

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude de quelques paramètres phytochimiques du clou de girofle "*Syzigium aromaticum*" et de l'écorce de grenade "*Punica granatum L.*"

Présenté par :

KHELID SABRINA & LAYACHI MOHAMMED

Soutenu le : 17/09/2020

Devant le jury composé de :

Mme MERZOUK Hafida
Mme HAMRI Sabrina
Mr BOUKHALFA Farid
Mlle TAKKA Melissa

MCB
MCA
MCB
Doctorante

Président
Encadreur
Examineur
Co-encadreur

Année universitaire : 2019 / 2020

*R*emerciements

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé volonté et patience dans l'accomplissement de ce travail à terme.

Nous remercions aussi Dr. HAMRI Sabrina notre encadreur, pour l'aide, les conseils ainsi que le soutien qu'elle nous a apporté durant notre travail.

Nous remercions aussi vivement Melle TAKKA Mélissa notre Co-encadreur, pour l'aide, les conseils et le soutien qu'elle nous a apporté durant notre travail.

Nous remercions aussi tous les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'assister à notre soutenance et d'évaluer notre travail, et finalement un grand merci à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pour accomplir ce travail.

*D*édicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce travail...

A ma mère MOKHTARI Ourida.

A mon père Yahia.

A mes sœurs Nouara, Dalila et Imen.

A mes frères Karim et Ahmed.

A toute ma grande famille.

A tous mes enseignants sans exception.

A tous mes amis(es) sans exception pour leurs aides et encouragements Lynda, sadjia, Moussa, AHCEN, Abdou...

A tous mes collègues, de spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire.

Sabrina

*D*édicaces

Ma première gratitude va au tout puissant ALLAH, le créateur de tout, pour m'avoir la vie et la force pour accomplir mon travail. Je dédie ce travail à :

L'âme de mon père **LAYACHI ABDELKADER**, j'espère qu'il soit au paradis.

A ma mère **LAYACHI FATIMA**, mes chers sœurs: **NADIA**, **SAMIA** et **IKRAM**, vous êtes lumière de ma vie.

A mon oncle **LAYACHI EL HAJ MOHAMMED**, je n'oublierai jamais ta présence et ton soutien.

A Melle **SAMIA BEN CRITLI**, je vous remercie pour votre présence dans ma vie, pour votre soutien constant et pour la joie que vous apportez à mon monde.

A toute ma grande famille.

A tous mes enseignants sans exception.

A Mr **BENCHIKH EL HAJ HASSAN** et Mr **MERABTI EL HAJ ABDELKRIM** pour leurs encouragements durant la période de mes études.

A Mme **BAYOUCEF SAIDA**, c'était l'inspiration de mes études.

A Melle **HITACHE ZEYNEB**, je la remercie énormément.

A ma binôme **KHELID SABRINA** et sa famille, je les remercie énormément.

A tous mes amis, en particulier **Abdelghani (FAHAM)**, **Mohamed (Zimo)** et **Hassan**.

A mes collègues de la spécialité de Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire.

Merci infiniment qu'ALLAH vous bénisse.

LAYACHI MOHAMMED

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des abréviations	
Introduction	1

PARTIE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Clou de girofle <i>Syzigium aromaticum</i>	2
1. Généralités sur le clou de girofle.....	2
1.1. Historique.....	2
1.2. Biologie du clou de girofle.....	3
1.3. Composition chimique.....	4
1.4. Pharmacologie de <i>Syzigium aromaticum</i>	5
1.5. Toxicité.....	7
II. Ecorce de grenade	8
1. Généralités sur le grenadier.....	8
1.1. Historique.....	8
1.2. Biologie du grenadier.....	8
1.3. Composition chimique.....	9
1.4. Utilisation traditionnelle de <i>Punica granatum</i> L.....	11
1.5. Activités biologiques de <i>Punica granatum</i> L.....	11
III. Métabolites secondaires	13
1. Généralités sur les métabolites secondaires.....	13
1.1. Historique.....	13
1.2. Définition des métabolites secondaires.....	13
1.3. Classification.....	13
1.3.1. Composés phénoliques.....	14
1.3.2. Les terpènes.....	17

1.3.3. Les alcaloïdes.....	18
1.4. Les glucosinolates.....	19

PARTE II: PATEI EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes.....	20
1. Matériel et méthodes.....	20
1.1. Préparation des échantillons.....	20
1.2. Extraction des composés phénoliques.....	21
1.3. Dosages des composés phénoliques.....	21
1.3.1. Polyphénols totaux.....	21
1.3.2. Flavonoïdes.....	22
1.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	23
II. Résultats et discussion.....	26
1. Teneur en composés phénoliques.....	26
1.1. Polyphénols totaux.....	26
1.2. Flavonoïdes.....	29
2. Activité antioxydante.....	32
2.1. Activité anti radical DPPH'.....	32
Conclusion et perspectives.....	35

Références bibliographiques

ANNEXE

Résumé

Liste des tableaux

Tableau I	Principaux constituants des différentes parties du grenadier (Jurenka, 2008)	10
Tableau II	Certaines activités biologiques de la grenade citées dans la littérature scientifique	12
Tableau III	Les différentes classes des terpénoïdes (Thakur et Sharma, 2018)	18
Tableau IV	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon du clou de girofle en PPT.	27
Tableau V	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon d'écorce de grenade en PPT.	28
Tableau VI	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon d'écorce de grenade en flavonoïdes.	30
Tableau VII	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon du clou de girofle en flavonoïdes.	31
Tableau IIX	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon du clou de girofle en DPPH*.	33
Tableau X	Comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon d'écorce de grenade en DPPH*.	34

Liste des figures

Figure 01	Répartition de clou de girofle en Afrique .	02
Figure 02	Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 03	Classification des tanins	17
Figure 04	Structure de certains alcaloïdes: caféine et nicotine	20
Figure 05	Composition de l'extrait de peau de grenade et de clou de girofle en PPT.	26
Figure 06	Composition de l'extrait de l'écorce de grenade et de clou de girofle en flavonoïdes.	29
Figure 07	Pourcentage d'inhibition du DPPH' par le clou de girofle et l'écorce de grenade.	32

Liste des photos

Photo A	Quelques boutons floraux (Bruneton, 1999)	04
Photo B	Les feuilles et les fleurs du giroflier	04
Photo C	Clou de girofle de <i>S. aromaticum</i>	20
Photo D	Ecorce de grenade séchée	20
Photo E	Poudre du clou de girofle	21
Photo F	Poudre d'écorce de grenade	21

Liste des abréviations

- AA** : Activité Anti radicalaire
- ABTS** : 2,2-azabis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate
- AG** : Acide Gallique
- DPPH** : 2,2-diphényl-1-pyridohydrazino
- EAG**: Equivalent Acide Gallique
- EGCG**: Gallate d'épigallocatechine
- EQ** : Equivalent Quercétine
- FDA** : Food and Drug Administration des Etats-Unis
- G6Pase** : Glucose 6 Phosphatase
- HSV-1** : Virus Herpes Simplex de type 1
- PEPCK** : Phosphoénolpyruvate Carboxykinase
- PPT**: Polyphénols Totaux
- RL** : Radicaux Libres
- S.aromaticum***: *Syzigium aromaticum*
- SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise
- TC**: Tanins Condensés
- TH**: Tanins Hydrolysable
- Tr/min** : Tour par minute

Introduction

Introduction

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes et sont synthétisés en adaptant les plantes à plusieurs conditions de stress biotiques et abiotiques, tels que le froid, l'humidité, l'infection, la sécheresse, la température et les carences nutritionnelles **(Dicko et al., 1995)**. On les trouve largement dans les légumes, les fruits, les légumineuses, les céréales, les noix et les jus. Après consommation, ils peuvent réduire le développement de plusieurs maladies dégénératives humaines, telles que les maladies coronariennes, le cancer, l'hypertension artérielle, le diabète, l'ostéoporose et les maladies neurodégénératives **(Pandey et Rizvi 2009; Adefegha et al., 2014)**.

Dans la nature, en particulier dans le règne végétal, les plantes contiennent de nombreuses substances biologiquement actives qui peuvent fournir des sources naturelles et nouvelles d'agents antibactériens **(Zellagui et al., 2012)**. Comme le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et la grenade (*Punica granatum* L.), ce sont des plantes médicinales traditionnellement utilisées. Ils sont riches en métabolites secondaires, en particulier avec une variété d'effets biologiques, y compris des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et antioxydantes **(Maoyadi, 2004; Curry, 2004; Bachiega et al., 2012; Abd El Azim et al., 2014; Merzouk et al. 2019)**.

La biodiversité de l'Algérie (faune et flore) est étonnamment riche, elle comprend de nombreuses espèces, dont plus de 3000 espèces appartiennent à plusieurs familles végétales. Plus de 15% de ces plantes sont endémiques, avec peu d'exploration **(Hanifi, 1991)**.

Dans le cadre de nos recherches, nous nous intéressons à la recherche phytochimique de deux plantes, le premier est *Syzygium aromaticum* «Le clou de girofle» de la famille des Myrtacées. La deuxième plante c'est *Punica granatum* L. «La grenade» de la famille des Punicacées.

Ce travail est divisé en deux parties principales :

Dans un premier temps, nous procédons à une revue de la littérature de ces deux plantes et menons des études antérieures sur leurs utilisations traditionnelles et les métabolites secondaires identifiés.

D'autre part, la deuxième partie est la partie expérimentale, nous décrivons le protocole d'extraction et l'analyse de quelque paramètre phytochimique du clou de girofle et des écorces de grenade, la seconde partie décrira et rationalisera les résultats obtenus et enfin, la conclusion et les perspectives de l'étude.

Synthèse bibliographique

I. Clou de girofle *Syzigium aromaticum*

1. Généralités sur le clou de girofle

1.1. Historique

Le giroflier est originaire des Moluques, d'Indonésie et exotique au Brésil, en Haïti, en Inde, au Kenya, à Madagascar, en Malaisie, à Maurice, au Mexique, aux Seychelles, au Sri Lanka et en Tanzanie. Madagascar et Zanzibar (Tanzanie) sont les plus grands fournisseurs de clous de girofle en Afrique, avec une production annuelle d'environ 20 000 à 27 000 tonnes, tandis que le Kenya et le Togo et le Sri Lanka, la Malaisie, la Chine et la Grenade fournissent environ 5 000 à 7 000 tonnes par an. L'Indonésie reste le premier producteur mondial, avec une production de clous de girofle secs de 70 535 tonnes en 2008 (Mbaveng et Kuete, 2017).

La figure 01 montre la répartition géographique de clou de girofle en Afrique.

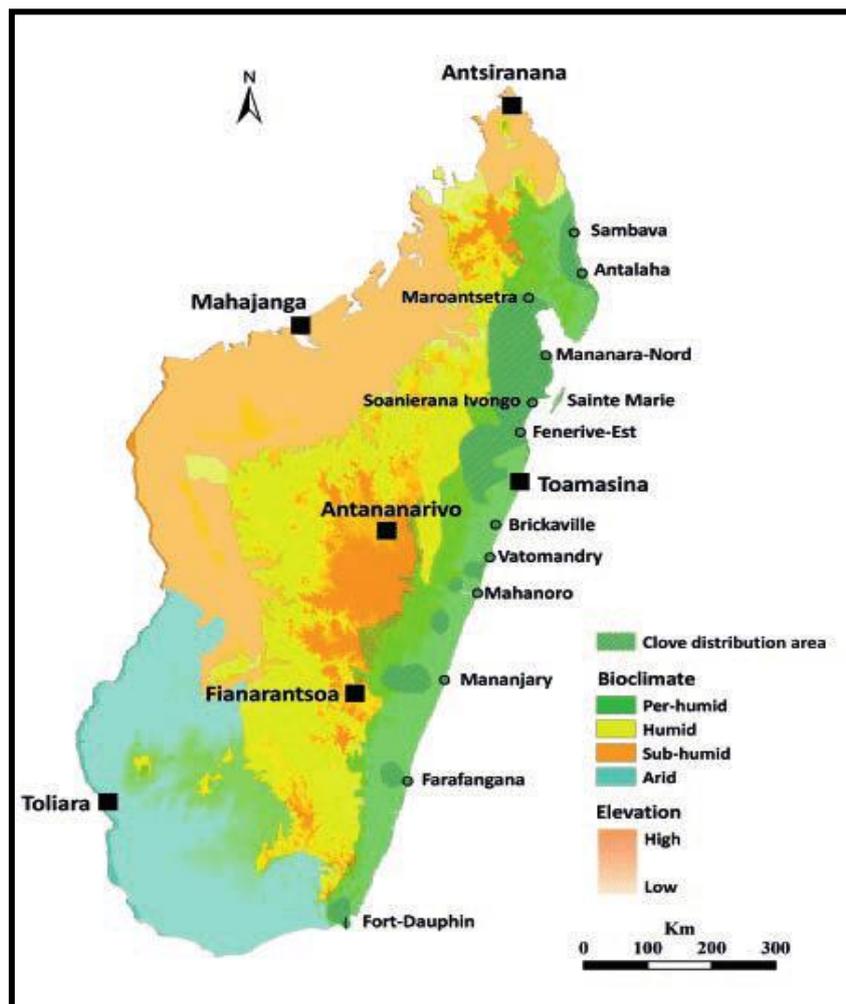


Figure 01 : répartition de clou de girofle en Afrique (Ranoarisoan et al., 2012).

I. Clou de girofle *Syzigium aromaticum*

1.2. Biologie du clou de girofle

1.2.1. Classification

La classification scientifique des espèces correspond à la classification systématique mondiale qui classe *Syzigium aromaticum* (Ghedira et al., 2010) comme suit:

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Embranchement : Magnoliophyta (= phanérogames)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (= angiospermes)

Classe : Magnoliopsida(= dicotylédones)

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Syzigium*

Espèce : *S. aromaticum*

1.2.2. Description botanique

Le giroflier ou girofle (*Syzigium aromaticum*) est un arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur de 8 à 12m, avec de grandes feuilles et fleurs groupées à la fin. Les boutons floraux ont d'abord une légère ombre, puis deviennent progressivement verts. Généralement, *Syzigium aromaticum* est de taille moyenne, avec une base de cime basse, des branches semi-dressées et de nombreux nombres. Les feuilles sont glabres et il y a de nombreuses glandes sébacées en dessous. Les fleurs sont petites, et dans les grappes de cymes terminales, les fleurs de chaque pédoncule ont trois ou quatre tiges à leurs extrémités, tandis que les sépales sont petits et ont des protubérances triangulaires. Les boutons floraux bruns secs et non ouverts sont appelés clous de girofle (Mbaveng et Kuete, 2017).

La photo (A) et la photo (B) montre les feuilles, les fleurs du giroflier et quelque bouton floral (Bruneton, 1999).

I. Clou de girofle *Syzygium aromaticum*



Photo (A): Quelques boutons floraux



Photo (B): les feuilles et les fleurs du giroflier

Le giroflier est un arbre de climat tropical, son système racinaire est fragile et principalement distribué au sol, il nécessite donc beaucoup de chaleur et d'eau, et a une bonne résistance au vent. Mais la floraison doit coïncider en été, qui est également nécessaire pour le séchage des clous (**Leroy Jean, 1946**).

Les "clous de girofle", doivent être récoltés deux fois par an (de juillet à décembre) et six à huit ans après la plantation des arbres avant la floraison. Ces bourgeons éraflés sont décollés manuellement des pédicelles et laissés séchés au soleil pour les rendre durs et rouge brunâtre. Sur 25 ans, chaque arbre peut récolter 3 à 4 kg par an (**Lobstein et al., 2017**).

1.3. Composition chimique

Syzygium aromaticum représente l'une des principales sources végétales de composés phénoliques, telles que les acides hydroxibenzoïques, les flavonoïdes, les propènes hydroxiphényliques, les acides hydroxicinamiques et l'eugénol ($C_{10}H_{12}O_2$) qui est la principale molécule bioactive et de dérivés de l'acide gallique tels que les tanins hydrolysables qui se trouvent en grande quantité dans la plante fraîche. De plus, le clou de girofle contient des flavonoïdes, à savoir la quercétine et le kaempférol, et des acides phénoliques comme les acides férulique, caféique, ellagique et salicylique. Les boutons floraux du clou de girofle contiennent jusqu'à 18 % d'huile essentielle qui se compose d'eugénol, d'acétate d'eugénol (**Batiha et al., 2020**) et de caryophyllène, le salicylate de méthyle, le pinène, la vanilline (**Mbaveng et Kuete, 2017**), et humulène (**Jirovetz et al., 2006**). L'huile de clou de girofle est incolore ou jaune pâle, avec une saveur et un goût de clou de girofle distincts. La composition de l'huile de girofle dépendent

I. Clou de girofle *Syzygium aromaticum*

principalement de plusieurs facteurs tel que les prétraitements, la variété, les conditions agro-écologiques et les procédés d'extraction (**Batiha et al., 2020**).

1.4. Pharmacologie du *syzygium aromaticum*

Plusieurs propriétés pharmacologiques de *S.aromaticum* ont été signalées, notamment des activités antiseptiques, antimutagènes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-ulcérogènes, anti-thrombotiques, antifongiques, antivirales et antiparasitaires (**Mbaveng et Kuete, 2017**).

1.4.1. Activité anticancéreuse

L'huile essentielle de clou de girofle a montré des effets cytotoxiques sur les lignées cellulaires cancéreuses et l'activité antimutagène (**Abd El Azim et al., 2014**). Il a également été signalé que l'extrait de méthanol du bourgeon de clou de girofle est cytotoxique pour la formation de mélanine dans les cellules de mélanome B16 (**Arung et al., 2011**). **Liu et al., (2014)** ont montrés aussi que l'extrait de clou de girofle peut représenter un remède à base de plantes pour le cancer, et l'acide oléanolique semble être l'un de ses ingrédients biologiquement actifs.

1.4.2. Activité antidiabétique

Plusieurs rapports documentent le rôle potentiel du clou de girofle comme antidiabétique. Il a été constaté que le clou de girofle et l'insuline peuvent réguler de manière similaire l'expression de gènes liés au diabète, tels que les gènes de phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) et de glucose 6 phosphatase (G6Pase) (**Prasad et al., 2005**).

1.4.3. Activités anti-inflammatoires

L'extrait du clou de girofle et le composé Eugénol ont des effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires sur la production de cytokines par les macrophages murins à des concentrations non cytotoxiques (**Bachiega et al., 2012**).

I. Clou de girofle *Syzigium aromaticum*

1.4.4. Activités anti-infectieuses

1.4.4.1. Activité antibactérienne

L'extrait méthanolique du clou de girofle de *S. aromaticum* s'est révélé avoir de bonnes propriétés antibactériennes contre *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus* à une concentration de 0,3 ml (10 mg/ ml) (**Abd El Azim et al., 2014**).

1.4.4.2. Activité antifongique

L'extrait méthanolique du clou de girofle a montré une bonne activité antifongique contre *Trichoderma sp*, *Fusarium*, *Aspergillus sp* et *Penicillium* à une concentration de 0,3 ml (10 mg/ ml) (**Abd El Azim et al., 2014**).

1.4.5. Activité antivirale

Selon des rapports, l'extrait de *S. aromaticum* inhibe de manière significative la production de cytomégalovirus murin dans les poumons des souris traitées et serait bénéfique pour la prévention de la maladie du cytomégalovirus chez les patients immunodéprimés (**Yukawa et al., 1996**). La forte activité inhibitrice de l'extrait de clou de girofle et de l'acyclovir sur le HSV-1 a également été signalée (**Kurokawa et al., 1995**).

1.4.6. Activités liées aux antioxydants artificiels

L'extrait méthanolique des boutons floraux de *S. aromaticum* a montré une forte activité de piégeage des radicaux libres contre le 2,2-diphényl-1-pyridohydrazino (DPPH[•]) (**Abd El Azim et al., 2014**). Les extraits phénoliques de clou de girofle ont également une activité antioxydante élevée, telle que leur pouvoir réducteur élevé et captent le 2,2-azabis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate (ABTS[•]) (**Adefegha et Oboh, 2012**).

1.4.7. Effets de protection de foie

Il a été démontré que l'extrait de clou de girofle réduit l'activité des enzymes hépatiques telles que l'alanine aminotransférase, l'aspartate aminotransférase et la phosphatase alcaline, et peut augmenter le niveau d'antioxydants tels que le glutathion,

I. Clou de girofle *Syzygium aromaticum*

l'acide ascorbique, la superoxydedismutase et la catalase, mettent en évidence leurs effets protecteurs sur le foie (**Adefegha et al., 2014**).

1.5. Toxicité

La Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) a confirmé l'innocuité des clous de girofle, de l'huile de clou de girofle, de l'eugénol et des oléorésines en tant que compléments alimentaires, mais une attention considérable a récemment été accordée à leur toxicité (**Vijayasteltar et al., 2016**). **Prashar et al., (2006)** ont étudié l'activité cytotoxique de l'huile essentielle de girofle et de l'eugénol sur les fibroblastes et les cellules endothéliales humaines *in vitro*, et ont prouvé qu'ils les considéraient comme sûrs. D'autre part, d'autres rapports montrent que à des concentrations plus faibles, l'eugénol peut agir comme un allergène de contact provoquant une réaction d'hypersensibilité retardée localisée (**Sarrami et al., 2002; Anuj et al., 2010**).

II. Ecorce de grenade

1. Généralités sur le grenadier

1.1. Historique

Le grenadier est un arbre fruitier appartenant à la famille des Punicacées, qui comprend les trois espèces les plus courantes: *Punica protopunica*, *Punica nana* et *Punica granatum*. Le nom du genre *Punica* est le nom romain de la ville de Carthage, où sont plantés les meilleurs grenadiers (**Jurenka, 2008**).

Le pays d'origine de la grenade s'étend de la Turquie au Caucase (Arménie, Azerbaïdjan, Géorgie), du Tadjikistan, du Turkménistan et de l'Ouzbékistan à l'est jusqu'à l'Iran, l'Afghanistan et le Pakistan (**Martinez et al., 2012**). Où il croît de façon spontanée depuis plus de 4000 ans (**Amouretti et Comet., 1993**).

La superficie mondiale de culture de grenades est de 300 000 hectares, dont plus de 76% sont répartis dans cinq pays (Inde, Iran, Chine, Turquie et États-Unis). Cependant, l'Espagne et l'Égypte ont une superficie comprise entre 16 000 et 2 400 hectares et font partie des pays qui développent des secteurs d'exportation et sélectionnent de nouvelles variétés (**Quiroz, 2009**).

1.2. Biologie du grenadier

1.2.1. Classification

Le grenadier (*Punica granatum* L.) a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753, D'après **Quezel et Santa, (1962)**, telle est cette classification :

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille : Punicaceae

Genre : *Punica*

Espèce : *Punica granatum* L.

II. Ecorce de grenade

1.2.2. Description botanique

C'est un petit arbuste de la région méditerranéenne et peut atteindre une hauteur de 6 m. Il peut vivre jusqu'à 200 ans, mais c'est le plus fructueux au cours des 20 premières années de résultats. Son écorce est gris beige et a tendance à se fissurer et à se décoller en vieillissant. Ses feuilles caduques sont au contraire, brillantes, de 3 à 7 cm de long et 2 cm de large, et ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. Son fruit, la grenade, contient en moyenne 600 graines de pulpe. L'agriculture est partout, généralement spontanément. Floraison à la fin de l'été. Fructification en septembre et octobre (Quezel et Santa, 1962; Bridel et al., 2004).

La grenade s'adapte à de nombreux climats allant des régions tropicales aux régions tempérées chaudes. Cependant, les climats subtropicaux ou même tropicaux du sud sont les plus appropriés. Les meilleurs fruits sont disponibles dans les régions subtropicales, où la période de haute température correspond au temps de maturation des grenades. Il peut bien tolérer la sécheresse, mais cela nuira à la qualité de ces fruits. Si les racines de grenade ne manquent pas d'eau, le climat chaud et sec sera bénéfique pour le grenadier (Afaq et al., 2005)^a.

1.3. Composition chimique

Les études phytochimiques de *Punica granatum* montrent que la grenade est riche en polyphénols (tanins, flavonoïdes, anthocyanes ...) et autres composés (comme les alcaloïdes) et la présence de sucres, d'acides organiques, d'acides aminés, de stéroïdes et de sels dépend des minéraux des parties de la plante (Gil et al., 2000; Lansky et Newman, 2007; Syed et al., 2007).

Le tableau I montre les Principaux constituants des différentes parties du grenadier.

II. Ecorce de grenade

Tableau I: Principaux constituants des différentes parties du grenadier (Jurenka, 2008)

Parties du grenadier	Constituants
Jus de fruit	Anthocyanines, glucose, acide ascorbique, acide ellagique, acide gallique, acide caféique, catéchines, EGCG, quercetine, rutine, nombreux minéraux, acides aminés
Huile de graine	95 % acide punique, acide ellagique et autres acides gras, stérols
Péricarpe (écorce et zeste) de fruit	Punicalagins phénoliques, acide gallique et autres acides gras, catéchine, EGCG, quercetine, rutine, et autres flavonoles, flavones, flavonones, anthocyanidines
Feuilles	Tannins (punicalin et punicafolin) et flavones glycosides (lutéoléine et apigénine)
Fleurs	Acide gallique, acide ursolique, triterpenoides
Racines et écorce	Ellagitannins (punicalins et punicalagins), nombreux alcaloïdes pipéridines

II. Ecorce de grenade

1.4. Utilisation traditionnelle de *Punica granatum* L.

Le fruit du grenadier et ses graines, écorces, épicarpe et fleurs sont utilisés depuis des milliers d'années dans les régions d'où il est originaire du Moyen-Orient, d'Asie et d'Amérique latine en raison de leur valeur médicinale. Historiquement, il a été utilisé pour traiter les maladies gastro-intestinales et les maladies parasitaires (**Afaq et al., 2005**)^b. Traditionnellement, différentes parties de la plante (écorce, racine, feuille) sont utilisées pour traiter la dysenterie, la diarrhée, les coliques, les saignements et les ulcères. Ils sont également connus pour leurs propriétés astringentes et anti-insectes (écorce, épicarpe) (**Sathyavati et al., 1987; Naovi et al., 1991; Nawwar et al., 1994; Kirthika et Basu, 2000; Vidai et al., 2003; Sudheesh et Vijayalakshmi, 2005**).

Les feuilles vertes sont utilisées pour traiter certaines maladies respiratoires "bronchite" (**Roig, 1974; Zhang et al., 1995**) et aussi contre la conjonctivite (**Ross et al., 2001**).

1.5. Activités biologiques de *Punica granatum* L.

La grenade, *Punica granatum* L., est bien connue pour de nombreux effets thérapeutiques et pharmaceutiques. Les EPI possèdent d'importants antioxydants, antimicrobiens, antifongiques, activité antivirale et cytotoxique et peut contribuer à la prévention et au traitement des maladies cardiovasculaires et certains cancers (**Lee et Watson, 1998; Lansky, 2000; Shiraishi et al., 2002; Kawamada et Shimada, 2002; Watanabe et Hatakoshi, 2002; Aviram et Dornfel, 2003; Maoyadi, 2004; Curry, 2004; Afaq et al., 2005**)^b; **Merzouk et al., 2019**).

Le tableau II regroupe les principales activités biologiques étudiées de différentes parties de *Punica granatum* L.

II. Ecorce de grenade

Tableau II: Certaines activités biologiques de la grenade citées dans la littérature scientifique.

Activités biologiques	Partie de la plante	Références
Anticancéreuse	<ul style="list-style-type: none"> • Fruit complet • Jus de fruit 	<ul style="list-style-type: none"> • (Syed et <i>al.</i>, 2007; Lansky et Newman, 2007) • (Seeram et <i>al.</i>, 2005)
Anti-inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> • Fruit complet 	<ul style="list-style-type: none"> • (Lansky et Newman, 2007)
Anti-oxydante	<ul style="list-style-type: none"> • Epicarpe • Graines • Jus de fruit • Fleurs 	<ul style="list-style-type: none"> • (Chidambara et <i>al.</i>, 2002; Ricci et <i>al.</i>, 2006; Rout et Banerjee., 2007; Surveswaran et <i>al.</i>, 2007) • (Schubert et <i>al.</i>, 1999) • (Seeram et <i>al.</i>, 2005; Rosenblat et <i>al.</i>, 2006) • (Kaur et <i>al.</i>, 2006; Stangeland et <i>al.</i>, 2009)
Antimicrobienne	<ul style="list-style-type: none"> • Fruit complet • Epicarpe 	<ul style="list-style-type: none"> • (Braga et <i>al.</i>, 2005) • (Prashanth et <i>al.</i>, 2001; Voravuthikunchai et <i>al.</i>, 2005; Caizada et <i>al.</i>, 2006) • (Merzouk et <i>al.</i>, 2019)
Antiulcéreuse	<ul style="list-style-type: none"> • Epicarpe 	<ul style="list-style-type: none"> • (Ajaikumar et <i>al.</i>, 2005)
Contre l'athérosclérose	<ul style="list-style-type: none"> • Epicarpe • Graines 	<ul style="list-style-type: none"> • (Parmar et Kar, 2007) • (de Nigris et <i>al.</i>, 2007)
Immuno-modulatrice	<ul style="list-style-type: none"> • Epicarpe 	<ul style="list-style-type: none"> • (Ross et <i>al.</i>, 2001)
Antiparasitaire	<ul style="list-style-type: none"> • Epicarpe 	<ul style="list-style-type: none"> • (Voravuthikunchai et <i>al.</i>, 2006)

III. Métabolites secondaires

1. Généralités sur les métabolites secondaires

1.1. Historique

En 1910, Albrecht Kossel, lauréat du prix Nobel de physiologie ou médecine, définit pour la première fois le concept de métabolites secondaires. Trente ans plus tard, Czapek l'a décrit comme le produit final. Selon lui, ces produits sont obtenus à partir du métabolisme de l'azote par ce qu'il appelle une «modification secondaire» (comme la désamination). Au milieu du XXe siècle, les progrès des techniques analytiques (comme la chromatographie) ont permis de récupérer de plus en plus de ces molécules, ce qui a jeté les bases de la mise en place de la discipline de la phytochimie (**Hussein et El-anssary, 2018**).

1.2. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont un groupe de substances chimiques d'origine naturelle qui n'ont généralement aucune fonction primaire évidente dans la croissance des cellules végétales. Ils sont synthétisés par les plantes en réponse à des stimuli externes et jouent généralement un certain rôle régulateur dans une série de réponses physiologiques et métaboliques au stress ou à l'invasion parasitaire (**Charles, 2005**).

Les métabolites secondaires des plantes, qui se distinguent des métabolites primaires tels que les acides nucléiques, les acides aminés, les glucides, les graisses, ...etc (**Kabera et al., 2014**). Ils jouent un rôle important dans l'interaction entre les plantes et l'environnement, contribuant ainsi à la survie des organismes dans leurs écosystèmes. Ils participent à la défense contre les agents pathogènes, les ennemis naturels, ou participent à la pollinisation et à la dissémination des graines (**Wink, 2003**).

1.3. Classification

Les métabolites secondaires des végétaux sont généralement classés en fonction de leurs voies de biosynthèse. Trois groupes principaux de molécules sont généralement considérés: les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Bourgaud et al., 2001; Chomel et al., 2016**).

III. Métabolites secondaires

1.3.1. Composés phénoliques

Le terme «polyphénol» ou «composé phénolique» comprend plus de 8 000 molécules (**Lugaci et al., 2003**), réparties en dix catégories chimiques, qui ont toutes un point commun: au moins un cycle aromatique est présent dans leur structure à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Le plus représentatif (plus de 5 000 molécules isolées), et le représentant le plus connu est «flavonoïde» (**Hennebelle et al., 2004**).

Les Polyphénols sont les produits du métabolisme secondaire des plantes et sont omniprésents dans tous les organes de la plante (**Boizot et Charpentier, 2006**). Ils proviennent de deux voies de synthèse principales: le shikimate et la voie acétate, sachant que les polyphénols naturels vont des molécules simples (comme les acides phénoliques) aux composés hautement polymérisés comme les tanins (**Lugaci et al., 2003; Chira et al., 2008**).

Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition des atomes de carbone qui les composent, en fonction de la nature du squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. Les composés phénoliques peuvent se lier aux sucres ou aux acides organiques: ils existent donc souvent sous ces formes. Les composés phénoliques peuvent être divisés en deux catégories: les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (**Chira et al., 2008**).

Les bienfaits des Polyphénols dans l'alimentation indiquent un effet protecteur contre le cancer et les maladies chroniques. Leurs propriétés chimiques font de ces composés Agents réducteurs, et ce sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation (**Derbel et Ghedira, 2005**). Parmi les composés phénoliques les plus importants, il y a :

1.3.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (**Pstove et al., 2003**). Les acides phénoliques sont classés en des acides hydroxybenzoïques tels que l'acide gallique et des acides hydroxycinnamiques, contenant de l'acide caféique, férulique et coumarique (**Han et al., 2007**).

III. Métabolites secondaires

A) Acides hydroxybenzoïques (Chira et al., 2008)

- sont des dérivés de l'acide benzoïque.
- Ont une structure générale de base de type (C6-C1).
- Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides.

B) Les Acides hydroxycinnamiques (Chira et al., 2008)

- Dérivent de l'acide cinnamique.
- Ont une structure générale de base de type (C6-C3).
- Existents sous forme combinée avec des molécules organiques.
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules.

1.3.1.2. Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme latin flavus; (flavus=jaune) (Malešev et Kuntić, 2007). Les flavonoïdes sont des composés phénoliques contenant 15 atomes de carbone, formant une structure C6-C3-C6, c'est-à-dire deux cycles aromatiques reliés par un pont à 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants de tous les composés phénoliques. Ils ont une variété d'effets en tant que métabolites secondaires dans les plantes, par exemple, ils participent au processus de défense ultraviolette, de pigmentation, de stimulation des nodules fixés à l'azote et de résistance aux maladies (Chira et al., 2008).

Les flavonoïdes semblent avoir joué un rôle important dans les traitements médicaux efficaces dans les temps anciens et ont été utilisés jusqu'à présent. Il existe plusieurs explications convergentes à l'intérêt récent pour les propriétés des flavonoïdes (Havsteen, 2002).

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « veino-actifs ». Ils peuvent réduire la perméabilité des capillaires et augmenter leur résistance. Ils sont également des antioxydants qui peuvent piéger les radicaux libres (RL). Ce dernier peut survenir dans de nombreuses situations, telles que le métabolisme oxydatif de l'oxygène, l'anoxie, l'inflammation et l'auto-oxydation des lipides (Derbel et Ghedira, 2005).

La figure 02 montre la structure de base des flavonoïdes.

III. Métabolites secondaires

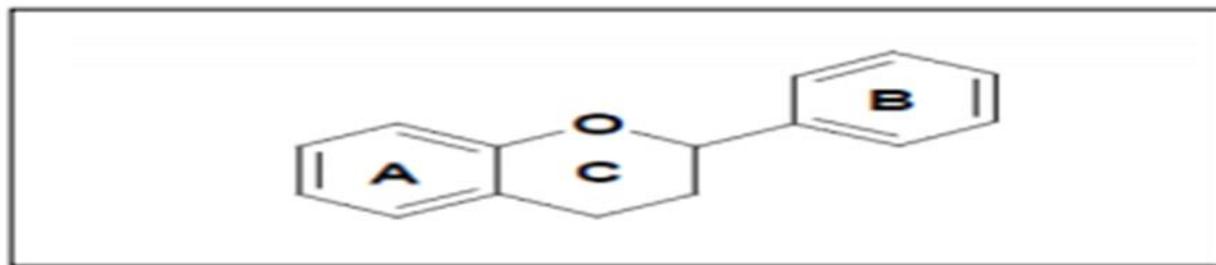


Figure 02: Structure de base des flavonoïdes (Erdman et al., 2007).

1.3.1.3. Les Tanins

Le nom «tanin» est dérivé du français «tanin» (substance tannante), qui est utilisé pour des nombreuses gammes des Polyphénols naturels (Khanbabaee et Ree, 2001). Les tanins sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal. Ces composés se trouvent dans les racines, les feuilles, les fruits et les graines. L'acide tannique a une capacité astringente et la capacité de former des complexes avec des protéines et des polysaccharides, de sorte qu'il peut être utilisé comme système de défense des plantes contre les attaques microbiennes et animales. Les tanins sont une famille complexe de composés phénoliques, solubles dans l'eau, d'un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Aganga et Mosase, 2001). Selon leur structure chimique et leurs propriétés, les tanins se divisent en deux catégories: les **tanins hydrolysables (TH)** et **condensés (TC)** (Derbel et Ghedira, 2005; Hassanpour et al., 2011). Ils se répartissent en trois catégories: les tanins condensés, les tanins hydrolysables et les tanins complexes. Cependant, une nouvelle proposition a été récemment proposée pour la décomposer en quatre catégories: tanins concentrés, tanins complexes, tanins galliques et ellagitanins (Khanbabaee et Ree, 2001; Aguilera et al., 2008).

- (1) **Les gallotanins** : sont tous des tanins qui relient des unités galloyle ou leurs dérivés méta-binaires à divers polyols, catéchines ou unités triterpénoïdes.
- (2) **Les ellagitanins** : sont ceux dans lesquels au moins deux unités galloyle C-C sont couplées l'une à l'autre et n'incluent pas d'unités catéchine liées à un glycoside.
- (3) **Les tanins complexes** : sont des tanins de catéchines simples Liaison glycosidique avec le gallotannin ou l'ellagitannin unitaire.

III. Métabolites secondaires

(4) **Les tanins condensés** : sont tous des proanthocyanidines oligomères et polymères formés par la liaison du C-4 d'une catéchine avec C-8 ou C-6 de la catéchine monomère suivante (**Khanbabaee et Ree, 2001**).

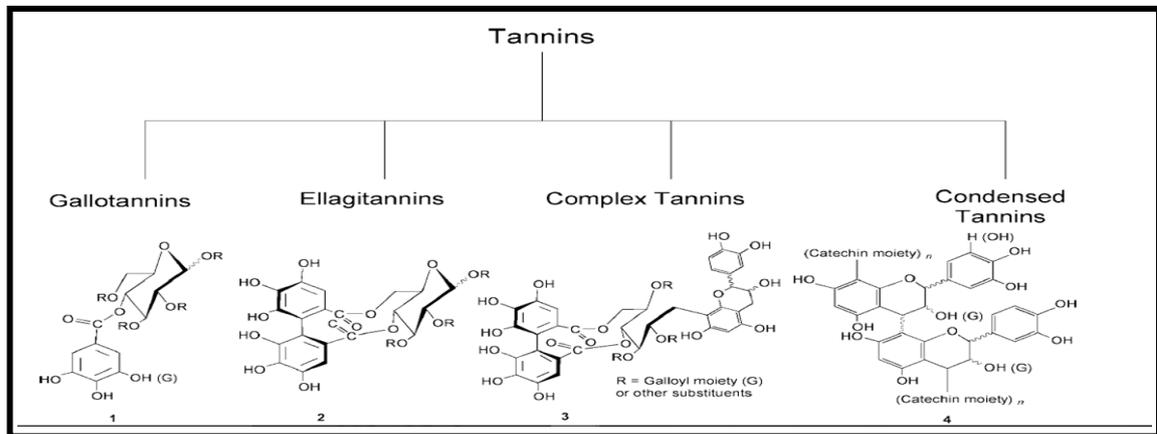


Figure 03 : Classification des tanins (Khanbabaee et Ree, 2001).

Le tanin a une capacité antioxydante. C'est ainsi que les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation lipidique et les tanins condensés inhibent la formation de superoxyde (**Derbel et Ghedira, 2005**).

1.3.2. Les terpènes

Les terpènes sont un groupe de composés naturels, dont la plupart se trouvent dans les plantes, dont certains sont également obtenus à partir d'autres sources. Les terpènes sont des substances volatiles qui peuvent donner une odeur aux plantes et aux fleurs. On les trouve largement dans les feuilles et les fruits des plantes supérieures, des conifères, des agrumes et des eucalyptus. Le terme «terpène» fait référence à un composé isolé de la térébenthine, qui est un liquide volatil isolé des pins. Les mono et sesquiterpènes simples sont les principaux composants des huiles essentielles obtenues à partir de la sève et des tissus de certaines plantes et arbres. Les di et triterpénoïdes ne sont pas volatils. Ils sont obtenus à partir des gommés et des résines de plantes et d'arbres. Les tétra-terpénoïdes sont un groupe de composés uniques appelés «caroténoïdes» (**Thakur et Sharma, 2018**). Le terme «terpène» était à l'origine utilisé pour décrire un mélange d'hydrocarbures isomères de formule moléculaire $C_{10}H_{16}$ trouvés dans les huiles essentielles obtenues à partir de la sève et des tissus de plantes et d'arbres. Cependant, il existe une tendance à utiliser des "terpénoïdes" dans un sens plus large, ce terme

III. Métabolites secondaires

comprenant les hydrocarbures et leurs dérivés oxydés. Cependant, de nos jours, certains auteurs utilisent le terme terpène pour désigner les terpénoïdes (**Thakur et Sharma, 2018**). Selon la définition moderne: «les terpénoïdes sont des hydrocarbures de formule générale $(C_5 H_8)_n$ d'origine végétale, et leurs dérivés d'oxydation, d'hydrogénation et de déshydrogénation» (**Maggi et al., 2009 ; Thakur et Sharma, 2018**). De plus, de nombreux terpénoïdes végétaux structurellement divers sont connus ou supposés avoir des fonctions spécialisées pour interagir avec les plantes sessiles et d'autres organismes dans le contexte de reproduction, défense ou symbiose (**Gershenzon et Dudareva, 2007; Thakur et Sharma, 2018**).

Tableau III : les différentes classes des terpénoïdes (**Thakur et Sharma, 2018**).

No	Nombre d'atomes de carbone	Valeur de n	Classe
1	10	2	Monoterpénoïdes($C_{10}H_{16}$)
2	15	3	Sesquiterpénoïdes($C_{15}H_{24}$)
3	20	4	Diterpénoïdes ($C_{20}H_{32}$)
4	25	5	Sesterpénoïdes ($C_{25}H_{40}$)
5	30	6	Triterpénoïdes ($C_{30}H_{48}$)
6	40	8	Tétraterpénoïdes($C_{40}H_{64}$)
7	>40	>8	Polyterpénoïdes($C_5 H_8)_n$

1.3.3. Les alcaloïdes

Les principaux «métabolites secondaires» azotés du règne végétal sont les alcaloïdes, le cyano glucoside / glucosinolate et les acides aminés non protéiques. Ces différentes classes de composés azotés sont principalement dérivées des 21 acides aminés protéiques (**Zenk et Juenger, 2007; Kabera et al., 2014**). Les alcaloïdes sont un groupe de composés aux structures diverses. Plus de 12 000 composés azotés cycliques ont été trouvés dans plus de 20% des plantes (**Kennedy et Wightman, 2011**). **Zenk et Juenger, (2007)** disent que les alcaloïdes sont des composés organiques naturels (le plus souvent trouvés dans les sources végétales) qui forment des hétérocycles avec des hétéroatomes

III. Métabolites secondaires

azotés sachant qu'ils possèdent une structure moléculaire complexe est plus ou moins basique et des propriétés physiologiques évidentes même à faibles doses.

Les alcaloïdes sont les plus mystérieux de tous les composés phytochimiques. Dans les temps anciens, ces ingrédients végétaux hautement biologiquement actifs étaient utilisés dans toutes les grandes cultures humaines. Il est utilisé comme analgésique depuis au moins 5 000 ans (**Zenk et Juenger, 2007**).

Les alcaloïdes ont plusieurs applications pharmaceutiques chez l'Homme : antalgiques (morphine, codéine), spasmolytiques (tubocurarine et papavérine) ; antitussifs (codéine) (**Stöckigt et al., 2002**).

Par rapport à la plupart des autres classes de métabolites secondaires, les alcaloïdes sont caractérisés par une grande diversité structurale et il n'y a pas de classification uniforme d'entre eux. La première classification était basée sur la source commune car aucune information sur la structure chimique n'était encore disponible. La classification récente est basée sur la similitude du squelette carboné (**Kabera et al., 2014**).

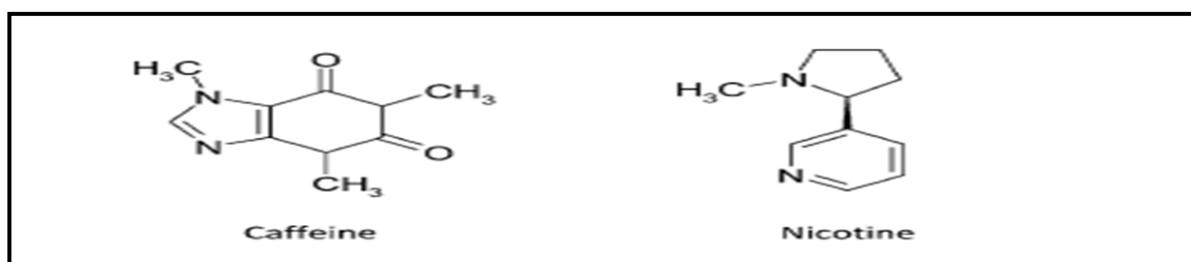


Figure 04 : Structures de certains alcaloïdes : caféine et nicotine (**Kennedy et Wightman, 2011**).

1.4. Les glucosinolates

Les glucosinolates sont composés de résidus de β -D-glucose, de résidus d'oxime sulfatés et de chaînes latérales en fonction de la structure variable de l'acide aminé dérivé. Ils s'hydrolysent lors de la mastication ou de la préparation culinaire, conduit à la formation d'isothiocyanates. Les glucosinolates sont surtout présents dans la famille des Brassicaceae ou crucifères (chou, radis, brocoli, radis, moutarde) et existent en différentes quantités. La présence de glucosinolates dans l'alimentation peut avoir un effet protecteur sur les cancérigènes (**Derbel et Ghedira, 2005**).

Partie Expérimentale

I. Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. Préparation des échantillons

Cette étude a été menée sur le clou de girofle, achetés à Oueds Semar Alger, ainsi que l'écorce de grenade récupérée en moins de septembre dans la région d'Akbou.

Les échantillons ont été rincés à l'eau distillée (l'excès de l'eau a été enlevé avec du papier absorbant), puis séché à l'aire libre (à l'abri de soleil) pendant une semaine.

Un test d'humidité a été effectué pour cet échantillon pour vérifier la stabilité du poids.



Photo C : Clou de girofle de *S.aromaticum*

Photo D: Ecorce de grenade séchée

I. Matériel et méthodes

Les produits obtenus par séchage ont été réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisés à 250 µm pour obtenir une poudre fine et uniforme.



Photo E : Poudre de clou de girofle

Photo F: Poudre de l'écorce de grenade.

1.2. Extraction des composés phénoliques

Afin d'extraire les Polyphénols de la poudre de nos échantillons, nous avons choisi d'extraire par macération selon le protocole décrit par **Romani et al., (2006)**, avec quelques modifications: macérer 5g de poudre dans 50 ml d'éthanol à 70% pendant 2h à température ambiante. Après filtration sur papier filtre, centrifuger le solvant à l'aide d'une centrifugeuse (4000 tr / min, pendant 20 minutes, à 20°C), puis effectuer une seconde filtration sur papier filtre, et conserver l'extrait à 4 ° C jusqu'à utilisation.

1.3. Dosage des composés phénoliques

1.3.1. Polyphénols totaux

➤ Principe

La teneur en Polyphénols totaux des extraits est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque le phénol est oxydé en un

I. Matériel et méthodes

mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique sont réduits. La couleur bleue résultante d'une absorption d'environ 760 nm (**Li et al., 2006**).

➤ **Protocole**

La concentration totale de composés phénoliques dans l'extrait brut a été déterminée par une modification de la méthode de **Bray et Tharpe (1954)**. 100 µl d'extrait ont été ajoutées à 2,0 ml de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 %. Après 2 minutes d'agitation, 100 µl de réactif Folin-Ciocalteu à 50% ont été ajoutés et laissés à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 750 nm sur Spectrophotomètre. Le blanc était constitué de réactifs et de solvants (éthanol 70%, Carbonate de sodium 2%, Folin-Ciocalteu 50%). Les concentrations phénoliques ont été déterminées par comparaison avec la courbe d'étalonnage standard et les résultats sont exprimés en g acide gallique / 100 g de poudre (g EAG/100g poudre) à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

1.3.2. Flavonoïdes

➤ **Principe**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de **Quettier et al. (2000)**. Le principe de cette méthode repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes de couleur avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3), ce qui rend la solution jaune.

➤ **Protocole**

Pour la teneur totale en flavonoïdes, la méthode de **Quettier et al. (2000)**, est utilisé avec quelques modifications. 1 ml d'une solution éthanolique d'extrait de nos échantillons est mélangé à 1 ml de chlorure d'aluminium (d' AlCl_3 à 2%). Après incubation à température ambiante pendant 15 min, les absorbances sont mesurées à 430 nm et les résultats sont exprimés en g quercétine / 100 g de poudre (g EQ/100g poudre) a l'aide d'une courbe d'étalonnage.

I. Matériel et méthodes

1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

1.4.1. Pouvoir de piégeage du radical DPPH^{*}

➤ Principe

Le diphényle picryl-hydrazyle (DPPH^{*}), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH^{*} est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez, 2002). On peut résumer la réaction de la manière suivante:



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH^{*} (violet) pour le transformer en diphényle picrylhydrazine (Jaune). Ceci permet de suivre la décoloration à 517nm.

➤ Protocole expérimental

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par Şahin *et al.*, (2004), et on l'apporte quelques modifications: une quantité aliquote (500 µL) de solution éthanolique d'extrait phénolique a été mélangée avec 1000 µL de solution méthanolique DPPH^{*}.

Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes, et l'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport au contrôle (avec de l'éthanol au lieu de la quantité d'extrait). L'activité anti-radicalaire (AA) est estimée comme le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH^{*} selon la formule suivante:

$$\text{AA \%} = [(\text{contrôle Abs} - \text{échantillon Abs}) / \text{contrôle Abs}] \times 100$$

II. Résultats et discussion

1. Teneur en composés phénoliques

1.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu. L'acide gallique est le standard le plus couramment utilisé dans cette méthode. Les résultats présentés sur la **figure 05** montrent que l'extrait du clou de girofle étudié contient des teneurs en composés phénoliques totaux de l'ordre de **17.82 ± 0.53** g EAG /100 g supérieur à celles de l'écorce de *Punica granatum* qui possède une teneur de **13.34 ± 0.69** g EAG /100g.

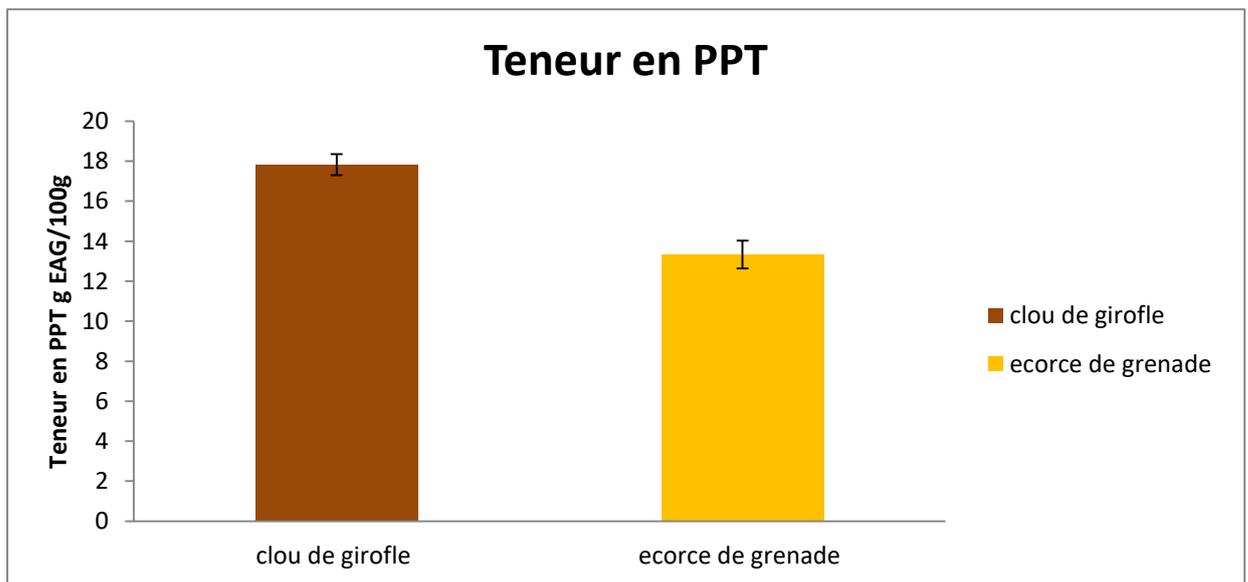


Figure 05 : Composition de l'extrait de peau de grenade et de clou de girofle en PPT.

Le tableau IV montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référencier pour l'échantillon du clou de girofle en PPT.

II. Résultats et discussion

Tableau IV : Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon du clou de girofle en PPT.

	Quantité utilisé	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus (g EAG/100g)	Remarque
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	17.82 ± 0.53	Fruit sans la fleur
Echantillon de Nikousaleh et Prakash (2016)	50 g	Micro-onde	Ethanol pure	2 min	3.36-3.41	Fruit complet
			Ethanol 80%	2 min	3.82–3.92	
Echantillon de Mohamed et al (2016)	10 g	macération	Ethanol 80%	1 h	23	Fruit complet

L'extraction des polyphénols totaux (PPT) de notre échantillon (*Syzygium aromaticum*) par l'éthanol 70% a fourni une teneur en PPT qui est comprise entre les résultats qui sont menés par **Nikousaleh et Prakash (2016)** d'ordre de **3.36 – 3.41** g EAG /100 g et **3.82 – 3.92** g EAG / 100 g dans l'éthanol pure et à 80% respectivement , et qui sont menés par **Mohamed et al (2016)** qui est d'ordre de **23** g EAG / 100 g sachant que leur extraction s'effectue par l'éthanol 80%.

Le tableau V montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour L'échantillon d'écorce de grenade en PPT.

II. Résultats et discussion

Tableau V : Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon d'écorce de grenade en PPT.

	Quantité	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus (g EAG/100g)
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	13.33 ± 0.69
Echantillon de Derakhshan et al (2018)	100 g	macération	Ethanol 80%	48 h	27.60-41.30
Echantillon d' El-Hadary et Fawzy (2019)	500 g	macération	Méthanol 80%	72 h	18.89

Lorsque nous avons comparé nos résultats avec les résultats d'une étude sur l'écorce de grenade menée par **Derakhshan et al (2018)**, la quantité de composés phénoliques détectée était d'environ **27.60-41.30** g EAG / 100 g et leur extraction était faite avec 80% d'éthanol. Nous avons donc remarqué que nos résultats sont bien inférieurs à ceux de **Derakhshan et al (2018)**.

Dans une étude menée par **El-Hadary et Fawzy (2019)** sur l'extrait d'écorce de grenade, ils ont constaté que la valeur des composés phénoliques totaux est égale à 18.89 g EAG / 100 g et en la comparant à nos résultats, nous concluons que la valeur que nous avons trouvée est très proche de celle trouvée par l'étude précédente.

D'après une étude menée par **Li et al (2006)**, les pelures contiennent habituellement des quantités plus importantes de composés phénoliques que la chair. Cette variabilité en quantité des PPT peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine géographique, l'espèce, la période de récolte, la technique d'extraction, et la concentration du solvant d'extraction.

II. Résultats et discussion

1.1.2. Flavonoïdes

Après les dosages des composés phénoliques totaux, nous avons effectué le dosage des flavonoïdes qui constituent une partie intégrante des polyphénols totaux. Il ressort de ces résultats (**figure 06**) que les flavonoïdes sont plus abondants dans l'extrait de l'écorce de grenade avec une teneur de 1.52 ± 0.04 g EQ /100g que dans l'extrait de clou de girofle qui possède une teneur de 0.60 ± 0.02 g EQ/100g.

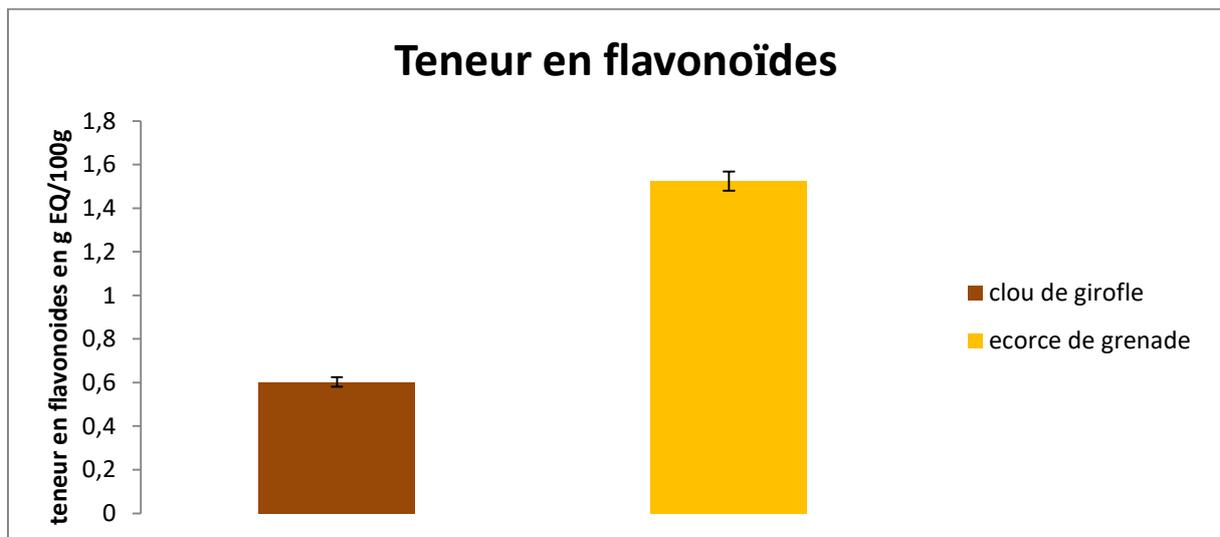


Figure 06: Composition de l'extrait de l'écorce de grenade et de clou de girofle en flavonoïdes.

Tableau VI montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référencés pour l'échantillon d'écorce de grenade en flavonoïdes.

II. Résultats et discussion

Tableau VI: Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon d'écorce de grenade en flavonoïdes.

	Quantité	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus (g EQ /100g)
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	1.52± 0.044
Echantillon d' El-Hadary et Fawzy (2019)	500 g	macération	Méthanol 80%	72 h	1.39
Echantillon de Sultana et al. (2008)	20 g	macération	Méthanol 80%	Une nuit	4.89

Les résultats obtenus pour les flavonoïdes de l'écorce de grenade sont faibles comparés à ceux rapportés par **Sultana et al. (2008)** avec une teneur de **4.89** g EQ /100g pour l'extrait de l'écorce de grenade.

Dans une étude menée par **El-Hadary et Fawzy (2019)** sur l'extrait d'écorce de grenade, ils ont constaté que la valeur des flavonoïdes totaux est égale à **1.39** g EQ/100g et en le comparant à nos résultats, nous concluons que notre valeur est supérieure à celle trouvé par **El-Hadary et Fawzy (2019)**.

Tableau VII montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon du clou de girofle en flavonoïdes.

II. Résultats et discussion

Tableau VII : Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon du clou de girofle en flavonoïdes.

	Quantité utilisé	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus (g EQ /100g)	N.B
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	0.60 ± 0.02	Fruit sans la fleur
Echantillon de Mohamed et al (2016)	10 g	macération	Ethanol 80%	1 h	1.2	Fruit complet

Dans une étude menée par **Mohammed et al (2016)** sur le même échantillon de recherche, ils ont constaté que la quantité totale des flavonoïdes dans les clous de girofle était estimée à **1.2** g EQ / 100 g, soit presque deux fois la quantité que nous avons trouvée.

D'après les résultats précédents (teneurs en polyphénols totaux et flavonoides), on constate que les teneurs en ces composés sont variées selon : la quantité d'échantillon utilisée, la méthode d'extraction, le type et la concentration du solvant utilisé, le temps d'extraction et la partie d'espèce utilisé.

D'après **Alouthman et al (2009)**, le taux de récupération des composés phénoliques est Affecté par leur solubilité dans le solvant utilisé et la polarité de ce dernier est très important dans le processus d'extraction.

D'une manière générale, selon **Hayouni et al (2007)** l'explication de la variabilité en teneurs des composés phénoliques est la suivante:

- La nature de solvant d'extraction utilisée.
- Les conditions de séchage ou de stockage.
- La taille des particules de l'espèce utilisée.
- Les facteurs géographique et climatique.

II. Résultats et discussion

2. Activité antioxydante

2.1. Activité anti-radical DPPH^{*}

Le test DPPH^{*} mesure la capacité de l'extrait à donner de l'hydrogène aux radicaux libres DPPH^{*}, ce qui peut provoquer le blanchiment de la solution DPPH^{*}. Plus l'effet blanchissant est important, plus l'activité antioxydante est élevée. Cela peut être bénéfique pour la conservation des aliments, des médicaments et des cosmétiques où les réactions en chaîne induites par les radicaux libres peuvent entraîner une oxydation des lipides et une dégradation ultérieure du produit (**Dastmalchi et al., 2008**).

Les résultats de test DPPH^{*} sont présentés en pourcentage d'inhibition dans la (**Figure 07**):

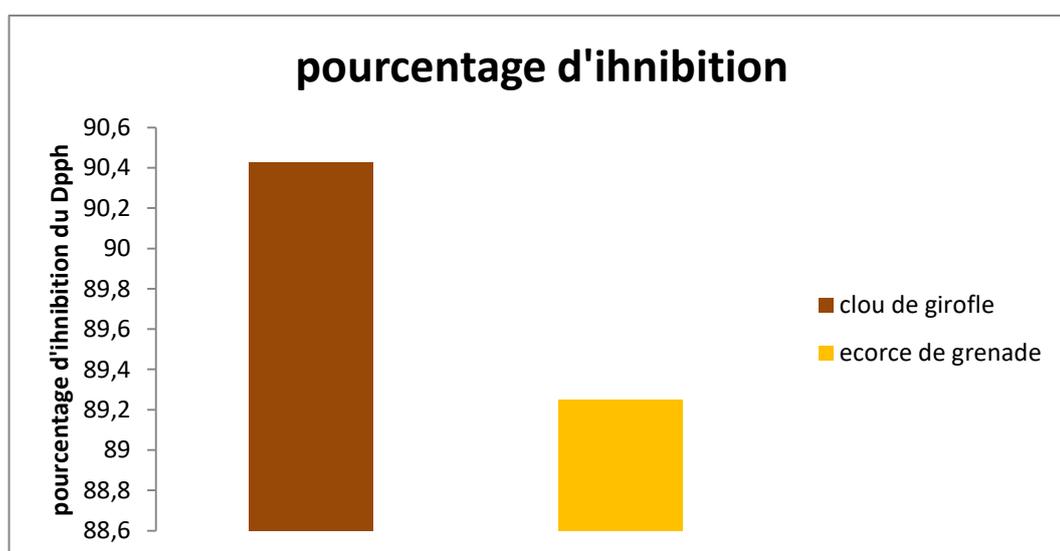


Figure 07 : Pourcentage d'inhibition du DPPH^{*} par le clou de girofle et l'écorce de grenade.

L'extrait de clou de girofle nous montre une capacité supérieure à inhiber le radical DPPH^{*} avec un pourcentage de **90.42% ± 0.16** par rapport à l'extrait de l'écorce de grenade qui possède un pourcentage de **89.25% ± 0.21**.

Tableau IIX montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon du clou de girofle en DPPH^{*}.

II. Résultats et discussion

Tableau IIX: Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon du clou de girofle en DPPH'.

	Quantité utilisé	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus	N.B
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	90.42% ± 0.16	Fruit sans la fleur
Echantillon de Sultana et al (2014)	10 g	agitation dans un agitateur orbital (Gallenkamp, UK)	Méthanol aqueux	24 h	71.16-94.58%	graines du clou de girofle
			Méthanol acidifié			
Echantillon de Mohammed et al (2016)	10 g	Macération	Ethanol 80%	1 h	91.4%	Fruit complet

Une étude réalisée par **Sultana et al (2014)** utilisant une solution de méthanol a révélé que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH' est estimé entre **71.16 et 94.58%**, et à partir de là, nous remarquons que notre résultat est compris entre ces résultats. C'est également une autre étude menée par **Mohammed et al (2016)** avec une solution d'éthanol à 70%. On estime que cela atteint un pourcentage de **91.4%**, où nous avons remarqué que nos résultats sont très proches à ceux de **Mohammed et al (2016)**.

Tableau IX montre la comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon d'écorce de grenade en DPPH'.

II. Résultats et discussion

Tableau IX : Comparaison de notre résultat avec des résultats référenciés pour l'échantillon d'écorce de grenade en DPPH'.

	Quantité utilisé	Méthode d'extraction	Solvant utilisé	Temps d'extraction	Résultats obtenus
Notre échantillon	5 g	macération	Ethanol 70%	2 h	89.25%± 0.21
Echantillon de Heena et al (2018)	5 g	macération	eau	1 h	plus de 95%
			Méthanol 80%		

L'étude de **Jalal et al (2018)** sur l'écorces de grenade a donné un pourcentage plus de **95%** d'inhibition de radical DPPH', et à partir de là, nous notons que notre résultat est plus petit de ce qui est prouvé par l'étude de **Jalal et al (2018)**.

D'après les résultats précédents (pourcentage d'inhibition du radical libre (DPPH'), on constate que les teneurs en ce pourcentage sont variées selon : la quantité d'échantillon utilisée, la méthode d'extraction, le type et la concentration du solvant utilisé, le temps d'extraction et la partie d'espèce utilisé.

Conclusion et perspectives

Notre travail axé sur la mise en évidence d'une étude phytochimique de matrices végétales considérées comme plantes médicinales : le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et l'écorce de grenade (*punica granatum* L.). Cette étude consiste à réaliser une étude phytochimique sur la plante sélectionnée en utilisant des méthodes d'extraction, évaluer les propriétés anti-oxydantes *in vitro* des extraits, évaluer les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes.

L'étude phytochimique des deux matrices prouvent que le clou de girofle est plus riche en polyphénols totaux avec une teneur de l'ordre de **17.82 ± 0.53** g EAG /100g que l'écorce de grenade qui marque une teneur de **13.34 ± 0.69** g EAG /100g, mais en terme de teneur en flavonoïdes totaux c'est le contraire, donc nous concluons selon les résultats des analyses que l'écorce de grenade est la plus riche avec une teneur de **1.52 ± 0.04** g QE /100g, sachant que le clou de girofle possède une teneur de l'ordre de **0.60 ± 0.02** g QE /100g.

L'étude de l'activité antioxydante selon le test DPPH^{*} des deux matrices montre que le clou de girofle possède un pourcentage d'inhibition du radical DPPH^{*} de l'ordre de **90.42% ± 0.16** qui est supérieur de celui d'écorce de grenade avec un pourcentage de **89.25% ± 0.21**.

Les perspectives envisagées dans les prochaines recherches concernant l'écorce de grenade et le clou de girofle :

- L'utilisation des extraits des deux matrices comme des agents antioxydants et étude de leur toxicité.
- L'étude *in vivo* et *in vitro* de l'activité antidiabétique de ces matrices.
- Détermination des conditions optimales de l'extraction des composés phénoliques (temps, température, pH, ...).
- Détermination d'autres activités biologiques des extraits de ces matrices.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abd El Azim, M. H. M., El-Mesallamy, A. M., El-Gerby, M., & Awad, A. (2014).** Anti-tumor, antioxidant and antimicrobial and the phenolic constituents of clove flower Buds (*Syzygium aromaticum*). *J Microb Biochem Technol*, 10, s8-s007.
- Adefegha, S. A., & Oboh, G. (2012).** In vitro inhibition activity of polyphenol-rich extracts from *Syzygium aromaticum* Merr. & Perry (Clove) buds against carbohydrate hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat pancreas. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 774-781.
- Adefegha, S. A., Oboh, G., Adefegha, O. M., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2014).** Antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative effects of dietary clove (*Syzygium aromaticum*) bud powder in a high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes rat model. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(13), 2726-2737.
- Afaq, F., Malik, A., Syed, D., Maes, D., Matsui, M. S., & Mukhtar, H. (2005)^a.** Pomegranate Fruit Extract Modulates UV-B-mediated Phosphorylation of Mitogen activated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal Keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*, 81(1), 38-45.
- Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C. G., Reed, J. D., & Mukhtar, H. (2005)^b.** Anthocyanin and hydrolyzable tannin rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *International journal of cancer*, 113(3), 423-433.
- Aganga, A. A., & Mosase, K. W. (2001).** Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 107-113.
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., & Aguilar, C. N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied microbiology and biotechnology*, 78(2), 189-199.
- Ajaikumar, K. B., Asheef, M., Babu, B. H., & Padikkala, J. (2005).** The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L.(pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 171-176.
- Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A. (2009).** Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785-788.

Références bibliographiques

- Amouretti, M. C., & Comet, G. (1993).** Des hommes et des plantes: plantes méditerranéennes, vocabulaire et usages anciens: table ronde, Aix-en-Provence, mai 1992 (Vol. 2). Publications de l'Université de Provence.
- Anuj, G., & Sanjay, S. (2010).** Eugenol: a potential phytochemical with multifaceted therapeutic activities. *Pharmacologyonline*, 2, 108-120.
- Arung, E. T., Matsubara, E., Kusuma, I. W., Sukaton, E., Shimizu, K., & Kondo, R. (2011).** Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. *Fitoterapia*, 82(2), 198-202.
- Aviram M., Dornfeld L. (2003).** Methods of using pomegranate extract causing regression in lesions due to arteriosclerosis in humans. US Patent, 6, 641-850.
- Bachiega, T. F., de Sousa, J. P. B., Bastos, J. K., & Sforcin, J. M. (2012).** Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(4), 610-616.
- Batiha, G. E. S., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020).** *Syzygium aromaticum* L.(Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, 10(2), 202.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.
- Braga, L. C., Shupp, J. W., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J. A., Carmo, L. S., & Nascimento, A. M. A. (2005).** Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of ethnopharmacology*, 96(1-2), 335-339.
- Bray, H. G., & Thorpe, W. V. (1954).** Analysis of phenolic compounds of interest in metabolism. *Methods of biochemical analysis*, 27-52.
- Bridel F., Bailly C., Dion N., Patiny A., Guimarães O., Geirnaert E. (2004).** Guide visual des espèces. ABCorpus. GNU F.D.L. 85.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2ème et 3ème édition. - Lavoisier. Tec. Doc. 538-1120

Références bibliographiques

- Calzada, F., Yépez-Mulia, L., & Aguilar, A. (2006).** In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 367-370.
- Charles M. Benbrook. (2005). Elevating Antioxidant Levels in Food through Organic Farming and Food Processing. The Organic Center for Education et Promotion, pp. 1-78.
- Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakasha, G. K., & Singh, R. P. (2002).** Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4791-4795.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- Chomel, M., Guittonny-Larchevêque, M., Fernandez, C., Gallet, C., DesRochers, A., Pare, D., & Baldy, V. (2016).** Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. *Journal of Ecology*, 104(6), 1527-1541.
- Curry S.C. (2004).** Breast enhancement system. US. Patent, 6, 673-366.
- Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Oinonen, P. P., Darwis, Y., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2008).** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 391-400.
- de Nigris, F., Balestrieri, M. L., Williams-Ignarro, S., D'Armiento, F. P., Fiorito, C., Ignarro, L. J., & Napoli, C. (2007).** The influence of pomegranate fruit extract in comparison to regular pomegranate juice and seed oil on nitric oxide and arterial function in obese Zucker rats. *Nitric oxide*, 17(1), 50-54.
- Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M. S., & Sadrabad, E. K. (2018).** Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and chemical toxicology*, 114, 108-111.
- Derbel, S., & Ghedira, K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), 28-34.
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Barro, C., Traoré, A. S., van Berkel, W. J., & Voragen, A. G. (2005).** Impact of phenolic compounds and related enzymes in sorghum varieties for resistance and susceptibility to biotic and abiotic stresses. *Journal of Chemical Ecology*, 31(11), 2671-2688.

Références bibliographiques

- El-Hadary, A. E., & Ramadan, M. F. (2019).** Phenolic profiles, antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *Journal of food biochemistry*, 43(4), e12803.
- Erdman Jr, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., & Messina, M. (2007).** Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of nutrition*, 137(3), 718S-737S.
- Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2007).** The function of terpene natural products in the natural world. *Nature chemical biology*, 3(7), 408-414.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2010).** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflie. *Phytothérapie*, 8(1), 37-43.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000).** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48(10), 4581-4589.
- Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- Hanifi, N. (1991).** Importance des ressources phytogénétiques et leur utilisation en Algérie. In *conservation des ressources végétales*.
- Hassanpour, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B., & Mehmandar, F. B. (2011).** *Int. J. Forest, Soil and Erosion*, 2011 1 (1): 47-53 ISSN 2251-6387© November 2011, GHB's Journals, IJFSE, Shabestar, Iran.
- Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2018).** Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal Medicine*.

Références bibliographiques

- Jalal, H., Pal, M. A., Hamdani, H., Rovida, M., & Khan, N. N. (2018).** Antioxidant activity of pomegranate peel and seed powder extracts. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 7(5), 992-997.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., & Schmidt, E. (2006).** Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6303-6307.
- Jurenka, J. (2008).** Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Alternative medicine review*, 13(2), 128-44.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014).** Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*, 2, 377-392.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., & Alam, M. S. (2006).** *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology*, 44(7), 984-993.
- Kawamada Y., Shimada T. (2002).** Cosmetic or tropical composition containing *Punica granatum* extracts. Japon Kokai Tokkyo Koho, Japanese Patent: JP 2002234814 A2 20020823.
- Kennedy, D. O., & Wightman, E. L. (2011).** Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition*, 2(1), 32-50.
- Khanbabaee, K., & Van Ree, T.(2001).** Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- Kirthikar K.R., Basu B.D., (2000).** *Punica granatum* In: *Indian Medicinal Plants*. Sri Satguru Publications, Vol. 5, 1508-1513.
- Kurokawa, M., Nagasaka, K., Hirabayashi, T., Uyama, S. I., Sato, H., Kageyama, T., & Shiraki, K. (1995).** Efficacy of traditional herbal medicines in combination with acyclovir against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in vivo. *Antiviral research*, 27(1-2), 19-37.
- Lansky E.P. (2000).** Pomegranate supplements prepared from pomegranate material including pomegranate seeds. US. Patent, 6, 060-063.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007).** *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.

Références bibliographiques

- Lee, J., & Watson, R. R. (1998).** Pomegranate: a role in health promotion and AIDS. *Nutrition, foods and AIDS*, 213-216.
- Leroy, J. F. (1946).** Le Giroflier et les Plantes à parfums. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 26(286), 425-429.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006).** Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*, 96(2), 254-260.
- Liu, H., Schmitz, J. C., Wei, J., Cao, S., Beumer, J. H., Strychor, S., ... & Zhao, X. (2014).** Clove extract inhibits tumor growth and promotes cell cycle arrest and apoptosis. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 21(5), 247-259.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Barbelet, S. (2017).** Huile essentielle de Clou de girofle. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(569), 59-61.
- Lugasi, A. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- Maggi, L., Carmona, M., Del Campo, C. P., Kanakis, C. D., Anastasaki, E., Tarantilis, P. A., & Alonso, G. L. (2009).** Worldwide market screening of saffron volatile composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1950-1954.
- Malešev, D., & Kuntić, V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921-939.
- Maoyadi A. (2004).** Mixtures of pomegranate seed oils for cosmetics. Japanese Patent: JP 2004083544 A2 20040318.
- Martínez, J. J., Hernández, F., Abdelmajid, H., Legua, P., Martínez, R., El Amine, A., & Melgarejo, P. (2012).** Physico-chemical characterization of six pomegranate cultivars from Morocco: processing and fresh market aptitudes. *Scientia Horticulturae*, 140, 100-106.
- Mbaveng, A. T., & Kuete, V. (2017).** *Syzygium aromaticum*. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* (pp. 611-625). Academic Press.
- Merzouk, H., Bedja, B., Benmeziane, B., Touati, N., & Chibane, M. (2019).** Effect of Pomegranate Peel Extract on *Candida albicans* Growth and Biofilm Formation. *Phytothérapie*, 17(3), 120-128.

Références bibliographiques

- Mohamed F Abo El-Maati., Samir A. Mahgoub., Salah M. Labib., Ali., M.A. Al-Gaby., Mohamed Fawzy Ramadan. (2016).** Phenolic extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) with novel antioxidant and antibacterial activities. *European Journal of Integrative Medicine*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2016.02.006>.
- Naqvi, S., Khan, M. S. Y., & Vohora, S. B. (1991).** Anti-bacterial, anti-fungal and anthelmintic investigations on Indian medicinal plants. *Fitoterapia*, 62(3), 221-228.
- Nawwar, M. A., Hussein, S. A., & Merfort, I. (1994).** NMR spectral analysis of polyphenols from *Punica granatum*. *Phytochemistry*, 36(3), 793-798.
- Nikousaleh, A., & Prakash, J. (2016).** Antioxidant components and properties of dry heat treated clove in different extraction solvents. *Journal of food science and technology*, 53(4), 1993-2000.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2, 270–278.
- Parmar, H. S., & Kar, A. (2007).** Protective role of *Citrus sinensis*, *Musa paradisiaca*, and *Punica granatum* peels against diet-induced atherosclerosis and thyroid dysfunctions in rats. *Nutrition Research*, 27(11), 710-718.
- Prasad, R. C., Herzog, B., Boone, B., Sims, L., & Waltner-Law, M. (2005).** An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. *Journal of ethnopharmacology*, 96(1-2), 295-301.
- Prashanth, D., Asha, M. K., & Amit, A. (2001).** Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, 72(2), 171-173.
- Prashar, A., Locke, I. C., & Evans, C. S. (2006).** Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*, 39(4), 241-248.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., ... & Trotin, F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1-2), 35-42.
- Quezel, P., & Santa, S. (1962).** New flora of Algeria and southern desert regions. Edition: Centre National de la Recherche Scientifique. Paris. p 1170.
- Quiroz, I. (2009).** Granados, perspectivas y oportunidades de un negocio emergente: Antecedentes de Mercado. Fundación Chile. 72p.

Références bibliographiques

- Ranoarisoa, K. M., Penot, E., Danthu, P., & Rakotondravelo, J. C. (2012).** Evolution historique et Etat des lieux de la filière girofle à Madagascar. Document de travail de synthèse n° 1, 2012. Projet AFS4FOOD.
- Ricci, D., Giamperi, L., Bucchini, A., & Fraternali, D. (2006).** Antioxidant activity of *Punica granatum* fruits. *Fitoterapia*, 77(4), 310-312.
- Roig J.T. (1974).** Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. *Ciencia y Técnica*, Havana, 401-402.
- Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., & Heimler, D. (2006).** Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chemistry*, 95(2), 221-225.
- Rosenblat, M., Hayek, T., & Aviram, M. (2006).** Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*, 187(2), 363-371.
- Ross, R. G., Selvasubramanian, S., & Jayasundar, S. (2001).** Immunomodulatory activity of *Punica granatum* in rabbits—a preliminary study. *Journal of ethnopharmacology*, 78(1), 85-87.
- Rout, S., & Banerjee, R. (2007).** Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. *Bioresource Technology*, 98(16), 3159-3163.
- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., & Özer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*, 15(7), 549-557.
- Sánchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Sarrami, N., Pemberton, M. N., Thornhill, M. H., & Theaker, E. D. (2002).** Adverse reactions associated with the use of eugenol in dentistry. *British dental journal*, 193(5), 257-259.
- Satyavati, G. V., Raina, M. K., & Sharma, M. (1987).** Medicinal plants of India. Indian Council of Medical Research. New Delhi. Vol, 2, 540.

Références bibliographiques

- Schubert, S. Y., Lansky, E. P., & Neeman, I. (1999).** Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of ethnopharmacology*, 66(1), 11-17.
- Seeram, N. P., Adams, L. S., Henning, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M. G., & Heber, D. (2005).** *In vitro* antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(6), 360-367.
- Shiraishi, T., Abe, M., & Miyagawa, T. (2002).** Cheese foods containing conjugated polyunsaturated fatty acid glycerides. Japanese Patent: JP, 2002176913.
- Stangeland, T., Remberg, S. F., & Lye, K. A. (2009).** Total antioxidant activity in 35 Ugandan fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113(1), 85-91.
- Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A*, 967(1), 85-113.
- Sudheesh, S., & Vijayalakshmi, N. R. (2005).** Flavonoids from *Punica granatum*—potential antiperoxidative agents. *Fitoterapia*, 76(2), 181-186.
- Sultana, B., Anwar, F., Asi, M. R., & Chatha, S. A. S. (2008).** Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. *Grasas y aceites*, 59(3), 205-217.
- Sultana, B., Anwar, F., Mushtaq, M., Aslam, M., & Ijaz, S. (2014).** *In vitro* antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum* L.) seed extracts. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(4), 893-899.
- Surveswaran S., Cai Y.Z., Corke H., Sun M. (2007).** Systematic evaluation of naturel phenolic antioxidants fro 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102, 938-953.
- Syed D.N., Afaq F., Mukhtar H. (2007).** Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminar in Cancer Biology*, 17, 377-385.
- Thakur, A., & Sharma, R. (2018).** Health promoting phytochemicals in vegetables: A mini review. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 8(2), 107-117.
- Vidal, A., Fallarero, A., Peña, B. R., Medina, M. E., Gra, B., Rivera, F., ... & Vuorela, P. M. (2003).** Studies on the toxicity of *Punica granatum* L.(Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 89(2-3), 295-300.

Références bibliographiques

- Vijayasteltar, L., Nair, G. G., Maliakel, B., Kuttan, R., & Krishnakumar, I. M. (2016).** Safety assessment of a standardized polyphenolic extract of clove buds: Subchronic toxicity and mutagenicity studies. *Toxicology Reports*, 3, 439-449.
- Voravuthikunchai, S. P., Limsuwan, S., & Mitchell, H. (2006).** Effects of Punica granatum pericarps and Quercus infectoria nutgalls on cell surface hydrophobicity and cell survival of Helicobacter pylori. *Journal of health science*, 52(2), 154-159.
- Voravuthikunchai, S. P., Sririrak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T., & Honda, T. (2005).** Inhibitory effects of active compounds from Punica granatum pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7. *Journal of health science*, 51(5), 590-596.
- Watanabe, K., & Hatakoshi, M. (2002).** Punica granatum leaf extracts for inactivation of allergen. Japan Kokai TokkyoKoho (Japanese patent) JP, 2002370996, A2.
- Wink, M. (2003).** Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.
- Yukawa, T. A., Kurokawa, M., Sato, H., Yoshida, Y., Kageyama, S., Hasegawa, T., ... & Shiraki, K. (1996).** Prophylactic treatment of cytomegalovirus infection with traditional herbs. *Antiviral research*, 32(2), 63-70.
- Zellagui A, Tijani S, Gherraf N and Rhouati S. (2012).** Phytochemical Screening and Evaluation of Antibacterial Activity of Alkaloids Extract of SeneciodelphinifoliusVahl. *Der Pharma Chemica*. 4(5), 2080-2084.
- Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2757-2772.
- Zhang, J., Zhan, B., Yao, X., Gao, Y., & Shong, J. (1995).** Antiviral activity of tannin from the pericarp of Punica granatum L. against genital Herpes virus in vitro. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 20(9), 556-558.

ANNEXE

ANNEXE 1: Le matériel et les réactifs utilisés.

Matériels	Réactifs
Plaque magnétique agitatrice	Ethanol
Réfrigérateur	Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
Spectrophotomètre	Réactif de Folin-Ciocalteu
Vortex	DPPH ⁺
Papiers filtre	Chlorure d'aluminium (AlCl_3)
Tamiseur	Eau
Papiers aluminium	
Broyeur électrique	
Centrifugeuse	
Barre d'agitation magnétique	
Béchers	
Eprouvette graduée	
Micropipette 10-1000 μl	
Papier absorbant	
Spatule	
Entonnoir	
Pissette	

ANNEXE



ANNEXE 2: Extraction des composés phénoliques: pesage, macération, filtration.

ANNEXE 3: Résultats obtenus pour les Polyphénols totaux

Echantillon	facteur multiplicateur	concentration de la poudre g/mL	absorbance	Concentration mg/ml	facteur de dilution	Concentration corrigé g/100g EAG	moyenne g/100g EAG	Ecartype
<i>S.aromaticum</i> (E1)	6000	0,0016	0,564	0,3024	60	18.14		
<i>S.aromaticum</i> (E2)	6000	0,0016	0,536	0,2868	60	17.21	17.82	0.53
<i>S.aromaticum</i> (E3)	6000	0,0016	0,563	0,3019	60	18.11		
Ecorce de grenade (E1)	6000	0,0016	0,401	0,2117	60	12.70		
Ecorce de grenade (E2)	6000	0,0016	0,417	0,2206	60	13.23	13.34	0.69
Ecorce de grenade (E3)	6000	0,0016	0,442	0,2345	60	14.07		

échantillon	teneurs en TPC (g EAG/100g)	Ecartype
clou de girofle	17.82	0.53
écorce de grenade	13.34	0.69

ANNEXE

ANNEXE 4: Résultats obtenus pour les flavonoïdes

Echantillon	facteur multiplicateur	concentration de la poudre g/mL	absorbance	concentration mg/ml	concentration corrigé g/100g QE	moyenne g/100g QE	ecartype
<i>S.aromaticum</i> (E1)	60000	0,0016	0,27	0,01	0.61		
<i>S.aromaticum</i> (E2)	60000	0,0016	0,27	0,01	0.61	0.60	0.02
<i>S.aromaticum</i> (E3)	60000	0,0016	0,25	0,01	0.57		
Ecorce de grenade (E1)	60000	0,0016	0,78	0,02	1.47		
Ecorce de grenade (E2)	60000	0,0016	0,83	0,02	1.55	1.52	0.04
Ecorce de grenade (E3)	60000	0,0016	0,81	0,02	1.53		

échantillon	teneur en flavonoïdes (g QE/ 100g)	ecartype
clou de girofle	0.60	0.02
écorce de grenade	1.52	0.04

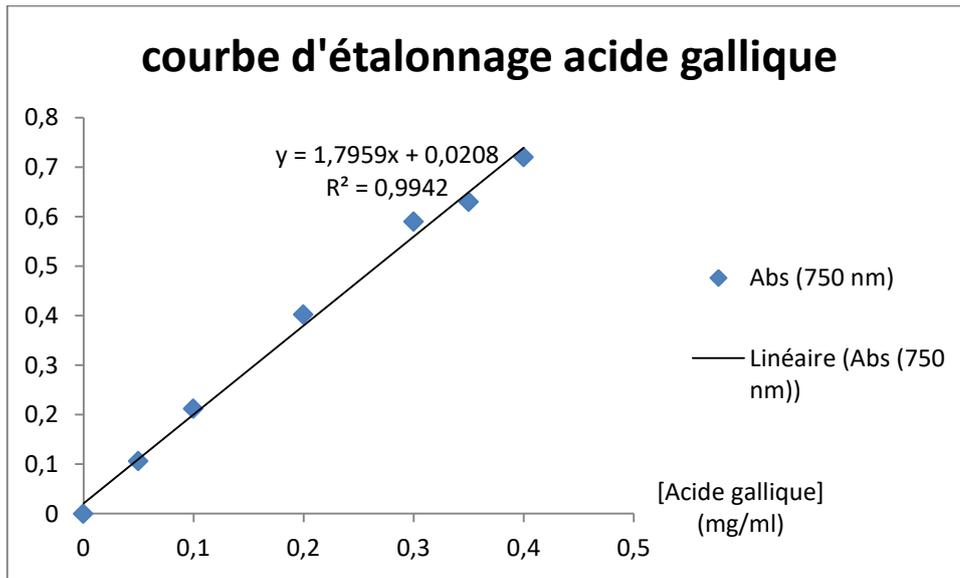
ANNEXE 5: Résultats obtenus pour le pourcentage d'inhibition

Echantillon	absorbance	% d'inhibition	moyenne	ecartype
<i>S.aromaticum</i> (E1)	0,07	90,51		
<i>S.aromaticum</i> (E2)	0,07	90,51	90,42	0.15
<i>S.aromaticum</i> (E3)	0,07	90,24		
Ecorce de grenade (E1)	0,07	89,29		
Ecorce de grenade (E2)	0,07	89,43	89,25	0.20
Ecorce de grenade (E3)	0,08	89,02		

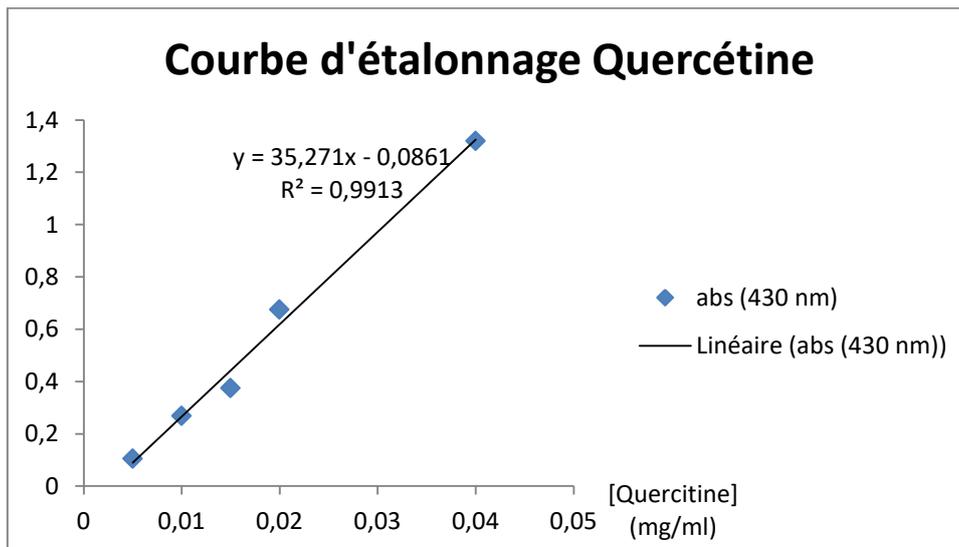
échantillon	pourcentage d'inhibition	Ecartype
clou de girofle	90,42	0.15
écorce de grenade	89,25	0.20

ANNEXE

ANNEXE 6: Courbe d'étalonnage acide gallique



ANNEXE 7: Courbe d'étalonnage Quercétine



Résumé

Résumé

L'étude phytochimique du clou de girofle et d'écorce de grenade vise à connaître leurs teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux, ainsi que leur pouvoir d'inhibition du radical libre DPPH[•].

En quantifiant la teneur totale en polyphénols, il a été constaté que les clous de girofle contiennent la plus grande quantité estimée avec une valeur de 17.82 ± 0.53 g EAG /100g alors que l'écorce de grenade contient une quantité de 13.34 ± 0.69 g EAG /100g.

Concernant la teneur totale en flavonoïdes, il a été constaté que l'écorce de grenade enregistrait la plus grande quantité de 1.52 ± 0.04 g /100g QE alors que le clou de girofle contenait 0.60 ± 0.02 g /100g QE.

L'étude a également montré que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] enregistré par les clous de girofle était estimé à $90.42\% \pm 0.16$ est supérieur au pourcentage enregistré pour l'écorce de grenade, qui est de $89.25\% \pm 0.21$.

Les mots clés: étude phytochimique, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum* L., radical libre DPPH[•].

Abstract

The phytochemical study of clove and pomegranate peel, aims to know the content of total phenolic and flavonoid compounds, as well as the inhibition of DPPH[•] free radical.

During the evaluation of the total polyphenol content, it was found that cloves contain the highest amount with a value of 17.82 ± 0.53 g EAG /100g while pomegranate peel contains an amount of 13.34 ± 0.69 g EAG /100g.

With regard to the total flavonoid content, it was found that pomegranate peel recorded the highest amount of 1.52 ± 0.04 g EAG /100g while cloves contained 0.60 ± 0.02 g EAG /100g.

The study also showed that the percentage of DPPH[•] free radical inhibition recorded by cloves was estimated to be $90.42\% \pm 0.16$ higher than the percentage recorded for pomegranate peel, which was $89.25\% \pm 0.21$.

Keywords: phytochemical study, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum*, DPPH[•] free radicals.