



Type of the Paper (Article)

Profil phytochimique et activité anti *Helicobacter pylori* de la grenade (*Punica granatum* L.) (fruit et écorce) dans la région de Tiaret

Koula DOUKANI^{1*}, Kheira CHAHDA¹, Souhila TABAK¹, Hasna BOUHENNI¹

Université d'Ibn Khaldoun – Tiaret, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, BP n° 78 Zaaroura - Tiaret- Algérie

* Auteur Correspondant: kouladoukani@gmail.com
Tel.: +213775219542

Received: 28/10/2018

/Accepted: 27/12/2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.2556414>

Abstract: The purpose of this the study was to determine the phytochemical profile and antibacterial activity of pomegranate " *Punica granatum* L. " fruit and peels against two *Helicobacter pylori* strains (SAN 158 and 26695) responsible for gastroduodenal diseases in the region of Tiaret (Algeria). The determination of total phenolic compounds in methanolic extract of pomegranate fruit and its peels by using Folin Ciocalteu reagent gave 225 mg GAE / 100g of extract and 412.5 mg GAE / 100g of extract respectively. The estimated amount of flavonoids in pomegranate fruit and its peels by using aluminum chloride was 54.75 mg QE /g extract and 169 mg QE / g of extract respectively. Phytochemical screening revealed that both extracts of fruit and peels are rich in flavonoids and tannins. The antioxidant activity of methanolic extract of pomegranate fruit and peels measured by the method of FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) showed a significant antioxidant potential which is 0.069 mol AAE / g and 0.036 mol AAE/g respectively. It has been found that pomegranate peels have a strong anti *Helicobacter pylori* activity in comparison to its fruit. Both *Helicobacter pylori* strains are highly sensitive to pomegranate peels extract; 29 mm of DZI (Diameter of zone of inhibition) with 34.11 % of inhibition percentage (I %) for *H. pylori* SAN 158 (responsible for gastric cancer) and 44 mm of DZI with 51.76 % of I% for *H. pylori*26695 (responsible for gastric ulcer). On the other hand , *H.pylori* SAN 158 was susceptible to fruit extract with 11mm of DZI and 12.94 % of I% and *H. pylori* 26695 was very sensitive to fruit extract with 16mm of DZI and 18.82 % of I%.

Keywords: Pomegranate (*Punica granatum* L.) ; peels ; fruit ; phytochemical ; anti *Helicobacter pylori*

I. Introduction

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes [1]. Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies. Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes [2]. Parmi ces plantes, on cite le grenadier, qui est utilisé de façon empirique dans les médecines traditionnelles, pour soigner les maladies gastro-intestinales depuis des milliers d'années. La grenade est l'un des fruits les plus riches en antioxydants notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes [3]. Ces constituants

présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne et la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, cérébrovasculaires et certains cancers [4]. Les extraits du grenadier peuvent être utilisés aussi pour la prévention ou la guérison de l'athérosclérose, des diarrhées, des ulcères gastriques et des maladies liées à l'oestrogène [5]. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus [6]. Le fruit de grenadier « *Punica granatum L.* » a une activité antimicrobienne démontrée vis-à-vis plusieurs bactéries résistantes en particulier *Helicobacter pylori* [7,8,9]. Cette bactérie joue un rôle majeur dans la genèse des lésions de la maladie ulcéreuse, des gastrites chroniques, d'ulcères duodénaux et dans la genèse des cancers gastriques. L'infection à *H.pylori* figure parmi les infections bactériennes chroniques les plus répandues dans le monde. Elle est caractérisée par une disparité géographique. Dans les pays industrialisés, la prévalence varie de 20 à 40 %, mais dans les pays en voie de développement, elle touche 70 à 95 % de la population (En Afrique 41 à 95 %) si bien qu'elle constitue un véritable problème de santé publique [10,11]. Le fruit du grenadier, malgré sa disponibilité dans le marché, sa large consommation, et ses propriétés nutritionnelles, antioxydatives et antibactériennes prouvées par plusieurs chercheurs, reste inexploité en Algérie. C'est pourquoi nous sommes intéressés à étudier le grenadier (fruit et écorce) dans la région de Tiaret qui en est riche afin de connaître mieux ses propriétés phytochimiques et antibactériennes vis-à-vis *Helicobacter pylori*, responsable des maladies gastroduodénales.

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

La variété du fruit du grenadier étudié est appelée Sefri (Fig.1). Ce fruit mûre a été collecté au mois d'octobre 2016 au niveau de la région d'Oued-Lili située à 20 km au nord du chef lieu de la wilaya de Tiaret.



Figure 1: Fruit de la variété Sefri

Après la récolte, les fruits ont été d'abord triés, lavés et découpés, puis les arilles ont été séparés de l'écorce. Les arilles ont été conservés dans un congélateur domestique jusqu'à leur utilisation. L'écorce a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière, puis la matière sèche obtenue a été broyée avec un broyeur électrique, et tamisée afin d'obtenir un produit sous forme de poudre fine (200µm). Cette dernière a été conservée dans des boîtes hermétiques fermées à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

II.1.2. Matériel biologique

Les deux souches d'*H.pylori* utilisées (26695 et SAN 158), ont été ramenées du laboratoire de Bactériologie du Centre National de Recherche de *Campylobacter* et *Helicobacter* (C.N.R.C.H), Hôpital de Pellegrin, Université de Bordeaux, France. Les souches citées ont été conservées dans un congélateur domestique dans des milieux de transport -port-pylore-BioMérieux. Elles ont été choisies pour leur implication dans les maladies gastroduodénales (*H.pylori* 26695 ; responsable d'ulcère gastrique, et *H.pylori* SAN158 ; responsable du cancer gastrique).

II.2. Méthodes

II.2.1. Analyses phytochimiques

a. Extraction et dosage des polyphénols

50 ml du méthanol (80%) ou l'eau distillée ont été additionnés à 10 g de fruit ou son écorce. Après agitation pendant 24 h à température ambiante et à l'obscurité, le mélange a été centrifugé à 5000 trs/min pendant 10 min, filtré par un papier filtre Whatman n°1 et le filtrat a été récupéré par la suite [12]. Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode décrite par Singleton et Rossi [13], en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. La concentration en composés phénoliques est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/100g d'extrait.

b. Flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de fruit du grenadier et son écorce a été déterminée par la méthode mentionnée par Zou *et al* [14]. La concentration des flavonoïdes contenues est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (mg EQ)/ g d'extrait).

c. Screening phytochimique

Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine

1 ml de chaque extrait obtenu est ajouté à 1 ml d'HCl et 1 ml d'alcool iso-amyle puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de une couleur rose, rouge ou orange [15].

Tanins

À 1 ml de chaque extrait est ajouté à 200 µl de FeCl₃ 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir [16].

Stéroïls et triterpènes : Lieberman – Burchardt

5 ml de chaque extrait est évaporé. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert indique la présence des stéroïls et triterpènes [17].

Terpénoïdes : Test de Slakowski

5 ml de chaque extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes [18].

Saponosides

10 ml de chaque extrait est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides [15].

Glycosides cardiaques : Test Keller- Killani

5 ml de chaque extrait est mélangé à 2 ml d'acide acétique glacial contenant une goutte de FeCl₃, puis, l'addition de 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. La formation d'un anneau marron, violet ou vert à l'interphase indique leur présence [18].

Mucilages

1 ml de chaque l'extrait est ajouté à 5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages [18].

Composés réducteurs

1 ml de chaque solution à tester est chauffé dans un bain marie, puis 200 µl de réactif de Fehling est ajouté au résidu. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique [19].

d. Estimation de l'activité antioxydante par le test de FRAP

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par Oyaizu [20]. En effet, mélanger 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait dilué dans l'eau distillée avec 2.5 ml de la solution tompon phosphate (0.2 M ; pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1%. Incuber les mélanges à 50°C pendant 30 min. Après additionner 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) et centrifuger le tout à 3000 trs/min pendant 10 min. Mélanger 2.5 ml du surnageant de chaque concentration avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de FeCl₃ (0.1%). Mesurer l'absorbance à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Utiliser l'acide ascorbique (0.1 mg/ml) comme standard dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (mol EAA/g).

II.2.2. Activité antibactérienne

Aromatogramme par diffusion sur gélose (disques)

Un témoin négatif avec le méthanol a été utilisé. Des antibiotiques de référence : Amoxicilline + acide clavulanique (AMC), Gentamycine (GE), Erythromycine (E), Vancomycine (VE), Tétracycline (TE), Levofloxacin (LE) et Amoxicilline (AC) ont été utilisés comme témoins positifs pour les deux souches d'*H.pylori* (26695 et SAN158). Un volume de milieu Mueller-Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Après solidification du milieu, les boîtes sontensemencées en surface par 10⁶ UFC/ml de la suspension des souches d'*H. pylori*. Les disques stériles BioMérieux sont ensuite déposés sur le milieu de culture, puis remplies par 80 µl de l'extrait méthanolique du fruit ou son écorce. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C dans des conditions d'anaérobiose pendant 3-5 jours [21,22]. L'activité antibactérienne se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques. Les diamètres des zones d'inhibition (DZI) apparaissant autour des disques seront mesurés en mm. Elle est aussi déterminée à travers l'estimation de coefficient d'inhibition (I%) selon la formule suivante [23].: $I\% = \frac{DZI \text{ obtenu}}{\text{Diamètre de la boîte}} \times 100$, Le diamètre de la boîte : 85mm

III. Résultats et Discussions

III.1. Analyses phytochimiques

a. Polyphénols totaux

Selon la figure n°2 qui représente la teneur en composés phénoliques dans les deux types d'extraits (aqueux et méthanolique) du fruit et son écorce, on remarque que le meilleur rendement en polyphénols a été obtenu par le méthanol comme solvant d'extraction dans le fruit et l'écorce. Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques tels que le méthanol qui donne le meilleur rendement d'extraction [24]. Dans l'étude de Mutahar *et al* [25]. sur l'écorce du fruit, le méthanol a donné le meilleur rendement, ce qui confirme les résultats obtenus dans la présente étude. La teneur en polyphénols totaux d'extrait méthanolique du fruit est de 225 mg EAG/100g d'extrait. Celle-ci est située dans l'intervalle (159.8-948.2 mg EAG/100g) rapporté par [26]. Par contre, elle est inférieure au résultat trouvé dans la variété de grenade cultivée en Egypte qui est 242.26 mg EAG/100g d'extrait [27]. Mais elle est largement supérieure à la valeur rapportée par Viuda-Martos *et al* [28] pour la variété Bagasse qui est 10.05 mg EAG/100g d'extrait. L'extrait méthanolique de l'écorce contient 412.5 mg EAG/g d'extrait (**Fig. 2**). Ce résultat est supérieur aux teneurs en polyphénols totaux obtenus par différents chercheurs qui sont de : 158 mg EAG/100g d'extrait [29], 278 mg EAG /100g d'extrait [30], 249 mg EAG/100g d'extrait [31], 274 mg EAG/100g d'extrait [25] et 262.5 mg EAG/100g d'extrait [32].

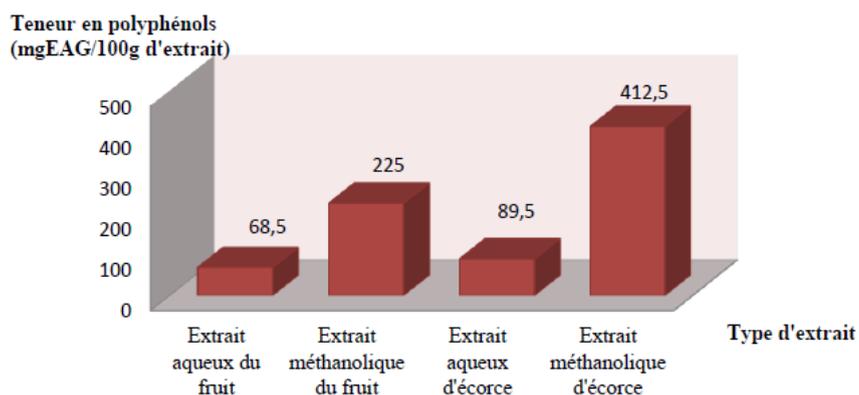


Figure 2 : Teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux et méthanolique du fruit et son écorce

Gil *et al* [3] ont montré que la quantité des polyphénols totaux de l'écorce est supérieure à celle des arilles de la grenade, ce qui confirme notre résultat trouvé. Les polyphénols du fruit sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les glucosides, les phénols, et les tanins [34]. Environ 50% du poids total du fruit représente l'écorce qui est une source importante en composés phénoliques, flavonoïdes, ellagitanins et en proanthocyanidine [35]. L'écorce du fruit est riche en acide ellagique, tanins, et en acide gallique [36]. Les punicalins et les punicalagines sont les majeurs composants de l'écorce [37], les acides phénoliques présents dans ce dernier sont l'acide caféique, l'acide fumarique, et l'acide chlorogénique [38]. la composition en polyphénols totaux varie selon le type de cultivar et les différentes parties du fruit. Cette variation en polyphénols est due aussi aux méthodes d'extraction, conditions environnementaux, et à la température d'extraction [39]. La teneur en polyphénols totaux est en relation avec la variété, la région de culture, le climat, la maturation, et les conditions de conservation [28].

b. Flavonoïdes

Selon la figure n°3, la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique du fruit est 54.75 mg EQ/g d'extrait, elle est inférieure à la valeur trouvée dans l'intervalle (120-1100 mg EQ/g) cité par El Kar *et al* [40].

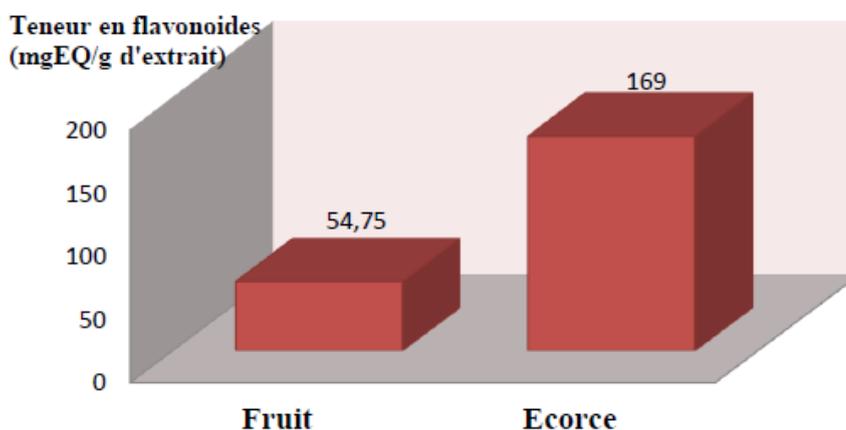


Figure 3 : Teneur en flavonoïdes d'extrait méthanolique du fruit et son écorce

D'autre part, la teneur en flavonoïdes a été déterminée en utilisant d'autres antioxydants standards comme la rutine. Moussa *et al* [27] ont donné un résultat égal à 54.76 mg ER/g d'extrait. Hmid [41] a trouvé dans ses travaux sur plusieurs variétés marocaines que la teneur en flavonoïdes varie de 144.46 à 569.89 mg ER/L. Par ailleurs, l'écorce contient 169 mg EQ /g d'extrait (Fig.3), cette valeur est largement supérieure à celle trouvée dans une variété cultivée en Algérie qui est égale à 12.8 mg EQ/g d'extrait [29]. Elle est inférieure par rapport à celle obtenue par Rummum *et al* [42] qui est 180.10 mg EQ/g d'extrait. Mutahar *et al* [25] ont rapporté une teneur en flavonoïdes égale à 56.4 mg

ER/g d'extrait. Les principaux flavonoïdes de l'écorce sont les anthocyanidines qui leur donnent sa couleur rouge brillante, flavan-3-ols, flavones et flavonols [37]. L'écorce et le fruit sont riches en catéchine, EGCG (Epigallocatechine gallate) [43], en quercetine, rutine, et autres flavonols [44]. La teneur en flavonoïdes varie avec les méthodes de dosage [45], le type de cultivar, la méthode d'extraction, et les conditions environnementaux [46].

c. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique des deux extraits méthanolique et aqueux du fruit et son écorce sont représentés dans la figure n° 4.

Selon ces résultats, le fruit étudié est caractérisé par la présence des flavonoïdes et des tanins dans les deux extraits (méthanolique et aqueux), et la présence des composés réducteurs et les mucilages dans l'extrait aqueux seulement. Par contre, les autres composés sont absents dans les deux types d'extrait. Concernant l'écorce, les deux extraits sont riches en tanins et en mucilage, avec la présence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique seulement. Par contre, l'extrait aqueux contient des terpénoïdes, des composés réducteurs et des glucides cardiaques. Cette analyse phytochimique montre que les constituants majoritaires des deux extraits (aqueux et méthanolique), du fruit et son écorce, sont les tanins et les flavonoïdes, ce qui est confirmé par Belkacem *et al* [29]. Kumar *et al* [47] ont observé la présence des saponosides, et des flavonoides dans l'extrait aqueux du fruit. Hasni Sayyed *et al* [39] ont enregistré la présence des flavonoïdes, et des saponosides dans l'extrait aqueux de l'écorce du fruit, et l'absence des stérols, et des mucilages. Elfalleh *et al* [48] ont indiqué que la différence dans la présence des composés phytochimiques du fruit est liée aux méthodes d'extraction et de solvants utilisés pour extraire ces composés. En plus, la composition dépend du type de cultivar, condition environnemental, et les facteurs de récolte [49].

Composés réducteurs	- 	+ 	- 	++ 
Terpénoïdes	- 	- 	- 	+++ 
Mucilages	- 	+ 	++ 	+++ 
Glucides cardiaques	- 	- 	- 	+ 
Saponosides	- 	- 	- 	- 
Stérols et triterpènes	- 	- 	- 	- 
+++ Présence forte ++ Présence moyenne + Présence faible - Absence				

Figure 4 : Résultats du screening phytochimique d'extraits aqueux et méthanolique du fruit et son écorce

d. Estimation de l'activité antioxydante (FRAP)

La figure n° 5 représente la capacité antioxydante mesurée par la méthode de FRAP du fruit et de son écorce.

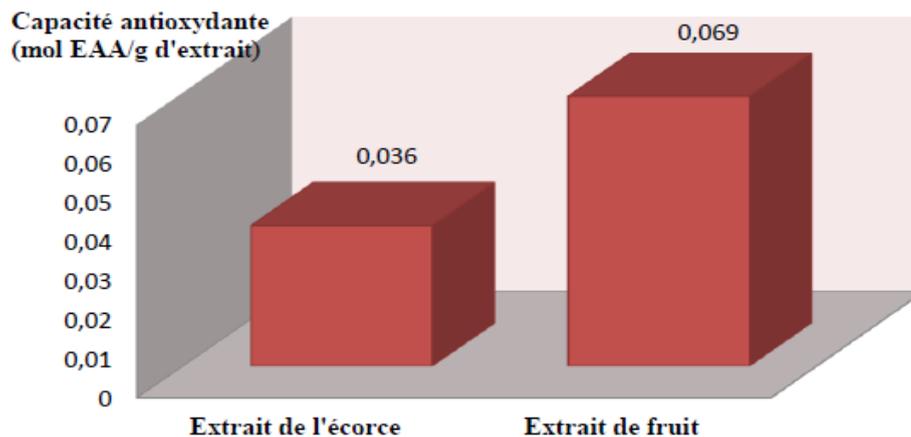


Figure 5 : Capacité antioxydante d'extrait méthanolique du fruit et son écorce

D'après cette figure, le résultat de l'activité antioxydante obtenu pour le fruit, par la méthode de FRAP est 0.069 mol EAA/g d'extrait. Akbarpour *et al* [50] ont trouvé que la capacité antioxydante des cultivars iraniens étudiés varie de 157.33 à 419.33 mmol/100g. Hmid [41] a obtenu une capacité antioxydante variant de 18.49 jusqu'à 47.1 mM Fe^{+2} /L. La valeur de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'écorce est de 0.039mol EAA/g d'extrait (**Fig.4**). Dipnaic *et al* [51] dans ses études a trouvé une valeur égale à 0.18 mg EAA/g d'extrait. L'activité antioxydante de l'écorce est importante par rapport à celle du fruit [52, 53, 54], ce qui confirme le résultat obtenu dans notre travail. Une activité antioxydante importante se traduit par une teneur élevée en polyphénols comme : acide gallique, éllagitanins, gallotanins, acide chlorogénique, acide caféique, acide férulique, acides coumarique, catéchines et anthocyanines [3,55,56]. Les composés phénoliques n'exercent pas leur effet antioxydant par le biais de la réduction du fer seulement. D'autres tests d'évaluation de l'activité antioxydante sont utilisés tels que le test de piégeage du radical DPPH°. En effet, plusieurs chercheurs ont évalué l'activité antioxydante par cette méthode et ils ont trouvé une capacité de piégeage de IC50 variant de : 16.0 à 54.4% dans 15 variétés iraniennes [26], 10.4 à 67.5 [57] et 18.6 à 42.8% dans 8 cultivars iraniens [58].

L'écorce du fruit contient une quantité importante en polyphénols notamment en flavonoïdes. Elle est riche en composés phytochimiques (tanins, mucilage, flavonoïdes, terpénoïdes, composés réducteurs, et des glucides cardiaques). D'autre part, elle a une capacité antioxydante importante que celle du fruit.

III.2.Résultats d'aromatogramme par diffusion sur gélose (disques)

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques du fruit et son écorce exprimés en DZI et pourcentage d'inhibition sont mentionnés dans la figure n°6. Ils montrent que :

-La souche *H.pylori* SAN 158 est extrêmement sensible à l'extrait de l'écorce du fruit avec un DZI égal à 29 ± 0.005 mm, et elle est sensible à l'extrait du fruit avec un DZI de 11 ± 0.063 mm.

-La souche *H.pylori* 26695 est extrêmement sensible à l'extrait de l'écorce du fruit avec un DZI égal à 44 ± 0.025 mm, et elle est très sensible à l'extrait du fruit avec un DZI qui est 16 ± 0.003 mm.

-L'extrait de l'écorce a un pourcentage d'inhibition de 34.11% et 51.76% contre *H.pylori* SAN 158 et *H.pylori* 26695 respectivement.

-L'extrait du fruit a un pourcentage d'inhibition de 12.94% et 18.82% contre *H.pylori* SAN 158 et *H.pylori* 26695 respectivement.

On peut conclure que l'écorce du fruit du grenadier a un meilleur effet antibactérien contre l'*H.pylori* (DZI, I%) en comparant avec le fruit.

Tableau 1 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition DZI[†] et I% des deux souches d'*H.pylori*

Souches bactériennes	Fruit		Ecorce	
	DZI (mm)	I (%)	DZI (mm)	I (%)
<i>H.pylori</i> SAN 158	11±0.063	12.94	29±0.005	34.11
<i>H.pylori</i> 26695	16±0.003	18.82	44±0.025	51.76

[†] Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=3)

Hajimahmoudi *et al* [7] ont évalué, *in vitro*, l'activité anti-*H.pylori* de l'extrait méthanolique de 23 plantes médicinales, où ils ont trouvé que l'extrait de *Punica granatum* L. a une activité antibactérienne élevée contre *H.pylori* avec un DZI de 39 mm. Les DZI obtenus par l'effet de l'extrait d'écorce du fruit du grenadier contre *H.pylori* sont de 27.96mm [8] et 29 mm [59]. Aussi, Supayang Piyawan *et al* [60] ont trouvé dans leurs études sur 13 plantes thaïlandaises que le meilleur effet anti-*Helicobacter pylori* a été obtenu avec l'extrait éthanolique d'écorce de la grenade avec un DZI de 16.5 mm. D'autre part, plusieurs travaux ont enregistré la sensibilité d'*H.pylori* vis-à-vis l'extrait de la grenade [9]. La présence des polyphénols (pro-anthocyanine) et des tanins (ellagique tanins) dans l'écorce de la grenade, le rapporte un effet antibactérien [8]. Selon Inatsu *et al* [61], les composés phénoliques, les tanins et les flavonoïdes sont des principaux composés anti-*H.pylori*. D'autre part et selon Hajimahmoudi *et al* [7], l'extrait de la peau du fruit est une source importante en antioxydants et en polyphénols comme les tanins, et les anthocyanines. Les tanins de la grenade jouent un rôle important dans la protection contre les ulcères gastriques [62].

Le présent travail montre que cette plante médicinale « *Punica granatum* L. » en particulier son écorce a un potentiel considérable dans la prévention contre les infections causées par *H.pylori* (ulcère et cancer gastrique).

IV. Conclusion

La présente étude montre que l'écorce est riche en composés phénoliques comme elle possède de meilleures activités antioxydantes et antibactériennes (*Anti-Helicobacter pylori*) par rapport au fruit du grenadier. Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, des études complémentaires seront nécessaires pour rendre ce travail utilisable dans le cadre de la mise au point d'un phytomédicament.

V. Références bibliographiques

- [1] Bahorun, T.; Gressier, B.; Trotin, F.; Brunet, C.; Dine, T.; Luyckx, M.; Vasseur, J.; Cazin, M.; Cazin, J.C.; Pinkas, M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung* 46 (1996) 1086-1089.
- [2] Beloued, A. Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Institut National Agronomique d'El-Harrach-Alger, 1998; 277p.

- [3] Gil, M.I.; Tomas-Barberan, F.A.; Hees-Pierce, B.; Holcroft, D.M.; Kader, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2000) 4581-4589.
- [4] Mena, P.; García-Viguera, C.; Navarro-Rico, J.; Moreno, D.; Bartual, J.; Saura, D.; Martí, N. Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *J. Sci. Food Agric.* 91(2011) 1893–1906.
- [5] Holland, D.; Hatib, K.; Bar-Ya'akov, I. Pomegranate: botany. Horticulture. Breeding. *Horticultural Reviews* 35 (2009) 127-191.
- [6] Iserin, P.; Masson, M.; Restellini, J. P.; Ybert, E.; De Laage de Meux, A.; Moulard, F.; Zha, E.; De la Roque, R.; De la Roque, O.; Vican P. Larousse des plantes médicinales, Identification, préparation, soins. Ed. Larousse, Paris, 2001; p 10812.
- [7] Hajimahmoodi, M.; Shams-Ardakani, M.; Saniee, P.; Siavoshi F.; Mehrabani M.; Hosseinzadehe, H.; Foroumadi, P.; Safavi, M.; Khanavi, M.; Akbarzadehe, T.; Shafiee, A.; Foroumadi, A. *In vitro* antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Natural Product Research* 25 (11) (2011) 1059–1066.
- [8] Moghaddam, M.N. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by some spices and medicinal plants used in Iran. *Global Journal of Pharmacology* 5 (3) (2011) 176-180.
- [9] Rahimi, H.R.; Arasoo, M.; Shiri, M. *Punica granatum* is more effective to prevent gastric disorders induced by *Helicobacter pylori* or any other stimulator in humans. *Asian J. Plan. Sci.*10 (2011) 380–382.
- [10] Essadik. A.; Benomar. H.; Rafik. I.; Hamza. M.; Guemouri. L.; Kettani. A.; Maachi. F. Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection à *Helicobacter pylori* à travers une étude marocaine. *HEGEL* 3(3) (2013) 163-169.
- [11] Akehossi, É.; Bâ fall, Kh.; Baldin, B.; Berrebi, A.; Berry, A.; Beytout, J.; Botelho-nevers, E.; Bouchaud, O. Maladies infectieuses tropicales. Ed. Alinéa Plus et le Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT), Paris, France, 2012; p 972.
- [12] Ribereau-Gayon, P. Les composés phénoliques des végétaux .Ed. Dunod. Paris, 1968; p254
- [13] Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology Viticulture* 16 (1965) 144-158.
- [14] Zou, Y.; Lu, Y.; Wei, D. Antioxidant activity of flavonoid-rich extracts of *Hypericum perforatum* L. *In vitro. J Agric Food Chem.* 52 (2004) 5032-5039.
- [15] N'Guessan, K.; Kadja, B.; Zirihi, G.; Traoré, D.; Aké-Assi, L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci Nat.* 6 (1) (2009) 1-15.
- [16] Karumi, Y.; Onyeyili, PA.; Ogugb Uaja, VO. Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Scien.* 4 (2004) 179 – 182.
- [17] Edeoga, H.O.; Okwu, D.E.; Mbaebie, B.O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *Afric J Biotech.* 4 (2005) 685 – 688.
- [18] Khan, AM.; Qureshi, RA.; Ullah, F.; Gilani, SA.; Nosheen, A.; Sahreen, S. Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *J Med Plants Res.* 5 (25) (2011) 6017 – 6023.
- [19] Cai, L.Y.; Shi, F.X.; Gao, X. Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanan trifoliatum* L. Merr. *J Med Plants Res.* 5 (2011) 4059 – 4064.
- [20] Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition* 44 (1986) 307-315.
- [21] Tabak, S.; Maghnia, D.; Bensoltane, A. The antagonistic activity of the lactic acid bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus bulgaricus*) against *Helicobacter pylori* responsible for the gastroduodenals diseases. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2 (2012) 709-715.
- [22] Bssaibis F.; Gmira N.; Meziane M. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.). *Santé et Environnement* 3 (1) (2009) 44-55.
- [23] Soliman, K.M.; Bdeaa, R.I. Effect of oil extracted from some medecinal plants in different mycototoxigenic fungi. *Food and chemical Toxicology* 40 (2002) 1669-1675.
- [24] Bruneton J. Phytochimie et plantes médicinales. Ed. Lavoisier.France, 2009; p1292.
- [25] Mutahar, S.; Al-Otaibi, M.; Al-Zoreky, S.N. Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Food and Nutrition Science* 3 (2012) 991-996.
- [26] Tehranifar, A.; Zarei, M.; Esfandiyari, B.; Nemati, Z. Physicochemical properties and antioxidant activities of pomegranate fruit (*Punica granatum*) of different cultivars grown in Iran. *Hort. Environ. Biotechnol.* 51(6) (2010) 573-579.

- [27] Moussa, A.M.; Emam, A.M.; Diab, Y.M.; Mahmoud, M.E.; Mahmoud, Mutahar, A. S. Evaluation of antioxidant potential of 124 Egyptian plants with emphasis on the action of *Punica granatum* L. leaf extract on rats. *International Food Research Journal* 18 (2011) 535-542.
- [28] Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Martín-Sánchez, A.; Sánchez-Zapata, E.; Fernández-López, J.; Sendra, E.; Sayas-Barberá, E.; Navarro, C.; Pérez-Álvarez, J.A. Chemical, physico-chemical and functional properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasse powder co-product. International Conference of Food Innovation. Universidad Politecnica de Valencia, Espagne, 25-29 octobre 2010.
- [29] Belkacem, N.; Djaziri, F.R.; Lahfa, I.A.; Boucherit, Z. Phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activity of various *Punica granatum* L. peel extracts from Algeria: a comparative study. *Phytothérapie* 12 (2014) 372-379.
- [30] Altunkaya, A. Potential antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts and synergism with added phenolic antioxidants in a liposome system: a preliminary study. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 53 (2014) 121–131.
- [31] Singh, S.; Immanuel, G. Extraction of antioxidants from fruit peels and its utilization in paneer. *J Food Process Technol.* 5 (2014) 349-357.
- [32] Al-Zoreky, N.S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International J. Food Microbiology* 134 (2009) 244-248.
- [33] Gil, M.I.; Tomas-Barberan, F.A.; Hees-Pierce, B.; Holcroft, D.M.; Kader, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2000) 4581-4589.
- [34] Ahmad, I.; Beg A.Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 indian medicinal plant against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74 (2001) 113-123.
- [35] Li, Y.; Guo, C.; Yang, J.; Wei, J.; Xu, J.; Cheng, S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem.* 96 (2006) 245-260.
- [36] Negi, P.S.; Jayapraska, G.K.; Jena, B.S. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Research International* 80 (2003) 393–397.
- [37] Usha, T.; Tripathi, P.; Pande, V.; Middha, S.K. Molecular docking and quantum mechanical studies on pelargonidin-3-glucoside as renoprotective ACE inhibitor. *ISRN Computational Biology* 15 (2013) 10345-10350.
- [38] Amakura, Y.; Okada, M.; Tsuji, S.; Tonogai, Y. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1 (2000) 183-188.
- [39] Hasni Sayyed, H.Y.; Patel, M. R.; Patil, J. K. Pharmacognostical and phytochemical study of fruit peel of *Punica granatum* linn. *Pharma Science Monitor* 3 (2012) 3048-3057.
- [40] El Kar, C.; Ferchichi, A.; Attia, F.; Bouajila, J. Pomegranate (*Punica granatum* L.) juices : chemical composition, micronutrient cations, and antioxidant capacity. *J Food Sci.* 76 (2013) 795–800.
- [41] Hmid, I. Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum* L.) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Université d'Angers. France, 2014.
- [42] Rummun, N.; Somanah, J.; Ramsaha, S.; Bahorun, T.; Neergheen-Bhujun, V.S. Bioactivity of non edible parts of *Punica granatum* L.: a potential source of functional ingredients. *International Journal of Food Science* 115(4) (2013) 1-12.
- [43] Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Quantitative analysis of laven-3-ols in Spanish foodstufs and beverages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48 (11) (2000) 5331–5337.
- [44] Artik, N. Determination of phenolic compounds in pomegranat juice by using HPLC. *Fruit process* 8 (1998) 492-499.
- [45] Jia, Z. M.; Tang J. W. The determination of flavonoïd content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64 (1999) 555-559.
- [46] Kulkarni, A.P.; Aradhya, S.M.; Divakar, S. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant - punicalagin from pith and carpellarymembrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry* 87 (2004) 551-557.
- [47] Kumar, B.S.; Suchetha Kumari, N.; Vadisha, S.; Bhat Sharmila, K.P.; Prasad Bekal, M. Preliminary phytochemical screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. *Journal of Health Science* 2 (4) (2012) 2249-7110.
- [48] Elfalleh, W.; Tlili N.; Nasri, N.; Yahia, Y.; Hannachi, H.; Chaira, N.; Ying M.; Ferchichi, A. Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits. *J. Food Sci.* 76 (5) (2011) 707-713.
- [49] Houston, MC. Nutraceutical, vitamins, antioxidants and minerals in the prevention and treatment of hypertension. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 47 (2005) 396-449.
- [50] Akbarpour, V.; Hemmati, K.; Sharifani, M. Physical and chemical properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit in maturation stage. *J. Agric. Et Environ Sci.* 6 (2009) 411-416.

- [51] Dipnaic, H.S.; Shrivastava, P.; Jacob, S. *Aspergillus niger* mediated solid state fermentation (SSF) of pomegranate peels, yields bioactive product having antibacterial, antioxidant, radical scavenging and anti-UV properties. *World Journal of Pharmaceutical Research* 3 (10) (2014) 1377-1394.
- [52] Guo, C.J.; Yang, J.J.; Wei, J.Y.; Li, Y.F.; Xu, J.; March, Y.; Jiang, G. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Res.* 23 (2003) 1719-1726.
- [53] Maria, I., Gil, F., Tomas-Barberan, A., Hess-Pierce, B., Holcroft, M., Adel Kader, A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric.Food Chem.* 48 (2000) 4581-4589.
- [54] Yunfeng, L.; Changjiang, G.; Jijun, Y.; Jingyu, W.; Jing, X.C.; Shuang, C. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry* 96 (2006) 254-260.
- [55] Poyrazoglu, E.; Gokmen, V.; Artik, N. Organic acids and phenolic compound in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 15(5) (2002) 567-575.
- [56] Seeram N.P.; Adams L.S.; Henning S.M.; Niu Y.; Zhang Y.; Nair M.G.; Heber D. *In vitro* anti-proliferative, 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. *J Nutr Biochem.*16 (2005) 360–367.
- [57] Tezcan, F.; Gültekin-Özguven, M.; Diken, T.; Özcelik, B.; Erim, F.B. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid, and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chem.* 115 (2009) 873-877.
- [58] Mousavinejad, G.; Emam-Djomeh, Z.; Rezaei, K.; Khodaparast, M.H. Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chem.* 115 (2009) 1274-1278.
- [59] Moghaddam, G.; Sharifzadeh, M.; Hassanzadeh, G.; Khanavi, M.; Hajimahmoodi, M. Anti-ulcerogenic activity of the pomegranate peel (*Punica granatum*) methanol extract. *Food and Nutrition Sciences* 4 (2013) 43-48.
- [60] Supayang Piyawan, V; Hazel, M. Inhibitory and killing activities of medicinal plants against multiple antibiotic –resistant *Helicobacter pylori*. *Journal of health Science* 54(1) (2008) 81-88.
- [61] Inatsu, S.; Ohsaki, A.; Nagata, K. Idebenone acts against growth of *Helicobacter pylori* by inhibiting its respiration. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 50 (6) (2006) 2237-2239.
- [62] Lai, S.; Zhou, Q.; Zhang, Y.; Shang, J.; Yu, T. Effects of pomegranate tannins on experimental gastric damage. *Zhongguo Zhong Yao ZaZhi* 34 (10) (2009) 1290-1294.

Cite this paper as:

Koula DOUKAN, Kheira CHAHDA, Souhila TABAK, Hasna BOUHENNI, Profil phytochimique et activité anti *Helicobacter pylori* de la grenade (*Punica granatum* L.) (fruit et écorce) dans la région de Tiaret, **Algerian Journal of Natural Products**,6:1(2018) 618-629