomopathologique des cinq lots avec Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine et Coloration par le Trichrome de Masson.

L'architecture du parenchyme gastrique des témoins répond à une paroi œsophagienne revêtue par un épithélium malpighien kératinisé reposant sur un chorion fin, doublé d'une double couche de cellules musculaires lisses longitudinale interne, et circulaire externe. Il n'est pas observé d'anomalies microscopiques. La coloration trichrome mis en évidence le tissu conjonctif intestinal, incluant les fibres collagènes, les fibroblastes, y compris les parois vasculaires du chorion muqueux (**Figure 10**).

La paroi gastrique du corps de l'estomac (Fundus) rapportée montre une zone d'altération du revêtement cryptique (muqueux) sous la forme d'exulcération, avec au fort grossissement les images de souffrance cellulaire sus-décrites. Quant à la coloration trichrome, elle révèle outre les lésions d'altération épithéliale du revêtement cryptique, une certaine exagération de la trame fibro-collagène du chorion muqueux (**Figure 10**).

Le lot des rats control positif, traités par l'Oméprazole, montrent une histologie qui répondent à une paroi gastrique fundique, avec un revêtement cryptique présentant à au moins 3 niveaux, des images d'altération architecturale, avec au fort grossissement des images de souffrance cellulaire, avec des cytoplasmes cellulaires éclatés, et des noyaux dénudés, un peu hyperchromatiques et nucléolés. La coloration au trichrome révèle une certaine exagération de la trame fibro-collagène du chorion muqueux (**Figure 10**).

Les rats traités par une faible dose de l'extrait (low dose) ont démontré sur une muqueuse fundique des zones d'ulcération ou d'altération épithéliale du revêtement cryptique, un peu moindres que celles décrites chez le lot pathologique. Ici on identifie des sidérophages, colorés en brun, au sein d'une zone d'ulcération, probablement sur reliquat d'hémorragie. La zone de jonction œsogastrique, ainsi que la paroi gastrique du corps de l'estomac rapportés sont sans particularités. À forte dose de l'extrait (**High dose**), la muqueuse gastrique fundique du corps de l'estomac est sans anomalies significatives et d'une morphologie subnormale (**Figure 10**).

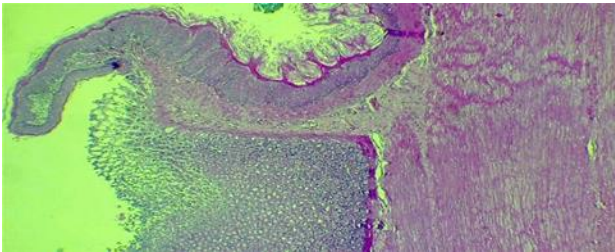
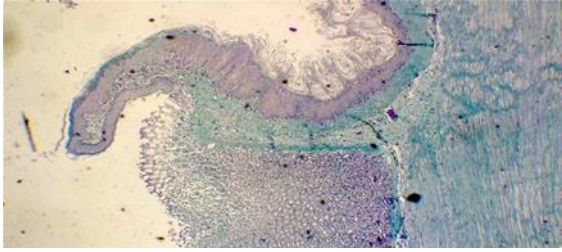
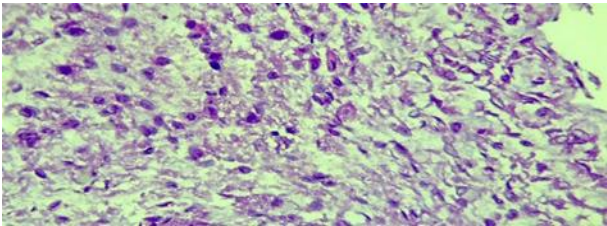
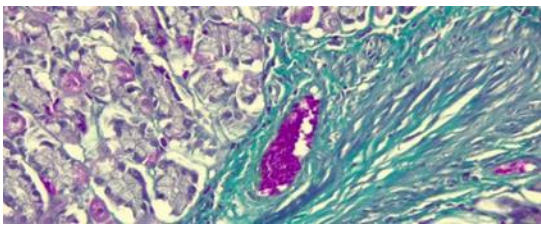
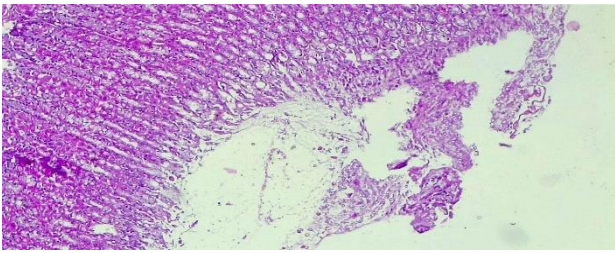
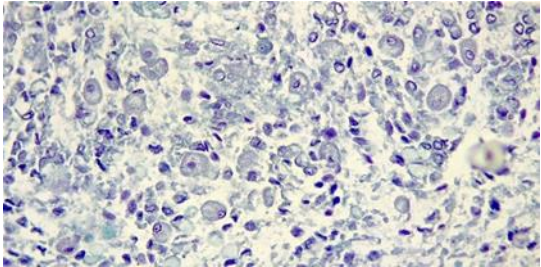
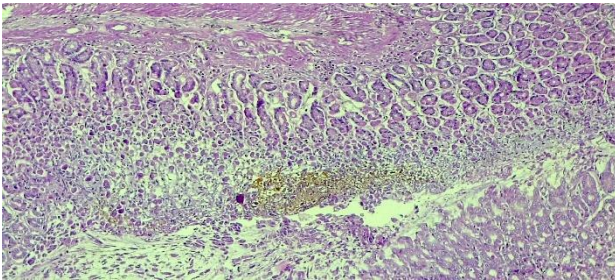
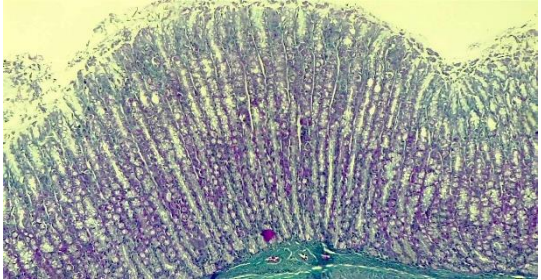
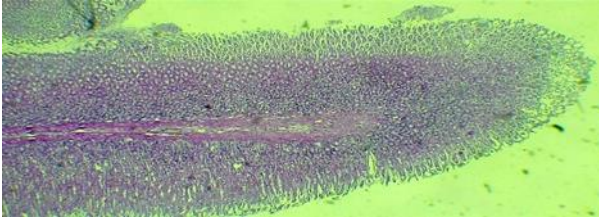
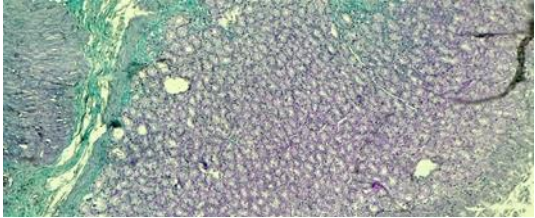
	Coloration a l'hématoxyline et a l'éosine	Coloration par le Trichrome de Masson
Lot témoin sain		
Lot pathologique Control-		
Lot Référence Control+		
Lot low dose: faible dose		
Lot high dose: haute dose		

Figure 11. Résultats de l'examen anatomopathologique.

III.4. 3. Évaluation des paramètres cliniques et biologiques

L'étude statistique de comparaison entre les différents groupes expérimentaux a porté sur les paramètres suivants : Le poids, le score d'examen anatomopathologique, le pH gastrique et certains paramètres biologique jugés pertinents dans l'ulcère aigue.

- **Poids**

Le Test de Shapiro wilk ou test de normalité est d'une p-value de 0.009868 <0,05 ce qui signifie que la variable poids ne suit pas la loi normale. Test de Kruskal-Wallis ou test de comparaison des moyennes est d'un p-value de 0.2872 >0,05, cette valeur signifie qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative du poids entre les différents lots. Le résultat montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre le poids des rats dans les groupes, ce qui traduit une bonne homogénéité des lots du modèle expérimental (**Tableau VII**).

Tableau VII. Variation du poids des rats selon le test de Shapiro wilk et Kruskal-Wallis

	Se (mean) $\pm$ CV	SD	CV
High dose	2.271915 $\pm$ 0.02220737	5.080157	0.02220737
Lot pathologique	3.709367 $\pm$ 0.03737561	8.294396	0.03737561
Low dose	1.505125 $\pm$ 0.01519303	3.365561	0.01519303
Référence	4.315275 $\pm$ 0.04493457	9.649249	0.04493457
Témoin sain	14.887491 $\pm$ 0.16111433	33.289443	0.16111433

- **Score**

Le score d'ulcère ne suit pas la loi normale (p-value = 0.00002043 Test de normalité Shapiro wilkokson) <0,05). La comparaison des moyennes du score d'ulcère montre qu'il existe une différence entre les moyennes du score d'ulcère entre lots (Test de kruskal wallis : p-value = 0.0003017 <0,05). Le test de Dunn avec ses trois variantes (voir tableau ci-après) permet de détecter parmi quelles paires se trouvent ces différences de moyennes (**Tableau VIII**) :

Le score d'ulcère décrit la présence et la gravité de l'ulcère et dans notre étude la réussite du modèle expérimental est confirmée par le test de Dunn car Il y a une différence statistiquement significative entre le score d'ulcère, le lot pathologique et le lot témoin sain avec les 3 versions.

La comparaison de lot pathologique vs référence n'est pas significative, ce qui implique que le traitement de référence (oméprazole) n'exerce pas d'effet notable sur la réduction de l'indice d'ulcère. Cette observation s'explique par le mécanisme d'action de l'oméprazole qui se limite à diminuer l'acidité gastrique sans effet direct sur la cicatrisation de l'ulcère.

La comparaison entre le lot pathologique et le low dose est significative, ce qui indique que le low dose a un effet sur la diminution du score d'ulcère. De même, la comparaison lot pathologique vs high dose est significative, confirmant que cette dose réduit également le score d'ulcère. De plus, le lot pathologique présente un score d'ulcère significativement plus élevé que le lot High dose et le lot Low dose, selon toutes les méthodes de correction.

Concernant le traitement de référence (oméprazole), l'absence de différence significative avec le lot pathologique implique que son mécanisme d'action – réduisant l'acidité gastrique sans agir directement sur la lésion – limite son efficacité., son efficacité modérée est démontrée par une différence significative avec le témoin sain uniquement selon la méthode Benjamini-Hochberg.

La différence entre high dose versus low dose est non significative pour les trois tests statistiques, ne montrent aucune différence significative par rapport au témoin sain, indiquant ainsi une action protectrice permettant un retour à l'état physiologique normal, suggérant ainsi qu'augmenter la dose n'améliore pas significativement l'effet antiulcéreux.

Par conséquent l'absence de différence significative entre les deux doses d'extrait suggère fortement que la faible dose est déjà suffisamment efficace qu'une augmentation de la dose, dans ce modèle expérimental n'apporte pas d'amélioration supplémentaire. Notons que la comparaison low dose vs témoin sain est non significative, ce qui révèle que le low dose permet une disparition complète de l'ulcère, avec une guérison comparable à l'état sain.

Le high dose présente tout de même une efficacité légèrement supérieure au traitement de référence (avec une significativité observable uniquement via le test Benjamini-Hochberg). Il n'y a pas de différence significative entre les deux doses d'extrait, suggérant que la dose faible est déjà efficace et qu'une augmentation de dose dans ce modèle n'apporte pas nécessairement un meilleur résultat. Le high dose est modérément plus efficace que le traitement de référence (Significatif avec BH uniquement)

Tableau VIII. Résultats des tests de Dunn pour le score anatomopathologique d'ulcère

Comparaison des paires de lot	Z	Benjamini-Hochberg (BH)	Bonferroni	Holm-Bonferroni	Significativité selon méthode
Lot pathologique vs témoin sain	+3.59	0.0034	0.0034	0.0030	Significatif
Lot pathologique vs Référence	+1.12	0.3732	1.000	1.000	Non significatif
Lot pathologique vs low dose	+3.06	0.0074	0.0221	0.0177	Significative
Lot pathologique vs high dose	-3.59	0.0017	0.0034	0.0034	Significative
Lot High dose vs témoin Sain	0.00	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Lot High dose vs Référence	-2.46	0.0276	0.1381	0.0967	Significative avec BH
Lot High dose vs low dose	-0.53	0.6655	1.0000	1.0000	Non-significative
Lot Low dose vs témoin Sain	+0.53	0.7487	1.0000	1.0000	Non-significative
Lot Low dose vs Référence	-1.94	0.0881	0.5283	0.2642	Non-significative
Référence vs témoin sain	+2.46	0.0345	0.1381	0.0829	Significative avec BH

Le graphique en violon de la variation de score d'ulcère révèle des différences marquées entre les lots (**Figure 12**) . Le groupe témoin sain affiche une absence de variabilité (score nul) traduisant une absence totale de lésions gastriques, ce qui valide l'état physiologique du modèle d'expérimentation. A l'opposé, le groupe pathologique montre un score ulcératif élevé (valeurs centrées autour de 3), indiquant une atteinte gastrique sévère, confirmant ainsi l'induction efficace de l'ulcère.

Le groupe traité Low dose présente une réduction notable du score ulcératif, avec des valeurs dispersées entre 0 et 2 indiquant une **variabilité des réponses** au traitement, avec une tendance vers des scores plus faibles., ce qui suggère une activité gastro protectrice modérée.

Le **groupe traité** High dose, quant à lui, affiche une absence complète de lésions ulcéreuses (score nul), comparable au groupe témoin sain, indiquant une efficacité marquée de la forte dose de l'extrait dans la prévention des ulcérations. Le groupe de référence montre une

distribution centrée autour d'un score de 2, ce qui indique une protection partielle de l'oméprazole contre les lésions gastriques, mais moins efficace que celle observée avec la forte dose de l'extrait.

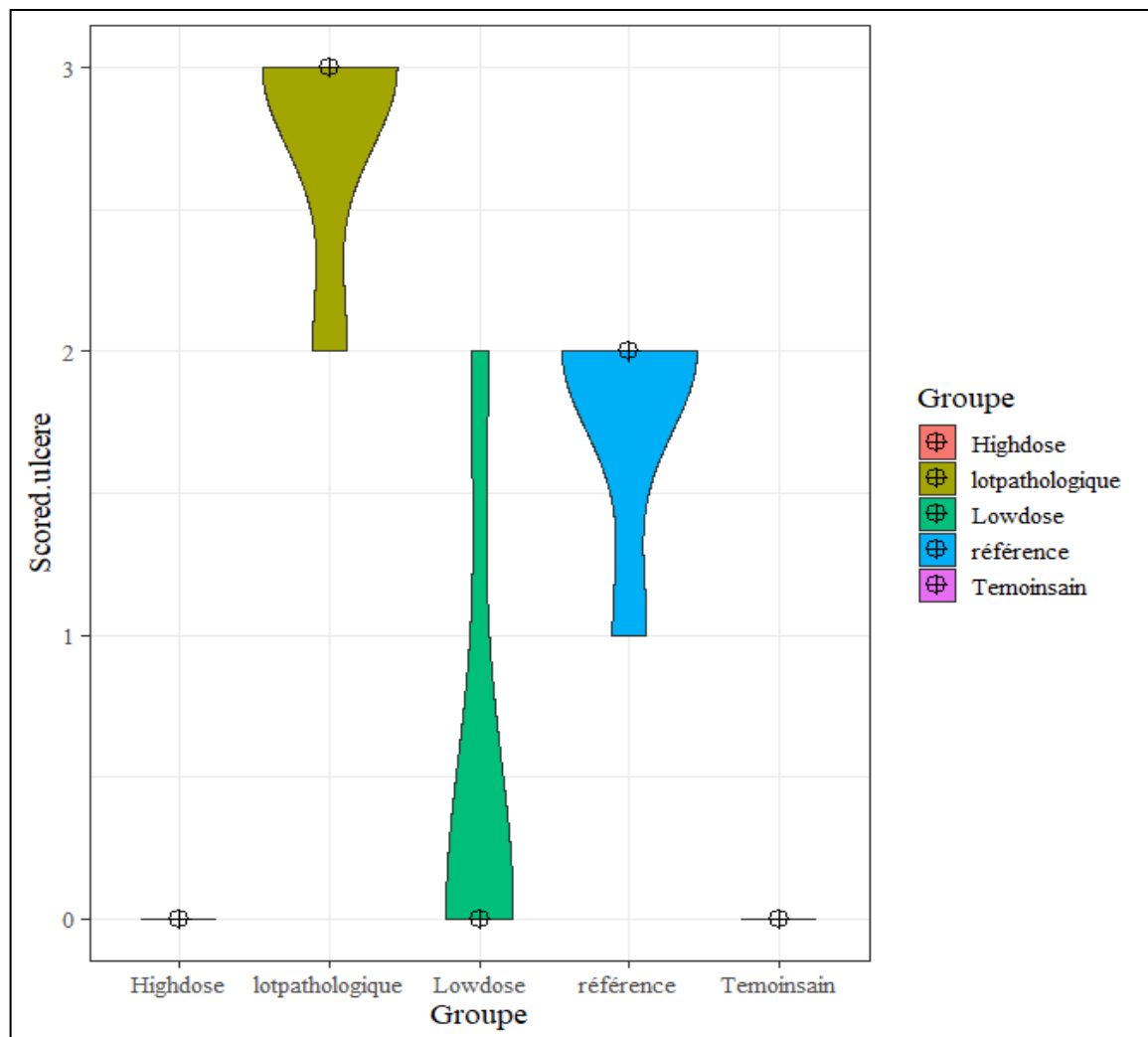


Figure 12 . Variation du score d'ulcère selon les groupes

- **pH gastrique**

Le pH gastrique ne suit pas la loi normale, le test de Kruskal Wallis montre une différence statistiquement significative entre les groupes, ($p\text{-value} = 0,032$), le test de Dunn permet d'identifier quelles sont les paires de lots qui diffèrent entre eux de manières significatives (**Tableau IX**).

L'analyse statistique du pH gastrique après administration des différents traitements montre une différence globale significative entre les groupes (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,032$). Cependant, les tests post-hoc de Dunn révèlent que seule la comparaison entre le lot pathologique et le groupe référence est significative ($p\text{-ajustée} = 0,0251$ selon la méthode Benjamini-Hochberg). Cela suggère que le traitement de référence a un effet correcteur notable sur l'acidité gastrique induite dans le modèle pathologique, ce qui n'est pas observé de manière statistiquement significative pour les groupes traités par l'extrait de plante (high dose ou low dose). Les autres comparaisons n'atteignent pas le seuil de signification statistique, même si une tendance à la normalisation du pH peut être observée dans certains cas.

En résumé, seul le traitement de référence permet une modulation significative du pH gastrique, indiquant une efficacité supérieure dans la réduction de l'hyperacidité gastrique comparativement au lot pathologique. Cela suggère que notre extrait n'a pas d'activité anti acide sur les rats dans le modèle expérimental utilisé.

Tableau IX. Résultats des tests de Dunn pour le pH gastrique

Comparaison	(Benjamini-Hochberg)	(Bonferroni)	(Holm)	Interprétation
High dose lot pathologique	0.102	0.307	0.246	Non significatif
High dose – Low dose	0.891	1.000	0.891	Non significatif
Lot pathologique – Low dose	0.140	0.280	0.252	Non significatif
High dose – référence	0.720	1.000	1.000	Non significatif
Lot pathologique – référence	0.025	0.025	0.025	Significatif dans les 3 méthodes
Low dose – référence	0.735	1.000	1.000	Non significatif
High dose – Témoin sain	0.814	1.000	1.000	Non significatif
Lot pathologique – Témoin sain	0.414	1.000	1.000	Non significatif
Low dose – Témoin sain	0.749	1.000	1.000	Non significatif
Référence – Témoin sain	0.437	1.000	1.000	Non significatif

Le graphique en **figure 13** présente les valeurs de pH gastrique mesurées 4 heures après induction des lésions et administration des traitements. Le lot pathologique présente le pH le plus bas (≈ 3), indiquant une forte acidité gastrique liée à l'ulcération. Les groupes High dose, Low dose et référence montrent une augmentation du pH (≥ 4), traduisant une atténuation de l'acidité. Le groupe référence atteint un pH médian de 5, suggérant une efficacité comparable ou supérieure aux extraits testés. Le groupe témoin sain présente une grande variabilité du pH, ce qui peut refléter l'absence de traitement standardisé dans ce lot.

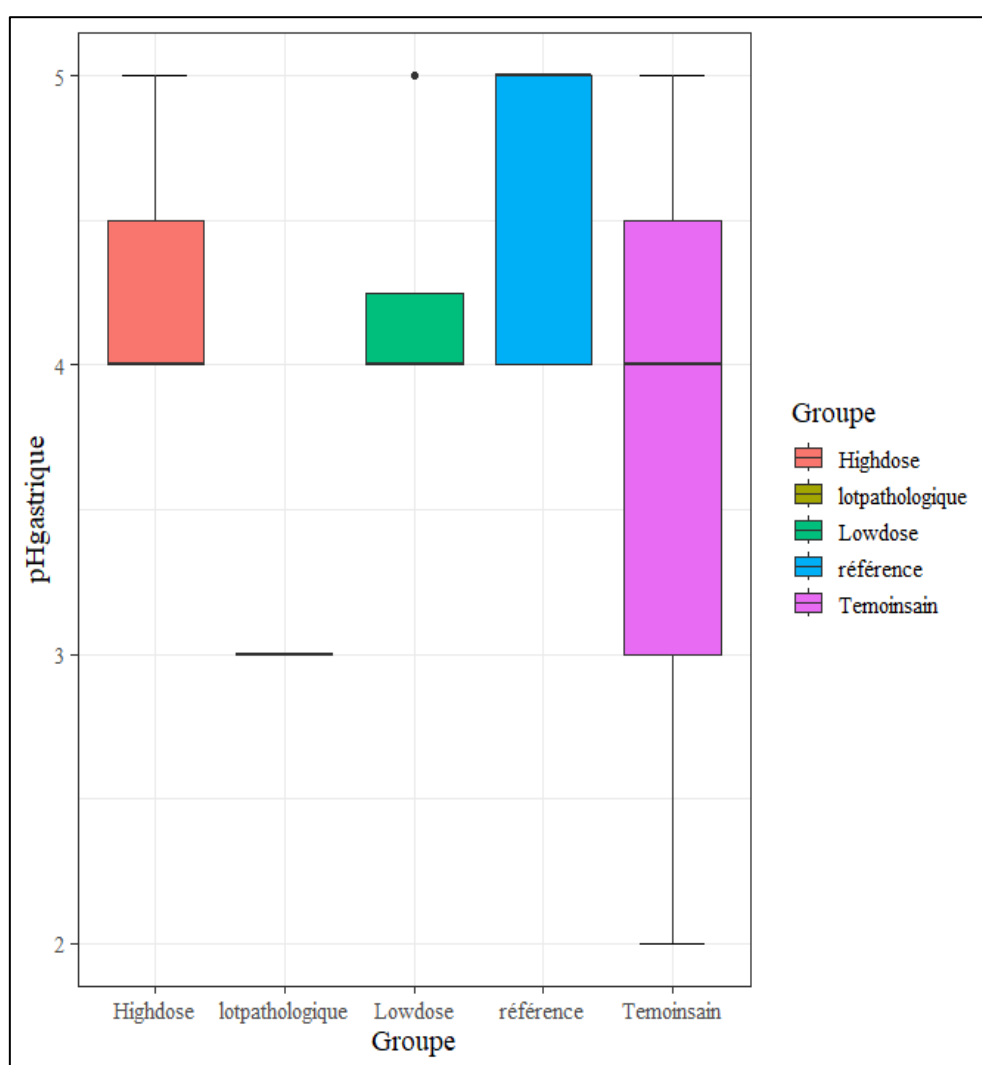


Figure 13. Variation du pH gastrique selon les groupes expérimentaux

- Effet sur les paramètres biologiques

Le dosage de l'ensemble des paramètres biologiques sériques mesurés n'a montré une différence significative entre les différents groupes étudiés, à l'exception de taux de l'urée. En effet, le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence statistiquement significative des taux d'urée entre les groupes expérimentaux (**p-value < 0,005**). **Tableau X**

Tableau X. Variation de l'urée selon les groupes

	Mean $\pm$ se (mean)	SD	CV
High dose	0.288 $\pm$ 0.01496663	0.03346640	0.11620278
Lot pathologique	0.416 $\pm$ 0.04884670	0.10922454	0.26255899
Low dose	0.240 $\pm$ 0.01080123	0.02160247	0.09001029
Référence	0.462 $\pm$ 0.08782938	0.19639246	0.42509191
Témoin sain	0.320 $\pm$ 0.02645751	0.04582576	0.14320549

Discussion générale

Discussion générale

Les résultats de notre étude ont démontré que l'écorce de PG exerce un effet gastroprotecteur significatif aux deux doses testées (1000 et 1500 mg/kg). Ces effets ont été comparés à ceux de l'oméprazole (40 mg/kg), un inhibiteur de la pompe à protons connu pour réduire l'acidité gastrique. Contrairement à l'oméprazole, dont l'action se limite principalement à la diminution de la sécrétion acide, l'extrait d'écorce de PG a montré non seulement une capacité protectrice, mais également un effet cicatrisant sur la muqueuse gastrique. Ces résultats suggèrent que PG pourrait constituer une alternative thérapeutique prometteuse dans la prévention et le traitement des lésions gastriques.

Une étude de **Mariam I.P et al (2022)** sur l'effet antiulcéreux prophylactique de l'extrait de peau et de graines de PG dans un modèle murin d'ulcère peptique été réalisé pour évaluer l'effet prophylactique antiulcéreux des extraits méthanoliques de pelure (écorce) et de graines de PG, en les comparant au pantoprazole dans un modèle murin d'ulcère gastroduodénal induit par le diclofénac. Quatre-vingt-un rats mâles ont été répartis en neuf groupes, recevant pendant 15 jours, par voie orale, soit uniquement de l'eau distillée (groupes témoins), soit différents traitements : pantoprazole (30 ou 60 mg/kg/j), extrait de pelure (PGPE, 50 ou 100 mg/kg/j), extrait de graines (PGSE, 250 ou 500 mg/kg/j), ou combinaisons de ceux-ci. Le 17e jour, les groupes traités ont reçu une dose unique de diclofénac (100 mg/kg) pour induire des lésions gastriques, suivie de l'évaluation des paramètres gastriques (volume et pH du suc gastrique, indice d'ulcération). Tous les traitements ont montré une protection significative contre les lésions induites, mais la combinaison Pantoprazole 30 mg/kg + PGPE 50 mg/kg + PGSE 250 mg/kg (groupe 9) a présenté une activité antiulcéreuse supérieure à celle du pantoprazole seul. Ces résultats suggèrent que les pelures et graines de grenade, souvent considérées comme des déchets, possèdent un potentiel thérapeutique intéressant dans la prévention des ulcères gastroduodénaux. (**Mariyam et al., 2022**).

L'étude de l'effet gastro-protecteur et thérapeutique de PG contre l'ulcère de l'estomac causé par *Helicobacter Pylori* réalisée par (**Ali et al.,2023**) était pour objectif de comparer le niveau de prévention et l'efficacité d'une plante médicinale, PG, à celle de l'oméprazole. Plusieurs groupes de rats albinos mâles ont été constitués : le premier groupe témoin a été inoculé avec *Helicobacter pylori* et nourri avec une alimentation standard ; le deuxième groupe a été inoculé avec *H. pylori* puis traité avec des extraits aqueux de PG(PGAE) à deux doses (250 mg/kg et 500 mg/kg) ; le dernier groupe a été inoculé avec *H. pylori* puis traité avec

l'oméprazole (20 mg/kg). Les résultats ont montré que le pourcentage d'inhibition de l'ulcère avec PG à la dose élevée de 500 mg/kg était de $84,60 \pm 5,48 \%$, et de $42,87 \pm 7,14 \%$ à la dose de 250 mg/kg, contre $24,50 \pm 6,35 \%$ pour le groupe traité à l'oméprazole. Ces valeurs étaient significativement supérieures à celles observées dans les groupes témoin et traité à l'oméprazole ($P = 0,0001$). L'extrait aqueux de PG a également montré une réduction significative de l'indice gastrique et de la prolifération cellulaire infectieuse, accompagnée d'un moindre degré de dommage cellulaire. En conclusion, les résultats de cette étude indiquent qu'une dose élevée d'extrait aqueux de PG est plus efficace qu'une dose faible, et même plus que le traitement standard à base d'oméprazole (Ali et al., 2023).

Une étude de Mariam et al (2022) sur l'effet antiulcéreux prophylactique de l'extrait de peau et de graines de PG dans un modèle murin d'ulcère peptique été réalisé pour évaluer l'effet prophylactique antiulcéreux des extraits méthanoliques de pelure (écorce) et de graines de PG, en les comparant au pantoprazole dans un modèle murin d'ulcère gastroduodénal induit par le diclofénac. Quatre-vingt-un rats mâles ont été répartis en neuf groupes, recevant pendant 15 jours, par voie orale, soit uniquement de l'eau distillée (groupes témoins), soit différents traitements : pantoprazole (30 ou 60 mg/kg/j), extrait de pelure (PGPE, 50 ou 100 mg/kg/j), extrait de graines (PGSE, 250 ou 500 mg/kg/j), ou combinaisons de ceux-ci. Le 17^e jour, les groupes traités ont reçu une dose unique de diclofénac (100 mg/kg) pour induire des lésions gastriques, suivie de l'évaluation des paramètres gastriques (volume et pH du suc gastrique, indice d'ulcération). Tous les traitements ont montré une protection significative contre les lésions induites, mais la combinaison Pantoprazole 30 mg/kg + PGPE 50 mg/kg + PGSE 250 mg/kg (groupe 9) a présenté une activité antiulcéreuse supérieure à celle du pantoprazole seul. Ces résultats suggèrent que les pelures et graines de grenade, souvent considérées comme des déchets, possèdent un potentiel thérapeutique intéressant dans la prévention des ulcères gastroduodénaux.

Les travaux antérieurs de Indal et al 2017 sur l'effet antiulcéreux et de cicatrisation des ulcères du bouveau de PG: rôle des facteurs muqueux offensifs et défensifs et du stress oxydatif était pour objectif d'évaluer les effets antiulcéreux et cicatrisants de l'extrait éthanolique à 50 % de pelure séchée de PG(PGE) chez le rat. L'extrait de PG (100 mg/kg) a été administré par voie orale une fois par jour pendant 7 jours, soit avant, soit après l'induction d'ulcères gastriques (UG). Les effets antiulcéreux ont été étudiés dans des modèles d'UG aigus induits par ligature du pylore (PL), stress par immobilisation au froid (CRS), aspirine et éthanol, tandis que les effets cicatrisants ont été évalués dans un modèle d'UG chronique induit par l'acide

acétique (AA). Ont été mesurés : l'indice d'ulcération (UI), le volume de suc gastrique, la concentration en acide-pepsine, les sécrétions de mucine et les glycoprotéines de la muqueuse gastrique, ainsi que les niveaux de radicaux libres (LPO et NO) et d'antioxydants (SOD et GSH). Le PGE a significativement réduit l'UI dans tous les modèles d'ulcères (réduction de 45,6 à 79,7 %, $P < 0,05$ à $P < 0,001$), démontrant à la fois des effets protecteurs et cicatrisants. Il a eu peu ou pas d'effet sur le volume de suc gastrique et la concentration en acide-pepsine, mais a augmenté la sécrétion de mucine (55,1 %, $P < 0,05$) et les glycoprotéines de la muqueuse (35,7 %, $P < 0,05$) chez les rats PL. Chez les rats CRS, une augmentation des niveaux de LPO et NO (48,4 à 58,3 %, $P < 0,01$) et de SOD (21,8 %, $P < 0,01$), ainsi qu'une diminution du GSH et de la CAT (33,1 à 44,8 %, $P < 0,01$ à $P < 0,001$) ont été observées par rapport aux rats non stressés. Chez les rats CRS traités par PGE, une réduction significative des LPO et NO (44,1 à 61,2 %, $P < 0,01$ à $P < 0,001$) ainsi que du SOD (13,2 %, $P < 0,01$), et une augmentation du GSH et de la CAT (43,8 à 48,7 %, $P < 0,01$ à $P < 0,001$) ont été observées. En conclusion, le PGE présente un effet cytoprotecteur contre les ulcères, probablement en renforçant la résistance de la muqueuse gastrique et en réduisant les dommages oxydatifs, grâce à sa forte activité antioxydante.

Une autre étude menée par **(Ghazaleh.M et al. ; 2014)** sur le Potentiel anti-ulcératif de l'extrait hydroalcoolique de l'écorce de fruit de *PGL* (Lythraceae) ou le but était d'évaluer les activités antiulcéreuses de l'extrait méthanolique de pelure de fruit de grenade à l'aide d'un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol à 80 % chez le rat. Des rats mâles Wistar, pesant entre 175 et 220 g, ont été privés de nourriture pendant 48 heures mais ont eu un libre accès à l'eau. Ils ont été répartis aléatoirement en neuf groupes expérimentaux. L'ulcère gastrique a été induit par administration d'éthanol à 80 %. Le groupe témoin a reçu le même traitement que les groupes test, à l'exception du traitement par extrait qui a été remplacé par un volume équivalent du véhicule de dosage. Le cimétidine (100 mg/kg, i.p.), un bloqueur des récepteurs H₂ de l'histamine, a été utilisé comme médicament de référence. Un prétraitement oral avec trois doses différentes d'extrait (25, 50 et 100 mg/kg) a été administré pendant 15 jours, après quoi l'indice d'ulcération (UI) et le pourcentage d'inhibition ont été calculés. L'extrait de pelure de fruit noir à la dose de 50 mg/kg a produit un effet protecteur significatif ($p < 0,05$) chez les rats, avec un indice de prévention de 65,87 %. Les autres doses ont également montré une protection significative contre les ulcères gastriques induits par l'éthanol. En revanche, la pelure blanche du nord à 50 mg/kg n'a pas montré d'efficacité, avec un indice d'ulcération de $49,52 \pm 1,99$. L'examen histopathologique de l'estomac des animaux traités avec cette pelure blanche (50 mg/kg) a révélé une érosion sévère de la muqueuse gastrique, un œdème sous-muqueux et une

infiltration de neutrophiles. En conclusion, cette étude met en évidence les propriétés antiulcéreuses des extraits méthanoliques de pelures de grenade aux doses de 25, 50 et 100 mg/kg, dont l'activité semble être liée à leur forte activité antioxydante. (Ghazaleh et al., 2014)

L'étude de Ghazaleh M et al ; 2013 a examiné les effets antiulcéreux de l'extrait méthanolique de pelure de grenade chez des rats albinos mâles de souche Wistar. Un prétraitement oral avec des extraits de pelure (à des doses de 25, 50 et 100 mg/kg) administré pendant 15 jours a permis de protéger la muqueuse gastrique contre les lésions induites par l'indométacine (50 mg/kg). L'incidence des ulcérations dans le groupe témoin (traité uniquement avec l'indométacine) était de 100 %. Les meilleurs résultats ont été observés à la dose de 50 mg/kg, avec la variété « Sour summer », qui a significativement réduit l'ulcération gastrique par rapport au groupe témoin. Un indice d'ulcération faible ($5,4 \pm 0,55$), une diminution notable de l'infiltration des leucocytes polymorphonucléaires ainsi qu'une réduction des hémorragies ont été constatés après administration de l'extrait de pelure de la variété « sour summer » à la dose de 50 mg/kg. En conclusion, cette étude démontre que l'extrait de pelure de grenade, en particulier celui de la variété « Sour summer », possède un potentiel curatif en tant qu'agent antiulcéreux, probablement grâce à sa forte activité antioxydante. Ces résultats suggèrent également que l'exploitation de la pelure de grenade pourrait constituer une source de revenu complémentaire tout en valorisant les propriétés nutritionnelles de ce sous-produit.

Les cinq études analysées comparative du potentiel thérapeutique et gastro-protecteur de l'écorce de grenade dans la prévention des ulcères gastriques convergent vers une démonstration claire du potentiel gastro protecteur et thérapeutique de *Punica granatum*, en particulier ses pelures, face aux ulcères gastriques induits expérimentalement chez le rat. Dans la majorité des protocoles, les extraits de pelure – qu'ils soient méthanoliques, aqueux ou éthanoliques – ont montré une réduction significative de l'indice d'ulcération, avec une efficacité comparable voire supérieure aux traitements standards tels que le pantoprazole, l'oméprazole ou la cimétidine. Les modèles expérimentaux utilisés étaient variés (ulcères induits par diclofénac, éthanol à 80 %, stress par immobilisation au froid, ligature du pyllore, acide acétique et *H. pylori*), permettant d'évaluer à la fois les effets préventifs et curatifs de la plante. Les doses efficaces ont généralement varié entre 25 et 500 mg/kg, avec une supériorité des doses plus élevées, comme observé dans l'étude utilisant l'extrait aqueux à 500 mg/kg, où une inhibition de l'ulcère de 84,60 % a été rapportée. Les effets observés incluent une amélioration de la sécrétion de mucine, une augmentation des glycoprotéines gastriques, ainsi qu'une modulation positive du stress oxydatif (diminution des taux de MPO et NO,

augmentation de GSH et CAT). Toutefois, l'efficacité semble varier selon la variété de grenade utilisée, certaines pelures comme la « north white » montrant peu ou pas d'effet protecteur. Globalement, ces études soutiennent l'idée que les extraits de PG, riches en composés antioxydants, renforcent la défense de la muqueuse gastrique et réduisent l'inflammation, ce qui les positionne comme des agents naturels prometteurs dans la prévention et le traitement des ulcères gastriques.

Conclusion

Conclusion

Cette étude expérimentale a mis en évidence les propriétés gastroprotectrices de l'écorce de *Punica granatum*, une plante traditionnellement utilisée en médecine, en particulier face aux lésions gastriques induites par le diclofénac. L'évaluation phytochimique a révélé une activité antioxydante significative, tandis que l'étude de toxicité aiguë a montré une absence d'effets nocifs à la dose de 2000 mg/kg, soutenant ainsi son profil de sécurité.

Les résultats obtenus à partir des tests statistiques ont confirmé que les doses de 1000 et 1500 mg/kg exercent un effet protecteur appréciable sur la muqueuse gastrique, sans toutefois modifier l'acidité gastrique, contrairement à l'oméprazole. Cela suggère un mécanisme d'action distinct, lié à un renforcement de la barrière muqueuse et à une réduction du stress oxydatif plutôt qu'à une inhibition de la sécrétion acide.

Ces données expérimentales confortent l'usage traditionnel de *Punica granatum* et ouvrent la voie à plusieurs recommandations : une standardisation de l'extrait pour assurer la reproductibilité des effets, un approfondissement des études mécanistiques pour comprendre les voies d'action précises.

Les perspectives de recherche sont nombreuses. Il serait pertinent d'isoler et d'identifier les principes actifs responsables de l'effet observé, de tester l'efficacité sur d'autres modèles d'ulcères gastriques, et d'explorer d'éventuelles synergies avec d'autres extraits végétaux. À plus long terme, des essais cliniques pourraient permettre de confirmer ces effets chez l'humain et d'envisager une application thérapeutique.

En somme, ce travail pose les bases d'une valorisation scientifique d'un remède traditionnel, en offrant des preuves expérimentales solides de son potentiel thérapeutique. Il représente une contribution intéressante à la recherche sur les alternatives naturelles aux traitements antiulcéreux classiques, dans un contexte de demande croissante en phytomédecine.



Références bibliographiques

Référence bibliographique

A

- Adams LS, Seeram NP, Aggarwal BB, Takada Y, Sand D, Heber D. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *J Agri Food Chem.* 2006; 54:980-5.
- Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y.S D. and Heber, D. 2006. Pomegranate Juice, Total Pomegranate Ellagitannins, and Punicalagin Suppress Inflammatory Cell signaling in Colon Cancer Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 54(3): 980 - 985.
- Adetunji. C. O, Palai S, et al. (2021). General principle of primary and secondary plant metabolites: Biogenesis, metabolism, and extraction. *Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders*, Elsevier: 3-23.
- Ahmed, S., Wang, N., Hafeez, B.B., Cheruvu, V.K. and Haqqi, T.M. 2005. Punicagranatum L. Extracts Inhibits IL-1 β -induced Expression of Matrix Metalloproteinases by Inhibiting the Activation of MAP Kinases and NF-kappaB in Human Chondrocytes in vitro. *Journal of Nutrition.*, 135(9): 2096 - 2102,
- Alam S., Urooj T., Aslam R. (2019). Incidence et prévalence mondiales de l'ulcère gastroduodéal : une revue systématique. *Indo Am. J. Pharm. Sci.* 06 11267–11273
- Aslam, M.N., Lansky, E.P. and Varani, J. 2006. Pomegranate as a Cosmeceutical Source: Pomegranate Fractions Promote Proliferation and Procollagen Synthesis and Inhibit Matrix Metalloproteinase-1 Production in Human Skin Cells. *Journal of Ethnopharmacology.*, 103(3): 311–318
- Ali J. Muhialdin, Zaenah Zuhair Alamri, Ali M. Hussein, Rahman K. Faraj, Zhala B.Taha, Mohammed M.Hussein, Shahrokh Mojarradgandoukmolla. *January 31, 2023. Gastro-protective and therapeutic effect of Punica granatum against stomach ulcer caused by Helicobacter Pylori.* E-ISSN : 1165-158X / P-ISSN : 0145-5680

B

- Baigent, C.2013. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *the Lancet*, 1-11

- Belaiche, J., Burette, A., De Vos, M., Louis, E., Huybrechts, M., Deltenre, M., 2002.
- Ben-Arie, R., Segal, N., Guelfat-Reich, S., 1984. The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 109(6), 898-902
- Bereda, G. (2022). Peptic ulcer disease: Definition, pathophysiology, and treatment. *Journal of Biomedical and Biological Sciences*, 1(2), 1–10.
- Brito, C. F. de, Evangelista, A. A., Felipe, R. M., Cascabulho, C., Fragoso, V. M., & Oliveira, G. M. de (2020). *Laboratory Mice Euthanasia: Speed Death and Animal Welfare*. American Journal of Biomedical Science & Research.
- Bialonska D, Kasimsetty SG, Schrader KK, Ferreira D. The effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria. *J Agric Food Chem* 2009; 57(18): 8344-9.
- Blanco. A, and Blanco. G (2017). "Chapter 3–Proteins." *Medical Biochemistry*: 21-71
- Bongu, S., & Vijayakumar, S. (2012). *Animal models in experimental gastric ulcer screening – A review. International Journal of Pharmacological Screening Methods*, 2(2), 82–87.
- Bruneton, J., (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Editions TEC & DOC, 3ème édition, PP 783- 785.

C

- Caceres, A., Giron, L.M., Alvarado, S.R. and Torres M.F. 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for treatment of dermatomucosal diseases. *J. Ethnopharmacol.*, 20: 223 - 237.
- Choi, E., Hwang, H., Kim, I., Nam, T., 2009. Protective effects of a polysaccharide from
- Correa, P., Houghton, J., 2007. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 133, 659–672.
- Coulibaly L. 2020 ; Etude de la dispensation des antiulcéreux dans les officines privées de nioro et de Bamako

D

- Dellaoui, H. (2021). *Contribution à l'étude des effets de la plante médicinale Myrtus communis contre la toxicité du Cadmium chez le rat Wistar. Etudes biochimique et histologique* (Doctoral dissertation, Université Dr Moulay Tahar de Saïda (Algérie))

- Desjardins, Y., 2008. Physiological and ecological functions and biosynthesis of health-promoting compounds in fruit and vegetables (Tomas-Barberan and Gil). Dans: Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products, Woodhead Publishing, Cambridge, Angleterre, PP.1-64
- Diphenyl diselenide reverses gastric lesions in rats: involvement of oxidative stress. Food and Chemical Toxicology 46, 3023–3029
- DIALLO, D., SANOGO, R., YASAMBOU, H., TRAORE, A., COULIBALY, K. and MAIGA, A. 2004. Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. C. R. Chim. 7, 1073–1080.
- DOHOU, N., YAMIN, K., TAHROU, S., IDRISSE, H.L.M., BADO, A. and GMIRA, N. 2003. Screening phytochimique d'une endémie ibéromarocaine, *Thymelaea lythroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 142, 61–78.

E

- Elbatanony, M.M.; El-Feky, A.M.; Hemdan, B.A.; El-Liethy, M.A. Assessment of the antimicrobial activity of the lipoidal and pigment extracts of *Punica granatum* L. leaves. Acta Ecol. Sin. 2019, 39, 89–94.

G

- Garron. M. L, and Cygler. M (2010). "Structural and mechanistic classification of uronic"
- Gershenzon J (2007) The function of terpene natural products in the natural world. Nat Chem Biol 3(7):408-414
- Gray, H. Anatomy of the human body (20th ed. Philadelphia, États-Unis W. H. Lewis, Ed.), 1918
- Guignard, J.L., Potier, P., 2000. Biochimie Végétale. Dunod. Paris.
- Ghazaleh Moghaddam, Mohammad Sharifzadeh, Gholamreza Hassanzadeh, Mahnaz Khanavi,, Farzaneh Dolatshahi, Naficeh Sadeghi, Mohammad Reza Oveisi and Mannan Hajimahmoodi. 9 May 2014. Anti-Ulcerative Potential of *Punica granatum* L (Lythraceae) Hydroalcohol Fruit Peel Extract <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v13i7.12>
- Ghazaleh Moghaddam, Mohammad Sharifzadeh, Gholamreza Hassanzadeh, Mahnaz Khanavi,, Mannan Hajimahmoodi, Published Online October 2013 (<http://www.scirp.org/journal/fns>) Anti-Ulcerogenic Activity of the Pomegranate Peel (*Punica granatum*) Methanol Extract
- Ganesh S, Vennila JJ (2011) Phytochemical analysis of *Acanthus ilicifolius* and *Avicennia officinalis* by GC-MS. Res J Phytochem 5: 60-65.

H

- Heibashy MI, Mazen GM, Ibrahim MA. Efficacy and safety of some medical herbs on gastric ulcer induced by aspirin in rats. J Pharm Biol Sci. 2014;9(3): 19–27.
- Heluwaert, F. (2022). *Helicobacter pylori : diagnostic, indications et modalités d'éradication*. POST'U. Service d'Hépatogastroentérologie, Centre Hospitalier Annecy Genevois.
- Hizikia fusiformis against ethanol toxicity in rats. Food and Chemical Toxicology 47, 134–139.

I

- Indal Chauhan, Ankita Sharma, Mayank Gangwar, Manish Kumar Gautam, Amit Singh, 2017. Raj Kumar Goel gastric Antiulcer And Ulcer Healing Effects Of Punica Granatum L. Peel Extract In Rats: Role Of Offensive And Defensive Mucosal Factors And Oxidative Stress. International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences Issn- 0975-1491
- Ineu, R.P., Pereira, M.E., Aschner, M., Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B.T., 2008.

K

- K. Jaswanth^{*1}, C. Kiran Kumar², P. Venkatesh³. A review on peptic ulcer. UPI j pharm med health sci, 2022, 19-26
- Kachkoul R., Squalli Housseini T., Mohim M., El Habbani R., Miyah Y., Lahrichi A. Composés chimiques et activités antioxydantes et litholytiques des feuilles d'Arbutus unedo L. contre les calculs d'oxalate de calcium. Journal of Integrative Medicine. 2019 ; 17(6) : 430–437. doi : 10.1016/j.joim.2019.08.001
- Kulkarni SK. Handbook of experimental pharmacology, vol. 3. New Delhi: Vallabh Prakashan; 2005. p. 1984.
- Kumar. A, Singh. S. K, et al. (2021). "An insight into the molecular docking interactions of plant secondary metabolites with virulent factors causing common human diseases."
- Kirby, A.J.; Schmidt, R.J. Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-I. J. Ethno pharmacol. 1997, 56, 103–108.

L

- Lad, V. and Frawley, D. 1986. *The Yoga of Herbs*. Santa Fe, NM: Lotus Press. 135-136

- Lansky, E.P., Newman, R. A., 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. ethnopharm.* N°109. Pages 177-206.
- Lemoine E. - Guide des fruits du monde - Les fruits de nos régions, les variétés exotiques. Collection les compagnons du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé. 1998. 192 pages. Page 151.
- Li WF, Hao DJ, Fan T, Huang HM, Yao H, Niu XF. Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Chem Biol Interact.* 2014;208:18–27.
- Longtin, R., 2003. The pomegranate: nature's power fruit? *J. Natl. Cancer Inst.* 95, 346–348

M

- Melgarejo, P., 1993. Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum* L.). Valencia. Spain: Univ. Politécnica de Valencia (UPV).
- Melgarejo-Sánchez, P.; Núñez-Gómez, D.; Martínez-Nicolás, J.J.; Hernández, F.; Legua, P.; Melgarejo, P. Pomegranate variety and pomegranate plant part, relevance from bioactive point of view: a review. *Bioresour. Bioprocess* 2021, 8, <https://doi.org/10.1186/s40643-020-00351-5>.
- Murthy, S. N. S., Donoso, V. P., Clearfield, H. R., & Chey, W. Y. (1977). Simultaneous measurement of basal pancreatic, gastric acid secretion, plasma gastrin, and secretin during smoking. *Gastroenterology*, 73, 758–761.
- MD,FACS Attila Csendes, Francisco Calvo, Dr Ronald, Dr Alfredo Sepulveda, Dr Mario Lazo MD, 2006 ; Traitement chirurgical de l'ulcère gastrique haut ; Journal américain de chirurgie Volume 149, numéro 6 ,juin 1985, pages 765-770

N

- Naghibi, F. Esmaeili, S. Abdullah, N. R. Nateghpour, M. Taghvai, M. Kamkar, S. & Mosaddegh, M. (2013). In vitro and in vivo antimalarial evaluations of myrtle extract, a plant traditionally used for treatment of parasitic disorders. *BioMedresearch international*
- Naqvi, S.A., Khan, M.S. and Vohora, S.B. 1991. Antibacterial, antifungal, and antihelminthic investigations on Indian medicinal plants. *Fitoterapia.*, 62 : 221 – 228

O

- O'Malley, P., 2003. Gastric ulcers and GERD: the new “plagues” of the 21st century , Observational survey of NSAID-related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. *Acta Gastroenterology* 65, 65–73
- Okamoto, T., Akuta, T., Tamura, F., Van Der Vliet, A., and Akaike, T. 2004. Molecular Mechanism for Activation and Regulation of Matrix Metalloproteinases during Bacterial Infections and Respiratory Inflammation. *Biological Chemistry*., 385(11): 997 – 1006.

P

- Pagare. S, Bhatia. M, et al. (2015). "Secondary metabolites of plants and their role: Overview." *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* 9 (3) : 293-304
- Pomegranate (*Punica granatum* L.): A Review Julie Jurenka, MT (ASCP)
- Piracha MI, Alam SS, Farooq H, Zulfiqar T, Khan FA, Zahra MEN. Prophylactic Anti-Ulcer Effect of Punica Granatum (Pomegranate) Peel and Seed Extract in Murine Peptic Ulcer Model. *Esculapio - JSIMS* 2022;18(04):248-252

R

- Rado Manitrana.R , Randria.M J D, Ratsimandisa.R, P Rajaonarivelo, H R Rajaona ; Février 2007 Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in Malagasy population; *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 100(1):57-60

S

- Schubert, S.Y., Lansky, E.P. and Necman, I. 1999. Antioxidant and Eicosanoid Enzyme Inhibition Properties of Pomegranate Seed Oil and Fermented Juice Flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*., 66(1): 11-17.
- Schwartz, E., Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ya’Akov, I., Wiesman, Z., Tripler, E., Bar-Ilan, I., Fromm, H., Borochoy-Neori, H., Holland, D. and Amir, R. 2009a. Environmental conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions’ fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 57:9197
- Seeram N.P., Schulman R.N. & Heber D. (2006). Pomegranates: ancient roots to modern medicine. CRC press. France.
- Shaker, E., Mahmoud, H., Mnaa, S., 2010. Anti-inflammatory and anti-ulcer activity
- Shell, E. J. (2021). Pathophysiology of peptic ulcer disease. *Physician Assistant Clinics*, 6(3), 603–611. <https://doi.org/10.1016/j.cpha.2021.05.005>
- Shin, J. M., & Kim, N. (2013). *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors*. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 19(1), 25–35. <https://doi.org/10.5056/jnm.2013.19.1.25>

- Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K.A. and Haqqi, T.M. 2008. Bioavailable Constituents /metabolites of Pomegranate (*Punica granatum L*)preferentially Inhibit COX2 Activity *ex vivo* and IL-1beta-induced PGE2 Production in Human Chondrocytes *in vitro*. (Lond), *Journal of Inflammation.*, 5(1): 9- 19.
- Soybel, D. I. (2005). Anatomy and Physiology of the Stomach. The Surgical Clinics of North America, 85(5), 875–894. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2005.05.009>

T

- Tai, F.W.D; McAlindon, M.E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Clin Med (Lond) 2021, 21, 131–134, <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0039>.
- Talia F. Malik ; Karthik Gnanapandithan ; Kévin Singh . (2023). Peptic ulcer disease. In StatPearls.
- Tao. B. Y (2007). Industrial applications for plant oils and lipids. Bioprocessing for value-added products from renewable resources, Elsevier: 611-627.
- Tela Botanica. (s.d.). *Punica granatum L*. Récupéré le 26 juin 2025, de <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-54104-description>

U

- update for the clinical nurse specialist. Clinical Nurse Specialist 17, 286–289.

W

- Wang H., Gao XD, Zhou GC, Cai L., Yao WB. Activité antioxydante in vitro et in vivo d'un extrait aqueux de fruit de Choerospondias axillaris. Chimie alimentaire. 2008 ; 106(3) : 888–895. doi : 10.1016/j.foodchem.2007.05.068
- Wu, Y.; Murray, G.K.; Byrne, E.M. Sidorenko, J.; Visscher, P.M; Wray, N.R. GWAS of peptic ulcer disease implicates Helicobacter pylori infection, other gastrointestinal disorders and depression. Nat Commun 2021, 12, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21280-7>.
- WAGNER, H., BLADT, S. and ZGAINSKI, E.M. 1984. Plant drug analysis. Springer, Berlin.

Y

- Yilmaz, C. 2007. *Nar*. HasadYayincilik, Istanbul, Turkiye. Therapeutic Applications of pomegranate

Z

- Zenk, M.H., Juenger, M. (2007) Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review* 68, 2757 – 2772
- Zhong X, Shi Y, Chen J, Xu J, Wang L, Beier RC, *et al.* Polyphenol extracts from *Punica granatum* and *Terminalia chebula* are anti-inflammatory and increase the survival rate of chickens challenged with *Escherichia coli*. *Biol Pharm Bull* 2014; 37(10): 1575
- Zeghad, N.; Ahmed, E.; Belkhiri, A.; Heyden, Y.V.; Demeyer, K. Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyon* 2019, 5, e01575.

Annexe 1

Tableau : administration de l'extrait de *Punica granatum* en fonction du poids des rats

Rats	Poids	Volume	Dose
Rat Ts1	143g	2,86ml	286mg
Rat F1	160g	3,2ml	320mg
Rat Ts2	172,1g	3,4ml	344,2mg
Rat F2	192,2g	3,8ml	384mg
Rat F3	176,8g	3,5ml	353,6mg
Rat F4	186,7g	3,7ml	373,4mg
Rat F5	181,8g	3,6ml	363,6mg

Annexe 2



Figure : balance analytique



Figure : automate de déshydratation et d'imprégnation

Annexe 3

Groupe	ASAT	ALAT	Urée	PT	PAL
Témoin sain 1	171,7	38,8	0,25	/	/
Test extrait F1	334,0	52,1	0,24	59,9	120
Test extrait F2	114,8	73,8	0,26	53,2	140
Test extrait F3	99,1	34,5	0,33	63,4	55
Test extrait F4	106,7	43,4	0,23	59,2	111
Test extrait F5	103,7	44,8	0,27	59,0	132

Tableau de variation des paramètres biochimiques dans l'essai limite aigue

Groupe	GB	GR	Vgm	HB	HT	TGMH	CCMH	PLAQUETTES
Témoin sain 1	8,30	6,75	56,60	16,10	38,20	23,90	42,30	1281,00
Test extrait F1	5,40	6,32	57,60	16,10	36,40	25,50	44,30	1035,00
Test extrait F2	6,20	6,71	56,50	16,40	37,90	24,40	43,20	1050,00
Test extrait F3	8,80	7,85	53,80	18,30	42,20	23,30	43,30	978,00
Test extrait F4	6,90	7,01	54,10	16,50	38,00	23,60	43,50	927,00
Test extrait F5	2,70	6,95	53,90	15,40	37,50	22,10	41,00	1006,00

Tableau 1 des variations variation des paramètres hématologique dans l'essai limite aigue

Groupe	VMP	IDP	PCT	Granulocytes PN	Lymphocytes	Glycémie
Témoin sain 1	5,90	15,20	0,75	9,50	84,10	0,53
Test extrait F1	5,90	15,00	0,61	14,90	74,30	1,38
Test extrait F2	6,10	15,10	0,64	8,60	84,50	1,36
Test extrait F3	6,40	15,20	0,62	7,70	86,10	1,25
Test extrait F4	6,50	15,20	0,60	7,00	85,90	1,19
Test extrait F5	6,30	15,00	0,63	7,10	87,00	1,09

TABLEAU 2 des variations variation des paramètres hématologique dans l'essai limite aigue

ANNEXE 4

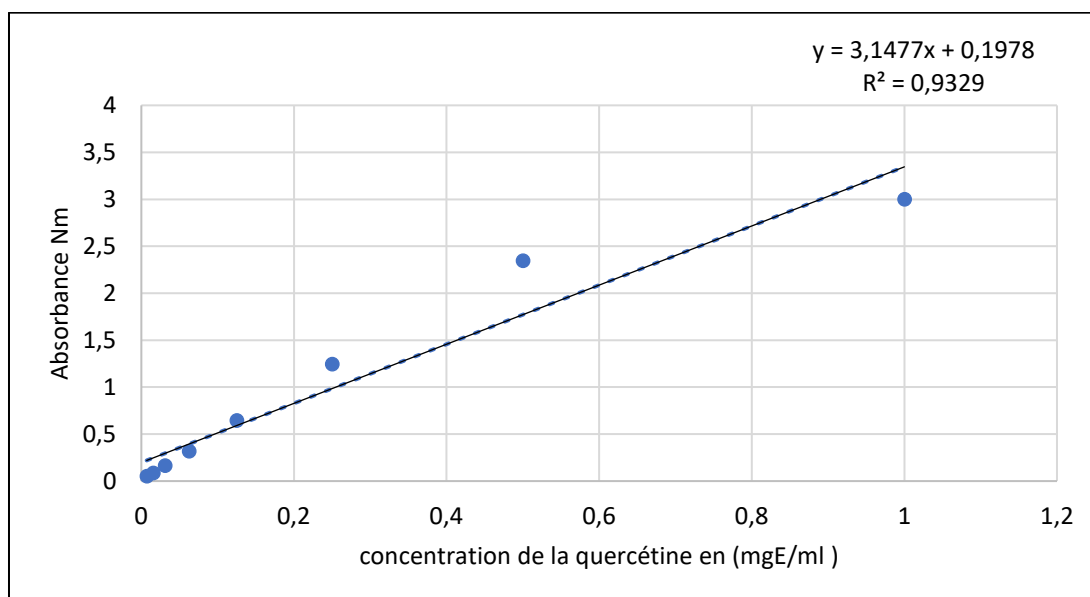


Figure : Courbe d'étalonnage de la quercétine

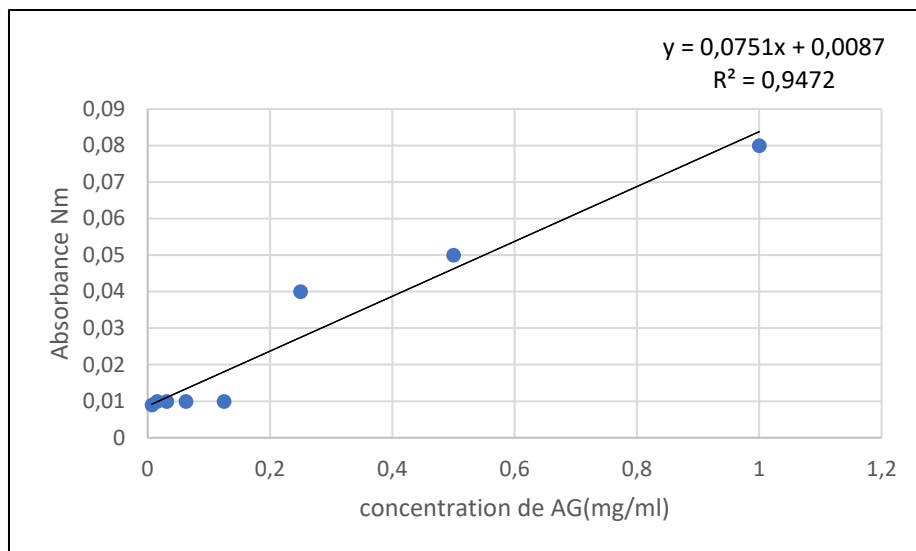


Figure : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

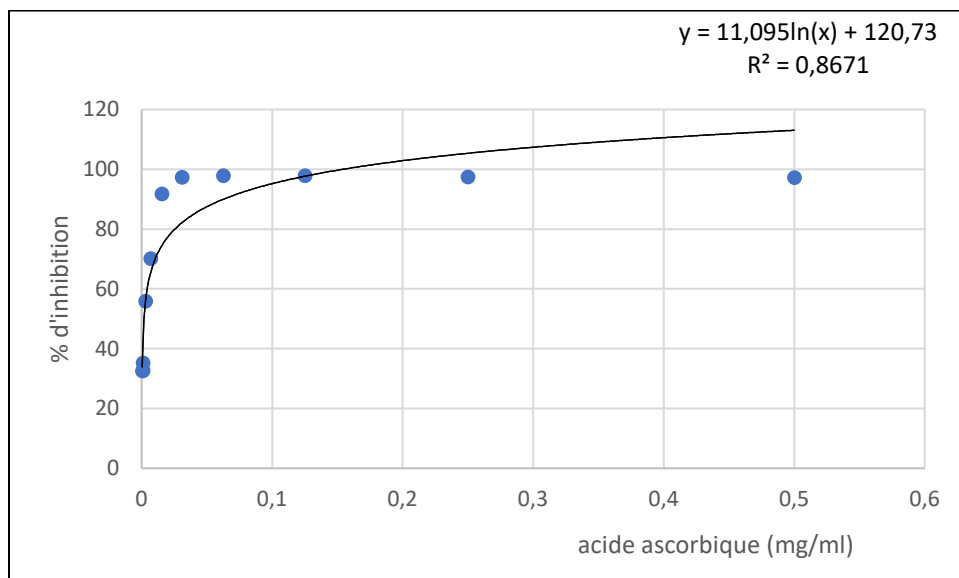


Figure : Inhibition radicalaire DPPH par l'Acide ascorbique

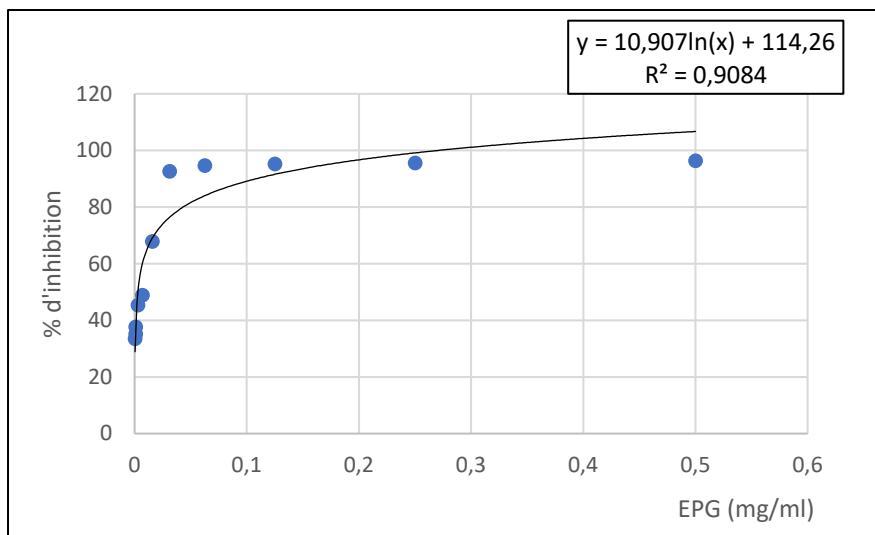


Figure : Inhibition radicalaire DPPH par l'EPG

Annexe 5

	Mean $\pm$ se (mean)	SD	CV
High dose	0.288 $\pm$ 0.01496663	0.03346640	0.11620278
Lot pathologique	0.416 $\pm$ 0.04884670	0.10922454	0.26255899
Low dose	0.240 $\pm$ 0.01080123	0.02160247	0.09001029
Référence	0.462 $\pm$ 0.08782938	0.19639246	0.42509191
Témoin sain	0.320 $\pm$ 0.02645751	0.04582576	0.14320549

p-value = 0.004714 Kruskal Wallis

Tableau des Variation des taux d'urée selon le test kruskal Wallis

Comparaison	Z	p.unadj	Bonferroni	Holm	BH	Interprétation
High dose – lot pathologique	-2.12	0.0338	0.338	0.237	0.084	Non significatif
High dose – Low dose	+1.13	0.2597	1.000	1.000	0.371	Non significatif
Lot pathologique – Low dose	+3.13	0.0018	0.0176	0.0158	0.0088	Significatif
High dose - Référence	-2.20	0.0281	0.281	0.225	0.0937	Non significatif
Lot pathologique – Référence	-0.073	0.9417	1.000	0.942	0.942	Non significatif
Low dose - Référence	-3.20	0.0014	0.0139	0.0139	0.0139	Significatif
High dose - Témoin sain	-0.73	0.4682	1.000	0.936	0.520	Non significatif
Lot pathologique - Témoin sain	+1.11	0.2658	1.000	0.797	0.332	Non significatif
Low dose - Témoin sain	-1.68	0.0923	0.923	0.554	0.185	Non significatif
Référence - Témoin sain	+1.18	0.2395	1.000	1.000	0.399	Non significatif

Tableau comparaisons des taux d'urée entre les groupes expérimentaux par le test de Dunn

Résumé

Punica granatum est une plante connue pour ses propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires traditionnellement utilisée pour traiter les inflammations, les aphtes buccaux, et l'ulcère gastrique. Le but de ce travail est d'étudier l'activité gastro-protectrice des extraits de l'écorce de cette plante, sur des rats males de souche Albinos Wistar. Des doses de 1000, 1500mg/kg ont été préparés. L'Oméprazole à 40 mg/kg est utilisé pour le groupe de contrôle positif, Les extraits ont été administrés par voie intragastrique, une heure après, le diclofénac 80mg/kg a été administré aux animaux pour provoquer l'ulcère. Après 4 heure, les rats ont été sacrifiés. L'estomac de chaque rat a été ouvert pour observer les ulcères. L'évaluation histopathologique de la muqueuse gastrique ainsi que l'analyse des scores de gravité des lésions, ont révélé une amélioration de l'intégrité tissulaire chez les groupes traités et une muqueuse sans anomalie ainsi qu'une diminution significative de score de gravité d'ulcère ($p < 0,05$), notamment à la dose de 1500 mg/kg, contrairement au groupe pathologique qui présentait des altérations épithéliales et une forte inflammation. Le pH gastrique est resté inchangé chez les groupes traités avec *Punica granatum*, suggérant une absence d'effet sur la sécrétion acide. Ces résultats confirment l'effet gastro-protecteur attendu de l'extrait d'écorce de *Punica granatum*, attribué à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques à action antioxydante et anti-inflammatoire.

Mot clés : punica granatum, ulcère gastrique, antioxydants, muqueuse gastrique, AINS

Abstract

Punica granatum is a plant known for its antioxidant and anti-inflammatory properties traditionally used to treat inflammation, mouth ulcers, and gastric ulcer. The purpose of this work is to study the gastroprotective activity of extracts from the bark of this plant, on male rats of Albinos Wistar strain. Doses of 1000, 1500mg/kg were prepared. Omeprazole at 40 mg/kg is used for the positive control group. The extracts were administered per intragastric way , one hour later, diclofenac 80 mg/kg was administered to the animals to promote the ulcer. After 4 hours, the rats were sacrificed. The stomach of each rat was opened to observe ulcers. The histopathological evaluation of the gastric mucosa as well as the analysis of lesion severity scores revealed an improvement in tissue integrity in the treated groups and a mucous membrane without abnormality as well as significant reduction in ulcer severity score ($p < 0.05$), especially at the dose of 1500 mg/kg, unlike the pathological group which presented epithelial alterations and strong inflammation.

These results confirm the expected gastro-protective effect of *Punica granatum* bark extract, attributed to its richness in phenolic and flavonoid compounds with antioxidant and anti-inflammatory action.

Key words: *Punica granatum*, gastric ulcer, antioxidants, gastric mucosa, NSAID

ملخص

Punica granatum هو نبات معروف بخصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات ويستخدم تقليدياً لعلاج الالتهابات وقرحة الفم وقرحة المعدة. الغرض من هذا العمل هو دراسة النشاط الوقائي للمعدة لمستخلصات لحاء هذا النبات على ذكور الجرذان من سلالة ألبينوس ويستار. تم تحضير جرعات 1000، 1500 ملغم/كغم. يتم استخدام أوميبرازول بجرعة 40 ملغم/كغم لمجموعة التحكم الإيجابية. تم إعطاء المستخلصات داخل المعدة، وبعد ساعة واحدة، تم إعطاء ديكلوفيناك 80 ملغم/كغم للحيوانات لتعزيز القرحة. وبعد 4 ساعات تم التضحية بالفئران. تم فتح معدة كل فأر لمراقبة القرحة. كشف التقييم النسيجي المرضي للغشاء المخاطي للمعدة وكذلك تحليل درجات شدة الآفة عن تحسن في سلامة الأنسجة في المجموعات المعالجة والغشاء المخاطي دون خلل بالإضافة إلى انخفاض كبير في درجة شدة القرحة ($P < 0.05$)، خاصة عند جرعة 1500 ملغم/كغم، على عكس المجموعة المرضية التي أظهرت تغيرات ظاهرية والتهاب قوي.

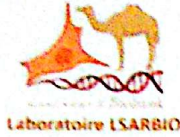
تؤكد هذه النتائج التأثير الوقائي المتوقع للمعدة لمستخلص لحاء *Punica granatum*، والذي يعزى إلى ثرائه بالمركبات الفينولية والفلافونويدية ذات التأثير المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum*، قرحة المعدة، مضادات الأكسدة، الغشاء المخاطي في المعدة، مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie

Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Activité antiulcéreuse de *Punica granatum*

Présenté par ^{Melles} Brahimi Nihad & Bentouati Sara Abir.

AVIS favorable D^r RAHIMI

Soutenu le 02.07.2025 à 11h Devant le Jury :

M. Chelghoum H.	MCA	SNV, Blida1	Président (e)
M. Rahim I.	MCA	SNV, Blida1	Examineur (ice)
M. Ait Yahia N.	MCA	Faculté de pharmacie , Alger-1	Promoteur (ice)
M. Zerouti K.	MCB	SNV, Blida1	Co-Promoteur (ice)

Session 2024 / 2025