



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Intitulé :

**Evaluation des activités biologiques d'une
Plante médicinale.**

Présenté par :

Benourekh Mounira & Benzaaza Amina

Soutenu le : 10/06/2025, devant le jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation/Institution
Président :	Belalmi Nor ElHouda	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Nasri Meriem	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	Benouadah Zohra	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant toute chose, rendons grâce à Dieu, le Tout-Puissant, qui nous a accordé la santé, le courage et la patience tout au long de notre parcours d'études.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers celle qui nous a honorés en supervisant notre mémoire de recherche.

Nous exprimons également notre profonde gratitude aux membres du jury, en particulier à **Mme. Belalmi Nor El Houda**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. **Dr. Nasri Meriem**. Sa patience immense et ses précieux conseils scientifiques, inestimables, ont grandement contribué à l'achèvement de ce travail. Les mots de ce mémoire ne suffiront pas à lui rendre justice. Ainsi qu'à **Mme Benouadah Zohra**, pour avoir accepté de faire partie du jury et d'avoir examiné notre travail. Nous remercions infiniment **Mr Makhokh Nasr Eddine** chef des laboratoires de faculté des sciences de la nature et de la vie, qui nous a permis de réaliser ce travail au niveau du laboratoire de biochimie à l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimy. Il nous a consacré de temps, il nous a transmis une partie de son savoir, malgré ces multiples occupations.

Nous adressons nos sincères remerciements au professeur **Mekhalfi Hamoudi** qui nous a été d'un grand soutien pour l'achèvement de ce travail. Nous souhaitons également exprimer notre profonde reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, ainsi qu'aux membres du jury qui ont généreusement accepté de valider ce travail.

Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude envers toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide, que ce soit par leurs connaissances dans des domaines spécifiques, leurs précieux conseils lorsque nous en avons besoin, ou encore leur encouragement.



Dédicace

Louange à Dieu pour sa grâce, aujourd'hui je regarde un rêve longtemps attendu, et il est devenu une réalité dont je suis fière.

À celui qui m'a soutenue sans limites et m'a donné sans attendre en retour "Mon père". Merci de croire en moi et de m'avoir offert les moyens de réaliser mes rêves.

À mon ange visible, et ma force après Dieu, "Ma mère", Je te dédie cet accomplissement car sans tes sacrifices, il n'aurait pas existé.

À mes chers frères et mes chères sœurs pour leur affection, leur soutien et leurs prières constantes qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours.

À mes chères amies et toutes les autres, pour leur affection, leur soutien.

À mon binôme Benzaaza Amina, qui m'a accompagnée dans la réalisation de ce travail dans son intégralité, avec ses hauts et ses bas. Tu es une personne formidable. Et à tous ceux que j'aime.

Enfin, à tous ceux qui me sont chers.

Mounira

Dédicace

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes parents qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie.

A mes chers frères : Abdulkhak, Radwane et sofiane

A mes chères sœurs : Bouthaina et Sara

Et avec très joie à mon encadreur Dr.Nasri Meriem que dieu vous garde, et à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

A mon binôme Benourrekh Mounira celle qui m'a accompagné dans la réalisation de ce travail dans sa globalité avec ses hautes et ses bas tu es formidable, et à tous ceux qui j'aime.

Amina

Liste des abréviations

MPs : Plants médicinales.

ACE : Enzyme de conversion de l'angiotensine.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

RNS : Espèces réactives de l'azote.

EM : Extrait méthanoliques.

EMEG : Extrait méthanoliques des écorces de grenade.

BSA : Sérum albumine bovine.

PBS : tampon phosphate salin.

EAG: Equivalant acide gallique.

EQ : Equivalant Quercétine.

EAA : Equivalant acide ascorbique.

Abs : Absorbance.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50%.

FRAP : Potentiel antioxydant de réduction de fer ferrique.

TCA : Acide trichloracétique.

UV/VIS : Ultraviolet-visible.

EDTA : Acide éthylène diamine titra acétique.

Vit C : Vitamine C.

Liste des figures

Figure 01 : Fruit de <i>Punicagranatum</i>	7
Figure 02 : Ecorce de la grenade.....	7
Figure 03 : Transformation des écorces de grenade en poudre.....	8
Figure 04 : Poudre fine d'écorce de <i>Punica granatum</i>	9
Figure 05 : Protocole d'extraction de l'extrait méthanolique.....	10
Figure 06 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre le radical DPPH• et un antioxydant(AH).....	14
Figure 07 : Protocole de Préparation de la suspension des globules rouges.....	22
Figure08 : Résultats de dosage des polyphénols.....	26
Figure09 : Résultats de dosage des flavonoïdes.....	28
Figure 10 : Résultats de test de piégeage des radicaux libres (DPPH).....	30
Figure 11 : Pouvoir réducteur du fer ferrique de l'EMEG et l'acide ascorbique.....	32
Figure 12 : Pouvoir chélateur du fer ferreux del' EMEG et standard.....	34
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation d'BSA à différentes concentrations de l'extrait de l'écorce de <i>P. granatum</i> et de diclofénac.....	36
Figure 14 : Résultats de l'activité anti-hémolytique de l'EMEG.....	38
Figure 15 : Pourcentage de l'inhibition de l'hémolyse de l'EMEG et le standard.....	39

Liste des tableaux

Tableau I : La teneur en polyphénols et Flavonoïdes totaux de l'EMEG.....29

Tableau II: Activité antioxydant de l'EMEG et les standards..... 35

Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre 1: Matériels et méthodes	
1.1. Matériel	7
1.1.1 Matériel végétal	7
1.1.2. Taxonomie	7
1.1.3. Description de l'écorce de grenade	8
1.2. Méthodes	8
1.2.1. Préparation de la poudre d'écorce de grenade	8
1.2.1.1. Broyage	8
1.2.1.2. Tamisage	9
1.2.2. Préparation de l'extrait	9
1.2.3. Calcul du rendement d'extraction	11
1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	11
1.3.1. Dosage des polyphénols totaux	11
<i>a-principe</i>	11
<i>b- Mode opératoire</i>	12
1.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	12
<i>a- Principe</i>	12
<i>b- Mode opératoire</i>	13
1.4. Evaluation de l'activité biologique	13
1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydants, <i>in vitro</i>, de l'extrait des écorces du fruit de <i>Punica granatum</i>	13
1.4.1.1. Effet scavenger du radical DPPH	13
<i>a- Principe</i>	14
<i>b- Mode opératoire</i>	14
1.4.1.2. Test de la réduction du fer (FRAP)	15
<i>a- Principe</i>	15
<i>b- Mode opératoire</i>	16
1.4.1.3. Capacité antioxydante totale (CAT)	17

<i>a- Principe</i>	17
<i>b- Mode opératoire</i>	17
1.4.1.4. Pouvoir chélateur du fer ferreux.....	18
<i>a- Principe</i>	18
<i>b- Mode opératoire</i>	18
1.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire l'EMEG <i>in vitro</i>	19
1.4.2.1. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)	19
<i>a- Principe</i>	19
<i>b- Mode opératoire</i>	20
1.4.3. Evaluation de l'activité anti-hémolytique	21
<i>a- Principe</i>	21
<i>b- Mode opératoire</i>	21
<i>b-1- Préparation de la suspension érythrocytaire</i>	21
<i>b-2- Préparation de l'EMEG</i>	21
<i>b-3- Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'EMEG</i>	23
1.5. Analyse statistique des résultats	24

Chapitre 2: Résultats et discussion

2.1. Rendement d'extraction.....	25
2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	26
2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux.....	27
2.4. Activité antioxydant.....	29
2.4.1. Test de DPPH.....	29
2.4.2. Test de la réduction du fer (FRAP)	31
2.4.3. Capacité antioxydant totale (TAC)	33
2.4.4. Activité chélatrice du fer ferreux.....	33
2.5. Activité anti inflammatoire.....	36
2.6. Activité anti-hémolytique.....	38
Conclusion et perspectives	40

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont essentielles dans le traitement et la prévention de divers types de maladies (**Rakotoarivelo et al., 2015**). Chaque plante contient plusieurs ingrédients importants (**Rakotoarivelo et al., 2015**), pouvant être utilisés dans le domaine médical et impliqués dans le développement de différents types de médicaments (**Yuan et al., 2016**).

La connaissance de leurs propriétés curatives a été transmise au fil des siècles au sein et entre les communautés humaines. Les composés actifs produits lors du métabolisme secondaire sont généralement responsables des propriétés biologiques des plants médicinales. (**Mohammed, 2019**). Ces ressources botaniques offrent une approche holistique, pour améliorer la qualité de vie. La diversité des composés bioactifs présents dans ces plantes renforce leur rôle essentiel dans le maintien du bien-être (**Gurib-Fakim, 2006**).

L'importance des plantes médicinales (PMs) est grandement due à leur adaptabilité et compatibilité supérieure avec l'organisme humain, ce qui se traduit par moins d'effets indésirables et une meilleure acceptation culturelle. Il a été démontré que la plupart des médicaments utilisés contiennent des extraits de plantes comme ingrédients principaux. Beaucoup d'entre eux possèdent des composants bioactifs extraits des plantes en tant qu'ingrédients actifs. Dans le système de santé, l'utilisation de diverses plantes en tant que PMs revêt une importance majeure à l'échelle mondiale, (**Rehman et al., 2020 ; Ali et al., 2021**). Grâce à diverses recherches, les effets thérapeutiques de nombreuses PMs ont été découvertes à partir des pratiques médicinales traditionnelles (**Rehman et al., 2021**).

Dans un contexte où l'efficacité des médicaments synthétiques diminue et où leurs contre-indications se multiplient l'utilisation des remèdes naturels revient aujourd'hui au premier plan (**Petrovska, 2011**). Parmi ces plantes, la grenade (*Punica granatum L.*), ce fruit délicieux, largement consommé pour ses bienfaits nutritionnels, il possède des propriétés thérapeutiques importantes.

La grenade (*Punica granatum L.*), appartenant au genre *Punica L.*, famille des Punicacées, est un fruit ancien originaire d'Asie centrale dans des régions s'étendant de l'Iran et du Turkménistan au nord de l'Inde ainsi que dans la région méditerranéenne et au Moyen-Orient (**Holland et al., 2009**). L'ancienne dénomination sémitique était "Rimmon" dont sont dérivés les noms hébreu "Ramon" et arabe "Rumman". Les Romains ont d'abord nommé cette espèce "*malum punicum*" (pomme punique ou pomme de Carthage) qui a évolué en "*punicum granatum*". finalement, Carl von Linné lui a donné son nom scientifique (**Melgarejo et al., 2000**).

Introduction

Punica granatum L. étant l'un des plus anciens fruits comestibles, possède une longue histoire en tant que fruit médicinal et a été largement utilisé dans la médecine traditionnelle de nombreuses cultures (**Longtin, 2003**). En plus de ses usages historiques anciens, ce fruit a été vénéré dans l'Ancien Testament de la Bible, le Coran, la Torah juive et le Talmud babylonien, où il était considéré comme un fruit sacré porteur de significations symboliques et spirituelles profondes. (**Miguel et al., 2010**).

Le grenadier est un arbre ou un arbuste buissonnant pouvant atteindre 2,5 m de hauteur, légèrement épineux, à feuillage caduc et au tronc tortueux (**Lairini et al., 2014**). La grenade est une baie sphérique, comparable en taille à une pomme ou une orange, ayant un diamètre de 2 à 12 cm. Elle se distingue par ses couleurs vives, principalement rouge vif, mais aussi blanc jaunâtre, ou jaune foncé marbré ou violet très sombre, variant selon l'espèce et le degré de maturité du fruit (**Moghaddasi et Haddad Kashani, 2012**). Les graines contenues dans le fruit constituent la partie comestible et sont enveloppées dans des tuniques séparées par de fines cloisons membraneuses de couleur blanc jaunâtre (**Qnais et al., 2007**).

Punica granatum est une culture commerciale importante cultivée dans différentes parties du monde. L'adaptabilité et les bienfaits pour la santé sont quelques-unes des caractéristiques responsables de sa culture à grande échelle (**Mphahlele et al., 2016**). Il possède une grande capacité d'adaptation aux conditions environnementales caractérisées par une sécheresse climatique prononcée (**Melgarejo et Salazar, 2003**). Ce fruit est une source notable de nutriments, notamment de fibres alimentaires, de polysaccharides, de vitamines, d'acides gras et de polyphénols, tels que les tanins (punicalagine et autres ellagitanins), les flavonoïdes (flavonols, proanthocyanidines et anthocyanidines) et les acides phénoliques (acides gallique, ellagique, caféique, férulique et cinnamique), ainsi que de nombreux minéraux (**Singh et al., 2018; El-Hadary et Ramadan, 2019**).

Tous les organes de l'arbre de grenadier ont été utilisés pour guérir un éventail de maladies courantes (**Gracious et al., 2001**). Plusieurs infusions ou décoctions des fleurs de cette plante ont été utilisées en médecine traditionnelle pour traiter la diarrhée simple, les pertes vaginales, et cet extrait, accompagné à des écorces de grenade, était fréquemment utilisé pour soulager les inflammations du pancréas. (**Lansky et al., 1997**).

Des recherches ont prouvé que les grenades peuvent servir de thérapie naturelle, en raison de leur capacité à lutter contre une large gamme de pathogènes. Pratiquement chaque composant de la grenade, y compris le jus, l'écorce, les arilles, les fleurs et les graines, a été examiné pour ses propriétés antimicrobiennes (**Bassiri-Jahromi, 2018**). Des études *in vivo* et

Introduction

in vitro ont montré que la grenade présente des propriétés antihypertensives (**Mohan et al., 2010; Dos Santos et al., 2016; Arun et al., 2017**), des recherches ont montré que l'extrait de grenade inhibe l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) et réduit la pression artérielle systolique chez les patients hypertendus. De plus, les applications topiques de préparations à base de grenade se sont avérées particulièrement efficaces pour contrôler l'inflammation buccale, ainsi que pour réduire les charges bactériennes et fongiques dans les maladies parodontales et les stomatites candidosiques associées aux prothèses dentaires (**Kumari et al., 2012**), plusieurs études ont examiné le rôle des composés bioactifs de la grenade dans différentes maladies, notamment celles liées au vieillissement et aux processus inflammatoires (**Mo et al., 2022; Hussain et al., 2016; Vučić et al., 2019**), et son activité antiproliférative (**Albrecht et al., 2004; Malik et al., 2005; Malik et Mukhtar, 2006**).

La grenade a des propriétés antioxydantes et anticancéreuses, grâce à différents extraits dérivés de diverses parties de cette plante (**Zhang et al., 2011**). L'acide ellagique possède des propriétés antimutagènes, antivirales, antioxydantes et éclaircissantes pour la peau, et a déjà été intégré aux aliments en tant qu'antioxydant au Japon (**Elliott, 1999**).

Le potentiel du fruit entier de la grenade a également démontré de manière significative des propriétés anti-inflammatoires (**Mandal et al., 2017**), anti-diabétiques (**Rouhi et al., 2017**), hépatoprotectrices (**Rahmani et al., 2017**), anti-ulcéreuses (**Moghaddam et al., 2013**), neuroprotectrices (**Amri et al., 2017**) et cardioprotectrices (**Razani et al., 2017**). Il a également été prouvé qu'il pouvait être utilisé pour traiter les maladies bucco-dentaires (**Sastravaha et al., 2005**). Les recherches récentes suggèrent que les grenades pourraient jouer un rôle important dans le traitement de maladies graves telles que le cancer de la prostate, le cancer de la peau, l'arthrose et le diabète (**Kumari et al., 2012**). D'autres applications potentielles comprennent l'arthrite, l'obésité, la maladie d'Alzheimer (**Afaq et al., 2009; Rahmani et al., 2017**), et dans la maladie de Parkinson, (**Costantini et al., 2018**).

La croissance de la consommation de jus de grenade a entraîné une augmentation significative des résidus d'écorces de grenade, qui peuvent constituer jusqu'à 60 % du poids total du fruit (**Lansky et Newman, 2007**). Les écorces de grenade constituent l'enveloppe externe du fruit de *P.granatum*. Elles sont généralement jetées comme déchets après avoir consommé les graines juteuses à l'intérieur (**Siddiqui et al., 2024**). Les écorces de *P. granatum* ont attiré l'attention ces dernières années en raison de leurs nombreuses propriétés bénéfiques et de leurs applications potentielles. Selon une étude menée par **Chen et al. (2020)**, près de 49 composés bioactifs ont été isolés à partir des pelures de grenade, avec une prédominance d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de tanins. Ces composés contribuent à

Introduction

la couleur vive des écorces et offrent une large gamme de bienfaits pour la santé. Il a été rapporté que tous les composés des écorces de grenade possèdent des propriétés thérapeutiques, mettant en avant leur potentiel dans le domaine médical et sanitaire (**Khan et al., 2011**). La haute concentration de ces composés bioactifs dans l'écorce de grenade et les avantages pour la santé signalés jusqu'à présent font de ces résidus, des composants fonctionnels recherchés dans les aliments, les nutraceutiques et les produits pharmaceutiques (**Fawole et al., 2012; Fawole et al., 2015; Espín et al., 2007**).

Les études ont montré que les écorces de *P. granatum L.* possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et cardioprotectrices (**Feng et al., 2022; Karray et al., 2021**). Elles ont également été utilisées pour leurs propriétés astringentes afin d'apaiser les affections cutanées telles que l'acné et l'eczéma (**Dhumal et al., 2014**). La teneur élevée en antioxydants des écorces les rend efficaces pour éliminer les radicaux libres et protéger les cellules du stress oxydatif. Cette activité antioxydante pourrait contribuer à réduire le risque de maladies chroniques et à ralentir le processus de vieillissement (**Al-Gubory et al., 2021; Mastrogiovanni et al., 2021**).

La capacité antioxydante des écorces de *P. granatum* se manifeste par sa capacité à piéger les radicaux libres, ces radicaux sont définis comme des molécules ayant un électron non apparié dans l'orbite externe (**Gilbert, 2000**), sont généralement des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que des espèces réactives de l'azote (RNS) résultant du processus redox cellulaire (**Pham-Huy et al., 2008**).

La majorité des radicaux libres responsables de dommages aux systèmes biologiques sont des radicaux libres de l'oxygène (ROS). Ce sont les principaux sous-produits formés dans les cellules des organismes aérobies, et ils peuvent initier des réactions autocatalytiques, de sorte que les molécules avec lesquelles ils réagissent deviennent elles-mêmes des radicaux libres, propageant ainsi la chaîne de dommages. (**Rahman, 2007**).

Les effets toxiques des ROS dépendent de leur capacité à endommager des substrats biologiques sensibles et essentiels, tels que l'ADN, l'ARN, les protéines et les lipides membranaires (**Ismail et al., 2012**). Quand les systèmes de défense sont submergés par la surproduction des ROS, il est nécessaire d'apporter à l'organisme des molécules antioxydantes, Comme mentionné précédemment, l'extrait de l'écorce de grenade, riche en substances antioxydantes, pourrait contribuer à lutter contre le stress oxydatif et prévenir l'aggravation de ce processus. (**Wald, 2009**). L'écorce de grenade a été identifiée comme l'une des parties les plus riches en tanins de cet arbuste (**Seeram et al., 2006**), les tanins présentent la plus forte activité antioxydante (**Wald, 2009**). Il a été observé que la plupart des

Introduction

ROS attaquent les membranes des érythrocytes, entraînant l'oxydation des lipides et des protéines. Elles sont également impliquées dans certaines modifications de la structure de l'hémoglobine, ce qui entraîne l'hémolyse des globules rouges (**Chiu et al., 1982**). Puisque l'hémolyse est, par définition, un échec de la membrane érythrocytaire (**Shohet, 1972**), est une destruction excessive des érythrocytes, qui provoque une anémie si elle n'est pas compensée par une érythropoïèse adéquate. Selon sa dynamique et les comorbidités associées, son évolution peut être fatale (**Waldvogel Abramowski, 2021**). Les causes de la lyse cellulaire *in vivo* peuvent être regroupées en quatre catégories : immunologiques, mécanique, toxique ou infectieuse. Chacun de ces facteurs est l'objet de traitements spécifiques, actuels ou futurs. Cliniquement, deux voies physiopathologiques sont observées : intravasculaire ou extravasculaire (**Waldvogel Abramowski, 2021**). Des études ont révélé que les extraits de grenade constituent une source prometteuse de composés à potentiel anti-hémolytique. Parmi elles, l'étude de **Sumathy et al. (2013)** a mis en évidence que l'extrait flavonoïque de l'écorce de grenade exerce une activité anti-hémolytique marquée, faisant de celui-ci un candidat naturel potentiellement efficace pour prévenir ou limiter l'hémolyse.

Un grand nombre de maladies impliquent un processus inflammatoire, mécanisme instauré par le corps pour se protéger contre un agresseur (**Wald, 2009**). L'inflammation est généralement déclenchée par des lésions des tissus vivants, causées par des infections bactériennes, virales ou fongiques, des agents physiques ou une réponse immunitaire défectueuse. Son objectif principal est de localiser et d'éliminer les agents pathogènes, tout en éliminant les tissus endommagés afin de favoriser la guérison des zones affectées (**Barnes, 2009 ; Ahmed, 2011**). La réponse inflammatoire implique des macrophages et des neutrophiles, connus pour sécréter divers médiateurs responsables du déclenchement, de la progression, de la persistance, de la régulation et de la résolution finale de l'état inflammatoire aigu. La résolution de l'inflammation est influencée par plusieurs médiateurs anti-inflammatoires ainsi que par le recrutement de monocytes pour éliminer les débris cellulaires ou tissulaires. Il est possible que cette résolution ne se produise pas lors de la phase aiguë, entraînant ainsi une transition vers une phase chronique (**Oguntibeju, 2018**).

Fait intéressant, *P. granatum* a démontré une capacité à inhiber l'inflammation par différents mécanismes (**Rahimi et al., 2012**). Des essais *in vitro* et *in vivo* ont indiqué que l'extrait de l'écorce de grenade constitue une approche thérapeutique très efficace contre les troubles inflammatoires (**Ismail et al., 2012**).

Introduction

L'écorce de grenade est un sous-produit nutritif précieux, doté d'une activité biologique remarquable. En raison de ses nombreux bienfaits, il nous a paru nécessaire de valoriser cet arbre et d'inscrire ce travail dans l'évaluation des activités biologiques des écorces de *P. granatum L.*, à savoir l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anti-hémolytique.

Notre étude a pour objectif d'examiner en profondeur ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antihémolytiques. Pour cela, elle se divise en deux parties principales, chacune visant à mettre en lumière les bienfaits potentiels de cet extrait naturel.

- La première partie propose une introduction, mettant en lumière les propriétés de la grenade et de son écorce ainsi que leurs usages traditionnels et pharmacologiques.
- La deuxième partie expérimentale de ce mémoire est structurée en deux chapitres distincts :

- Le premier chapitre présente le matériel utilisé ainsi que les méthodes adoptées tout au long du travail expérimental :

- Préparation d'un extrait méthanolique des écorces de grenade (*Punica granatum*)
- Dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des écorces.

- Évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anti-hémolytique *in vitro* de l'extrait étudié.

- Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus et discussion

Ce chapitre est suivi d'une conclusion générale portant sur les principaux points pour mieux approfondir le ce travail, et met en perspective les axes de recherche futurs, fondés sur les résultats obtenus.

Matériel et Méthodes

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel végétal

L'écorce du fruit du grenadier, également appelée *malicorium*, constitue la partie dure du fruit (Wald, 2009). Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale correspond à cette partie rigide du fruit de *Punica granatum*, à savoir l'écorce. Après la consommation des fruits, les écorces ont été récupérées, puis séchées à l'ombre afin de préserver les molécules bioactives et d'éviter les effets néfastes du rayonnement solaire.



Figure 01 : Fruit de *P. granatum*



Figure 02 : Eorce de la grenade

1.1.2. Taxonomie

Le grenadier, *P. granatum*, a été décrit par Linné et intégré dans son système de classification en 1753. Selon cette classification :

- | | |
|------------------------|------------------------|
| o Embranchement : | Spermaphytes |
| o Sous-embranchement : | Angiospermes |
| o Classe : | Magnoliopsida |
| o Ordre : | Myrtales |
| o Famille : | Punicaceae |
| o Genre : | <i>Punica</i> |
| o Espèce : | <i>Punica granatum</i> |

1.1.3. Description de l'écorce de grenade

L'écorce de grenade possède une saveur amère et astringente (**Planchon et Collin, 1875**). Elle est généralement utilisée après séchage, sous forme de petits fragments. La face externe est de couleur brun verdâtre à rougeâtre, avec une surface légèrement rugueuse ou verruqueuse, et brillante. La face interne, quant à elle, est concave, de couleur jaunâtre, et porte souvent l'empreinte des graines qu'elle contenait (**Wald, 2009**). Ces écorces présentent une consistance coriace (**Planchon et Collin, 1875**).

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de la poudre d'écorce de grenade

1.2.1.1. Broyage

Après le séchage, les écorces ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine (**Figure 03**).



Figure03: Transformation des écorces de grenade en poudre.

1.2.1.2. Tamisage

Le broyat obtenu a été tamisé à l'aide d'un tamis de diamètre fines afin d'obtenir une poudre d'écorce de grenade à granulométrie très fine **Figure 04**.

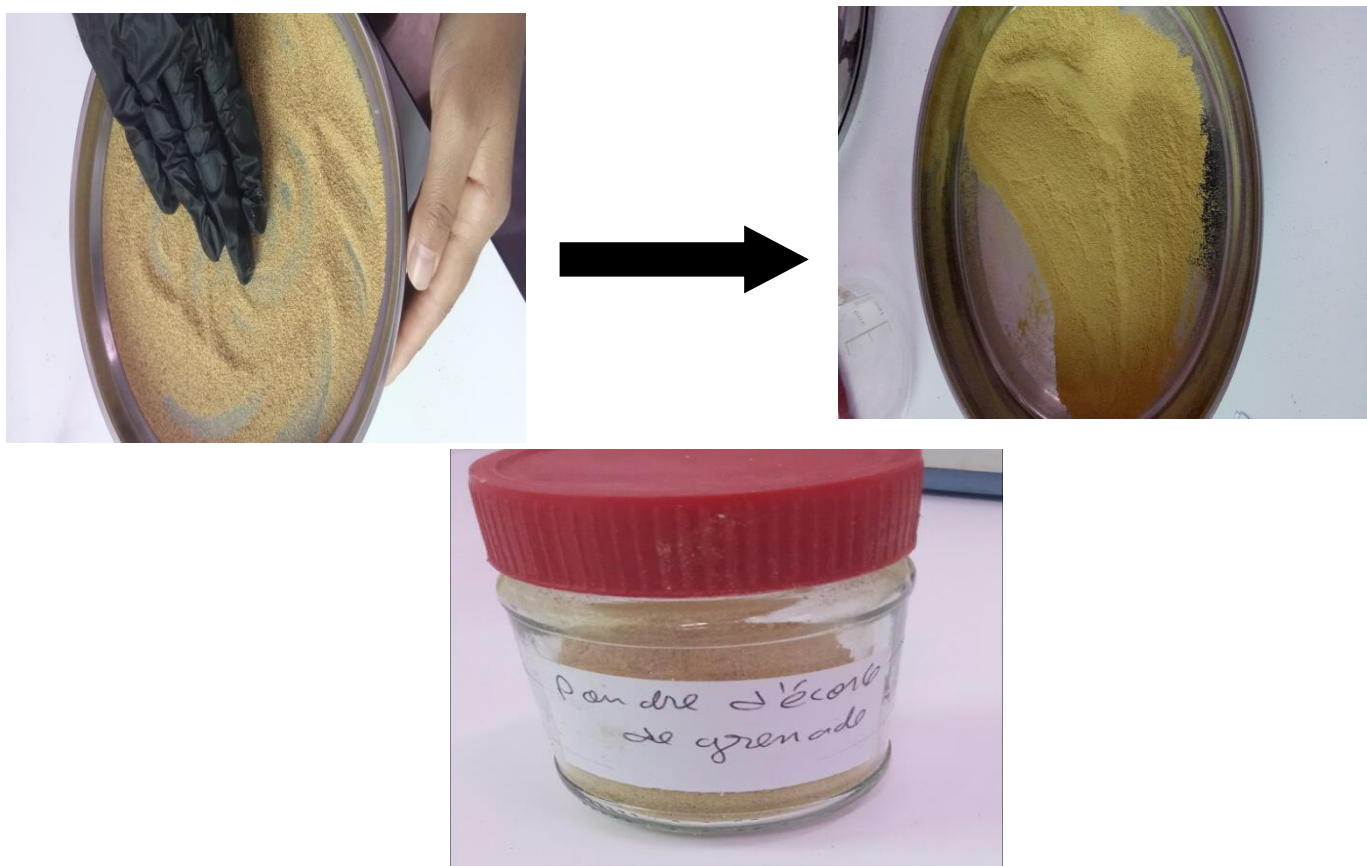


Figure 04 : Poudre fine d'écorce de *Punica granatum*

1.2.2. Préparation de l'extrait

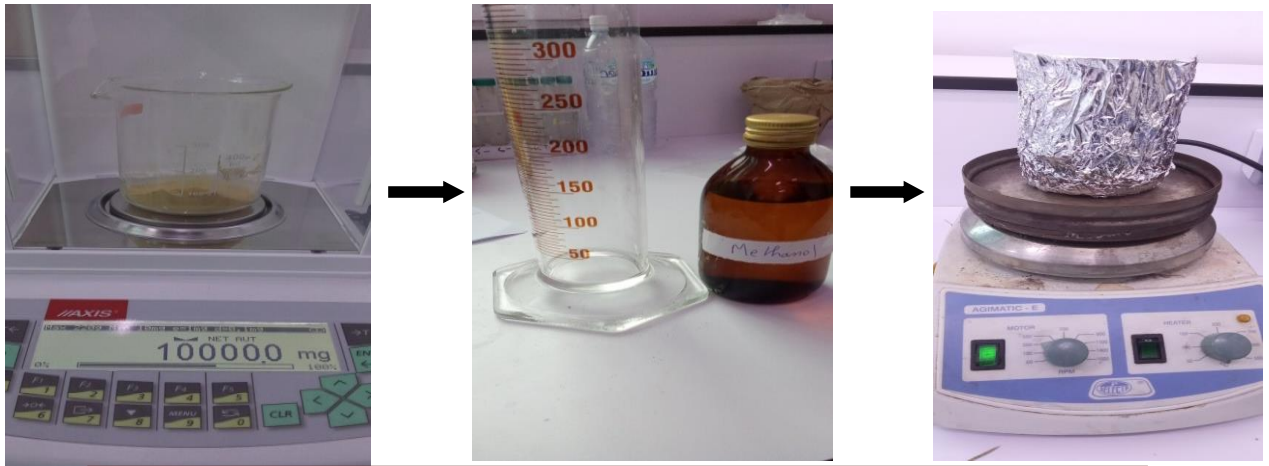
Une macération méthanolique a été réalisée en utilisant 10 g de poudre d'écorce de grenade, mélangée avec 250 ml de méthanol pur, pendant 24 heures sous agitation magnétique douce à une vitesse de 300 rpm.

L'extrait méthanolique obtenu a ensuite été filtré successivement à travers une compresse médicale repliée plusieurs fois, puis à travers du papier filtre Whatman N°1.

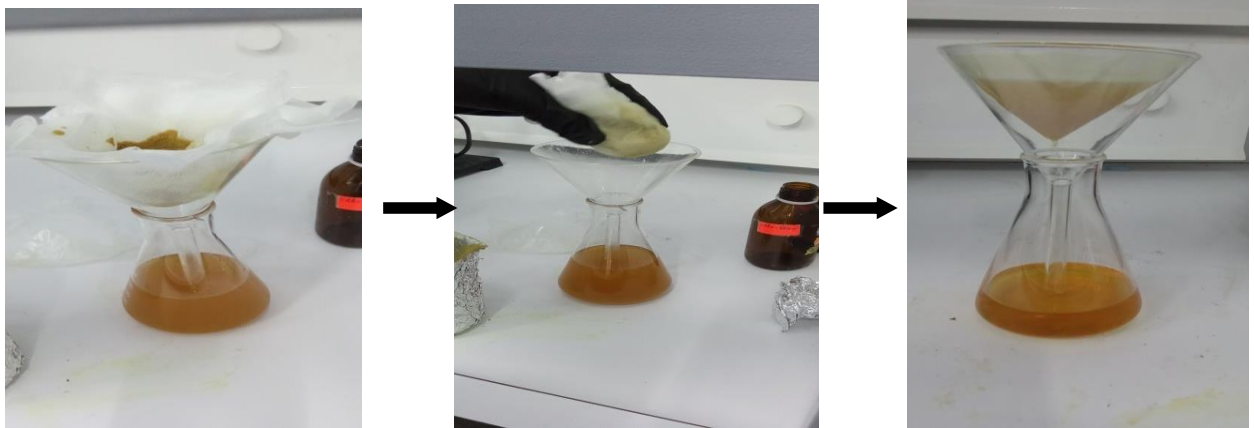
Le résidu récupéré a été soumis à une nouvelle macération pour extraire davantage de molécules bioactives présentes dans l'écorce, puis filtré. Les deux extraits méthanoliques obtenus ont été ensuite combinés. Après la filtration, le méthanol a été éliminé de l'extrait par évaporation rotative dans un évaporateur rotatif, puis l'extrait a été séché dans une étuve pendant 4 jours à une température de 40°C, jusqu'à l'évaporation totale du méthanol.

L'extrait sec, de couleur brune légèrement brillante, a été conservé dans un réfrigérateur jusqu'à son utilisation (**Figure 05**).

Matériel et méthodes



10g de la poudre de l'écorce de grenade +250ml de méthanol pendant 24h
sous agitation magnétique douce



L'extrait méthanolique obtenu a été filtré à travers une compresse médicale
repliée plusieurs fois, puis à travers du papier filtre Whatman N°1



le méthanol a été éliminé de l'extrait par évaporation rotative, puis l'extrait a été séché dans une étuve
pendant 4 jours à une température de 40°C, jusqu'à l'évaporation totale du méthanol.

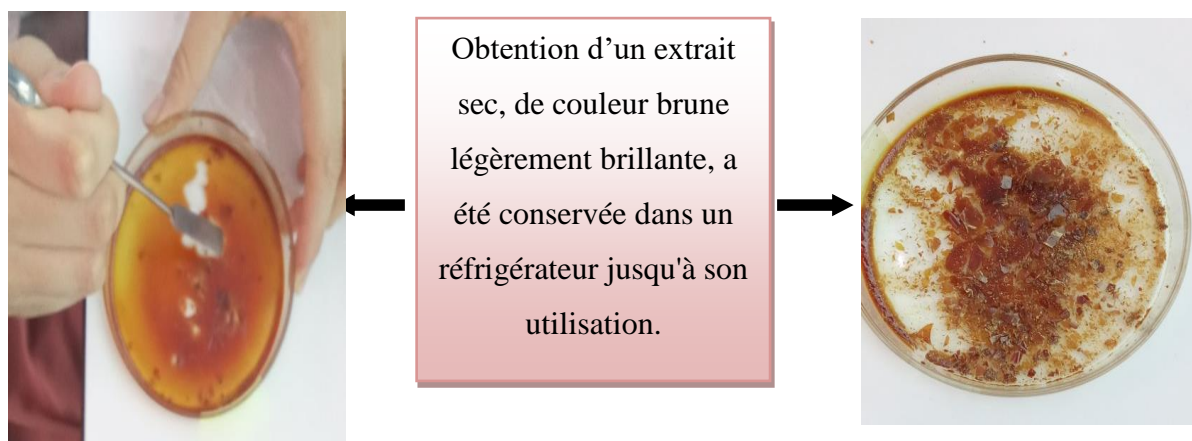


Figure 05 : Protocole d'extraction de l'extrait méthanolique

1.2.3. Calcul du rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction correspond au rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale initialement utilisée, le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = (M_e/M_p) \times 100$$

Avec :

R(%) : le rendement en %.

M_e : la masse de l'extrait sec après l'évaporation du solvant en(g)

M_p : la masse de la poudre végétale utilisée pour l'extraction en(g)

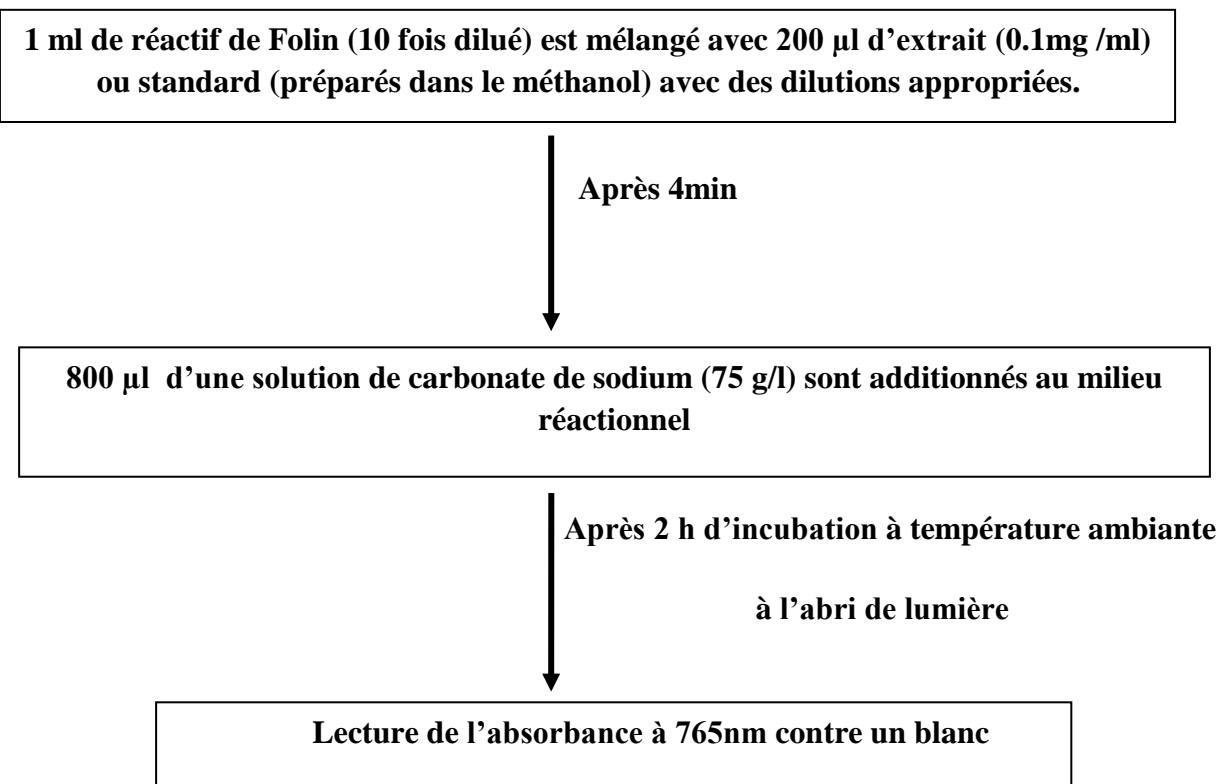
1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

1.3.1. Dosage des polyphénols totaux

a-principe

Les polyphénols des écorces de *P. granatum* ont été déterminés selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Li et al., 2007). Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Lors de l'oxydation des composés phénoliques, ce mélange est réduit en oxydes bleus de tungstène et de molybdène, responsables de la coloration observée (Ribéreau-Gayon, 1968). L'intensité de la couleur bleue, mesurée par spectrophotométrie à 765 nm, est proportionnelle à la concentration en polyphénols présents dans les extraits végétaux.

b- Mode opératoire



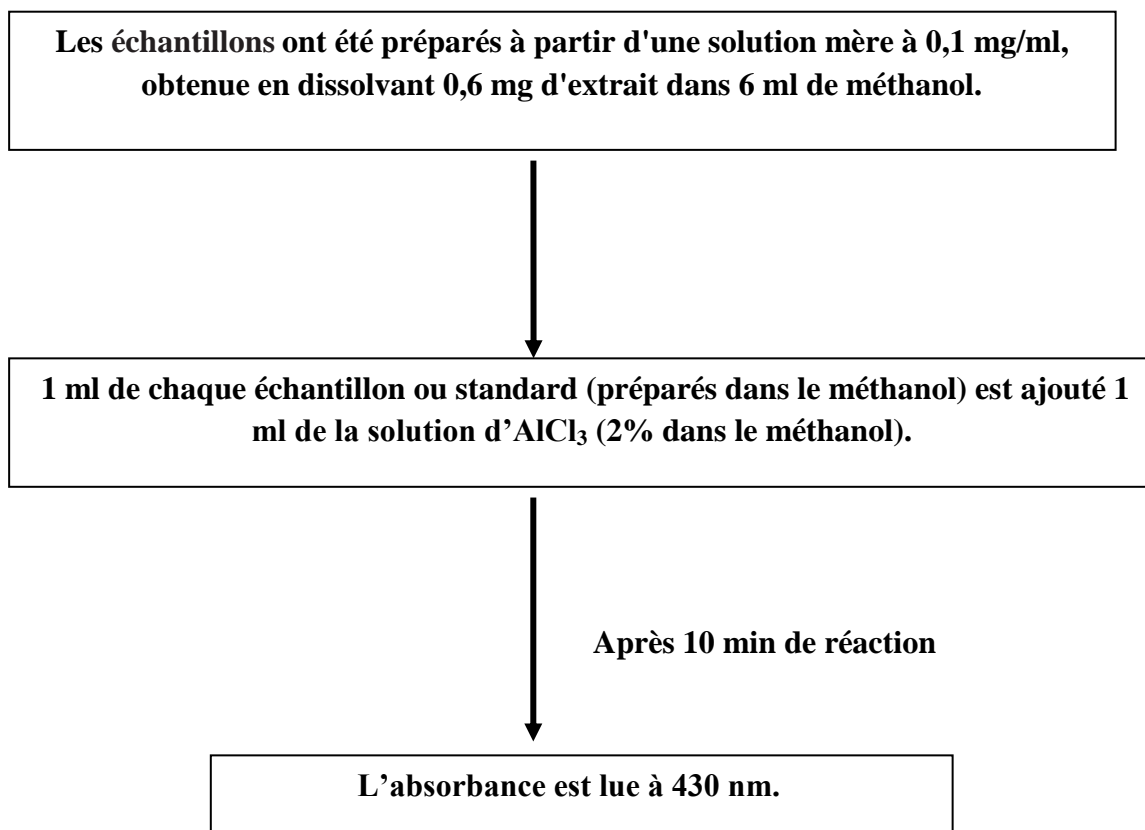
La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec l'acide gallique et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait)

1.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

a- Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des écorces (EME) de *P. granatum*, cette méthode repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes avec l'aluminium sous forme d'ions Al^{3+} après la décomposition du chlorure d'aluminium qui donne à la solution une couleur jaunâtre (Bahorun *et al.*, 1996). Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible.

b- Mode opératoire



La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

1.4. Evaluation de l'activité biologique

1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydants, *in vitro*, de l'extrait des écorces du fruit de *Punica granatum*.

Dans la présente étude, nous avons mis en évidence l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait méthanolique des écorces de grenade (EMEG) en utilisant différentes techniques chimiques, notamment, l'effet scavenger du radical DPPH, le pouvoir réducteur du fer FRAP, la mesure de la capacité antioxydante totale (CAT) et le pouvoir chélateur du fer ferreux.

1.4.1.1. Effet scavenger du radical DPPH

Pour évaluer l'activité antiradicalaire d'EMEG, nous avons utilisé une méthode spectrophotométrique basée sur le radical libre DPPH' (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le radical DPPH est largement utilisé comme modèle pour évaluer l'activité antioxydante, en

Matériel et méthodes

raison de la rapidité et de la simplicité de cette méthode comparée à d'autres méthodes (Wang et al., 2009).

a- Principe

Le modèle de piégeage du radical DPPH permet de quantifier le pouvoir réducteur des composés antioxydants présents dans l'extrait, en déterminant la concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀). En présence d'un antioxydant, le radical DPPH[•], initialement de couleur violette, capte un électron ou un proton, se transformant ainsi en une molécule stable et diamagnétique, le diphenyl picryl-hydrazine (Gülçin et al., 2003), de couleur jaune. L'atténuation de la coloration violette est donc proportionnelle à la capacité des antioxydants à céder des protons (H⁺), ce qui permet d'évaluer leur efficacité (Figure 06).

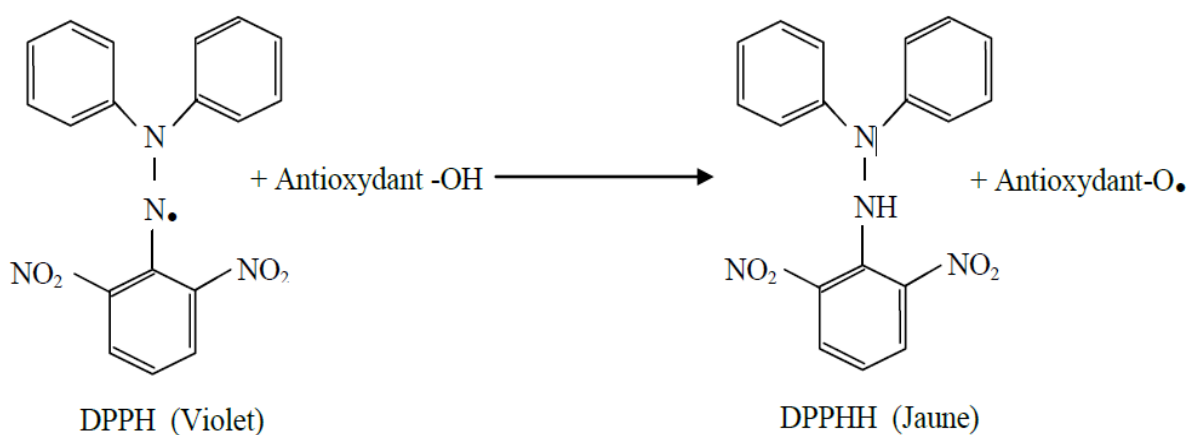


Figure 06: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre le radical DPPH[•] et un antioxydant(AH) (Talbi et al., 2015).

b- Mode opératoire

Cette activité a été évaluée en suivant la méthode décrite par Cuendet et al. (1997), avec quelques modifications apportées au protocole :

50 µl de chacune des différentes concentrations de l' extrait ou de standard (quercetine) ont été mélangés avec 1250 µl de solution méthanolique de DPPH 0.004%

Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité

Les absorbances des mélanges et du contrôle négatif, (contenant uniquement la solution de DPPH avec 50 µl de méthanol) ont été mesurées à 517nm.

Matériel et méthodes

Tous les tests ont été réalisés en triplicata.

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

Où :

Ac: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

Ae: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Le pourcentage d'inhibition est exprimé par valeur d'IC₅₀, correspondant à la concentration d'extrait nécessaire pour neutraliser 50 % du radical libre DPPH et le convertir en sa forme stable.

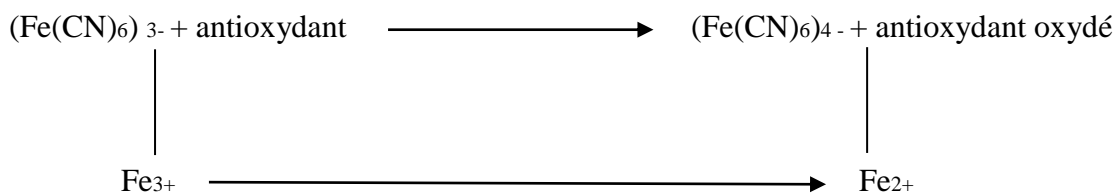
Une courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration a été tracée, et la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité a été déterminée et exprimée sous forme de valeur IC₅₀.

1.4.1.2. Test de la réduction du fer (FRAP)

Le test FRAP (Ferri reducing antioxidant power) est une méthode colorimétrique de transfert d'électrons.

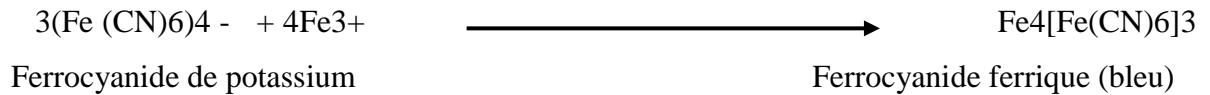
a-principe

L'activité antioxydante de EMEG de a été évaluée à l'aide de la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Il s'agit d'un test simple, rapide et reproductible (**Benzie et Strain, 1996**), applicable de manière universelle, aussi bien aux extraits de plantes qu'aux plasmas, qu'ils soient organiques ou aqueux (**Li et al., 2008**). Ce test repose sur la capacité des composés réducteurs présents dans les extraits à réduire le complexe ferrique Fe³⁺/ferricyanure en sa forme ferreuse Fe²⁺. Cette réduction se traduit par une augmentation de l'intensité de la coloration bleue du milieu réactionnel, mesurable par spectrophotométrie à 700 nm (**Chung et al., 2002**).



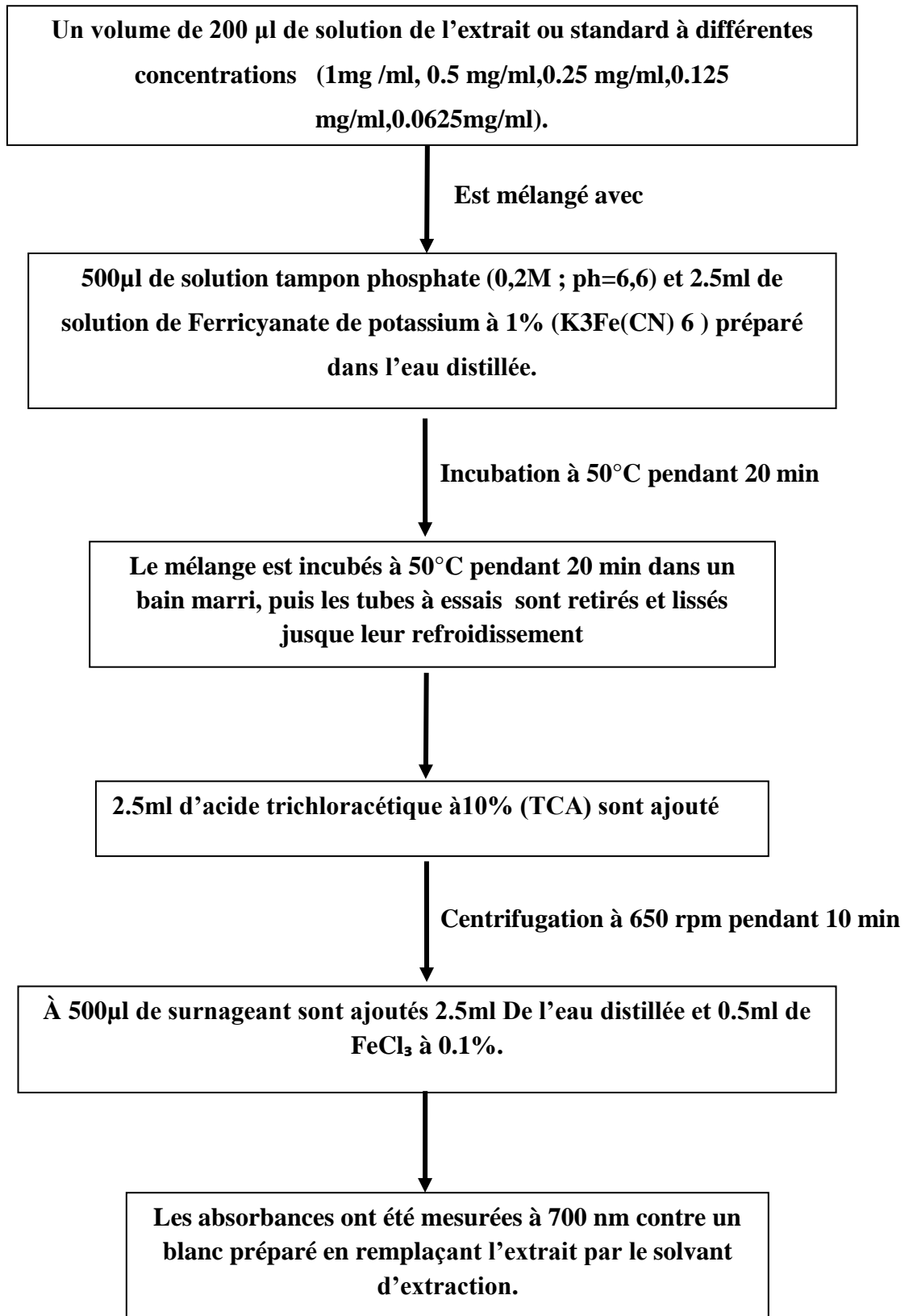
Le Fe²⁺ peut donc être contrôlé en mesurant la formation d'un complexe fortement coloré en bleu vert (bleu de Prusse) à 700 nm (**Chung et al., 2002**).

Matériel et méthodes



b- Mode opératoire

Le pouvoir réducteur de l'EMEG est déterminé selon le protocole d'Oyaizu (1986) avec quelque modification :



Matériel et méthodes

L'acide ascorbique est utilisé comme standard de référence .

Tous les tests ont été réalisés en triplicat.

L'activité antioxydant liée au pouvoir réducteur de l'extrait est exprimée comme suit :

$$\text{Pouvoir Réducteur} = [(Ae - Ab) / Ae] \times 100.$$

Où :

Ae : Absorbance de l'extrait.

Ab : Absorbance du blanc.

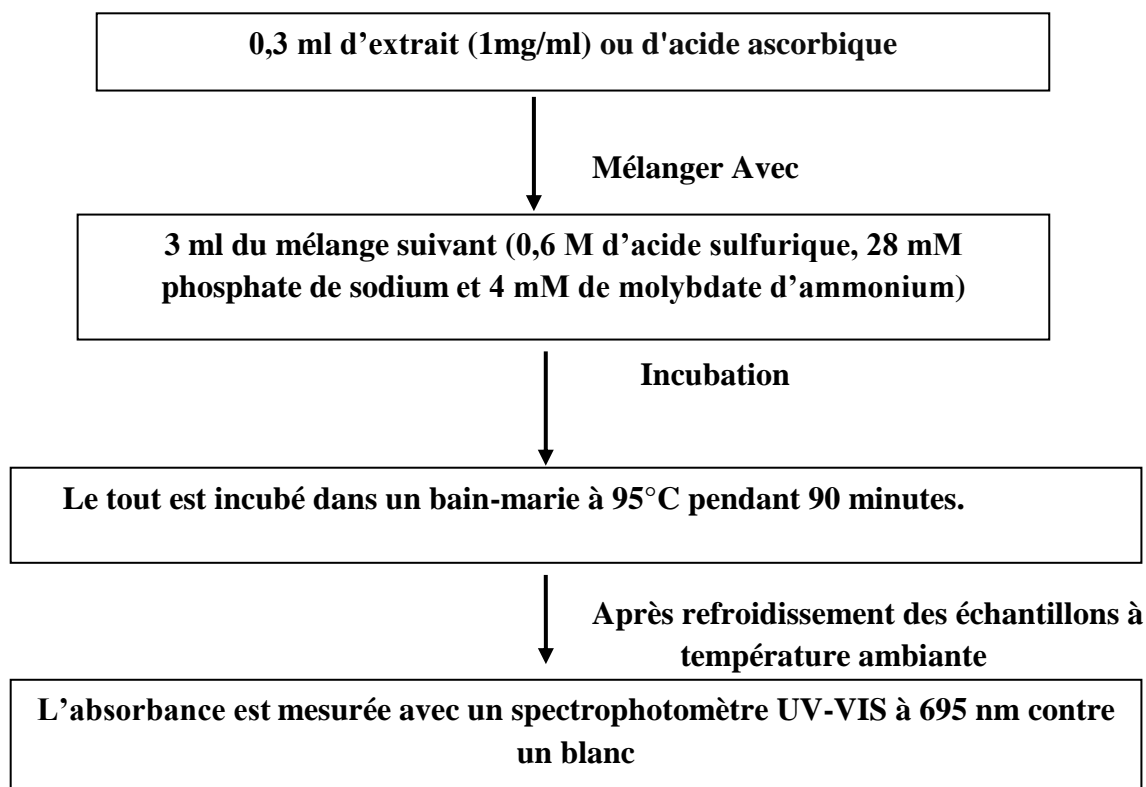
1.4.1.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale de l'EM des écorces de *P. granatum* est évaluée par le test du phosphomolybdène selon la méthode décrite par **Prieto et al. (1999)**.

a-principe

La méthode consiste à convertir le molybdène Mo (VI), présent sous forme d'ions molybdate (MoO_4^{2-}), en oxyde de molybdène Mo(V) sous forme de (MoO_2^+), cette réduction se manifeste par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo(V)) à pH acide en présence de l'extrait (**Prieto et al., 1999**).

b- Mode opératoire



Matériel et méthodes

Les résultats sont la moyenne de trois mesures \pm écart type, exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait sec (μg EAA/mg d'ES).

1.4.1.4. Pouvoir chélateur du fer ferreux

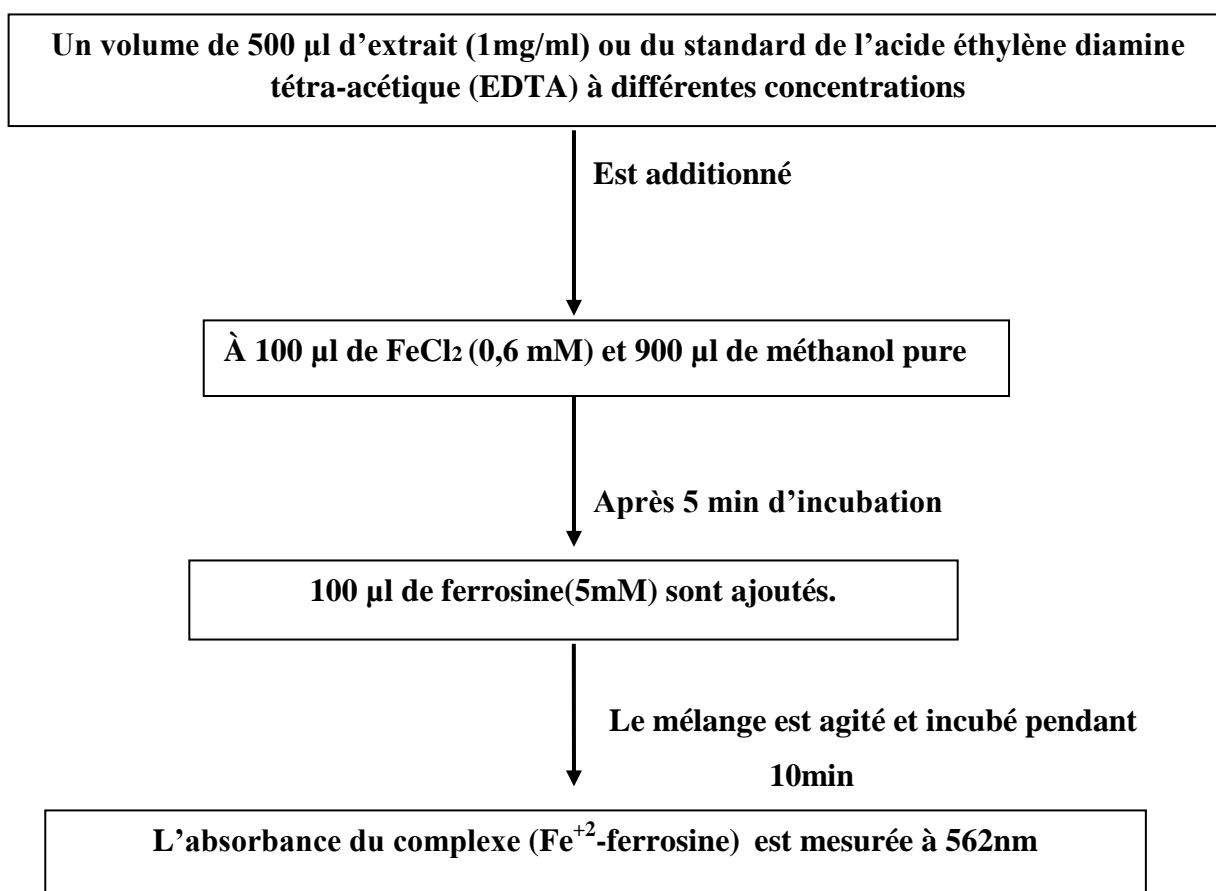
La capacité de chélation du fer constitue l'une des approches couramment employées pour évaluer le potentiel chélateur d'un extrait végétal (Mekhoukh, 2024).

a-principe

La ferrozine, composé stable, forme avec les ions Fe^{2+} libres un complexe ferrozine- Fe^{2+} de couleur violette intense. Une diminution de l'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrosine indique la présence d'antioxydants à pouvoir chélateur.

b- Mode opératoire

Le pouvoir chélateur de l'extrait de notre plante a été évalué selon la méthode décrite par (Li *et al.*, 2007) avec de certaines modifications :



Matériel et méthodes

L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage et calculée selon la formule suivante :

$$\text{Pouvoir chélateur (\%)} = [(A_t - A_e) / A_t] \times 100$$

Où :

A_t : absorbance du témoin.

A_e : Absorbance de l'extrait

Les résultats sont exprimés en concentrations effectives à 50 % (EC50), définies comme la concentration de l'extrait ou du standard nécessaire pour chélater 50 % du fer ferreux présent dans le milieu réactionnel. Les valeurs d'EC50 ont été déterminées par régression linéaire, en établissant la relation entre le pourcentage de chélation du fer et les différentes concentrations des extraits testés (Mekhokh, 2024).

1.4.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire l'EMEG *in vitro*

1.4.2.1. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

L'activité anti-inflammatoire de l'EMEG a été évaluée par la méthode de dénaturation de la sérum albumine bovine (BSA) (Abbas *et al.*, 2021).

a-principe

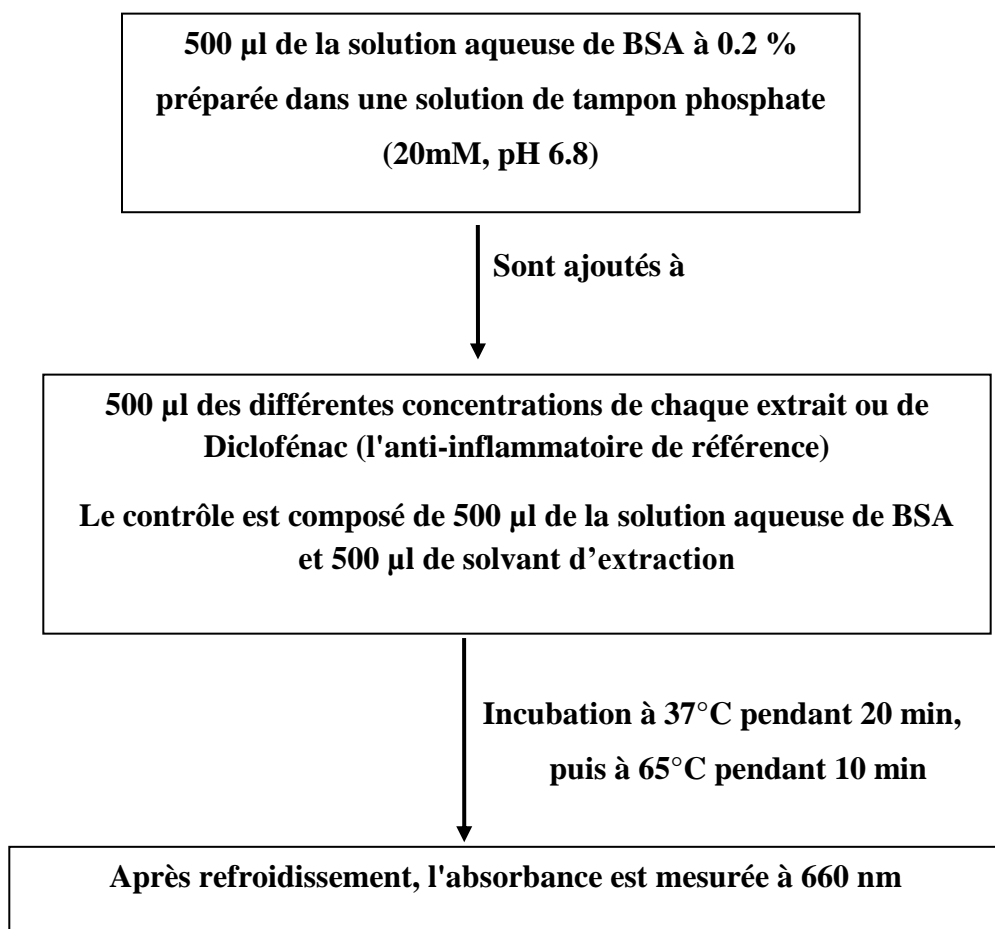
La dénaturation des protéines a été identifiée comme l'une des causes de l'inflammation. On considère que lorsqu'un tissu vivant est lésé, une réaction inflammatoire s'ensuit. Celle-ci se manifeste par des signes caractéristiques tels que la rougeur, la douleur, la chaleur, le gonflement et la perte de fonction de la zone affectée (Bailey-Shaw *et al.*, 2017) . Cette inflammation est accompagnée d'une perturbation des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes et disulfure au sein de la structure protéique. Ces altérations conduisent à la perte de la conformation moléculaire et des fonctions des protéines, autrement dit à leur dénaturation. (Kandikattu *et al.*, 2013; Sridevi *et al.*, 2015).

Le test d'inhibition de la dénaturation des protéines, basé sur la stabilisation thermique de la sérum-albumine bovine (BSA) et de l'albumine d'œuf (Fetni & Bertella, 2020). Lorsque la BSA est soumise à une dénaturation thermique, elle expose des antigènes pouvant induire une réponse d'hypersensibilité de type III, impliquée dans plusieurs pathologies inflammatoires telles que la maladie sérique, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde...etc. (Williams *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2001).

Matériel et méthodes

b- Mode opératoire

L'effet anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait est déterminé à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine du sérum bovin (BSA) selon la méthodes décrit par (Williams *et al.*, 2008).



L'activité anti-inflammatoire est exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée à l'aide de l'équation suivante :

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

1.4.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

L'effet anti-hémolytique de l'extrait méthanolique (EM) des écorces de *P. granatum* a été évalué *in vitro* sur une suspension d'érythrocytes humains incubée dans un tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,4.

a-principe

Afin d'évaluer l'effet protecteur de l'EMEG sur l'intégrité des globules rouges, des érythrocytes humains ont été soumis à une hémolyse induite par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La décomposition de ce composé génère un stress oxydatif au niveau des membranes des érythrocytes, entraînant l'oxydation des lipides membranaires et donc leur hémolyse (libération de l'hémoglobine dans le milieu extracellulaire). Un composé ou un extrait possédant des propriétés antioxydantes peut inhiber ou réduire cette hémolyse en : neutralisant les radicaux libres générés par le H₂O₂ et stabilisant la membrane cellulaire.

b- Mode opératoire

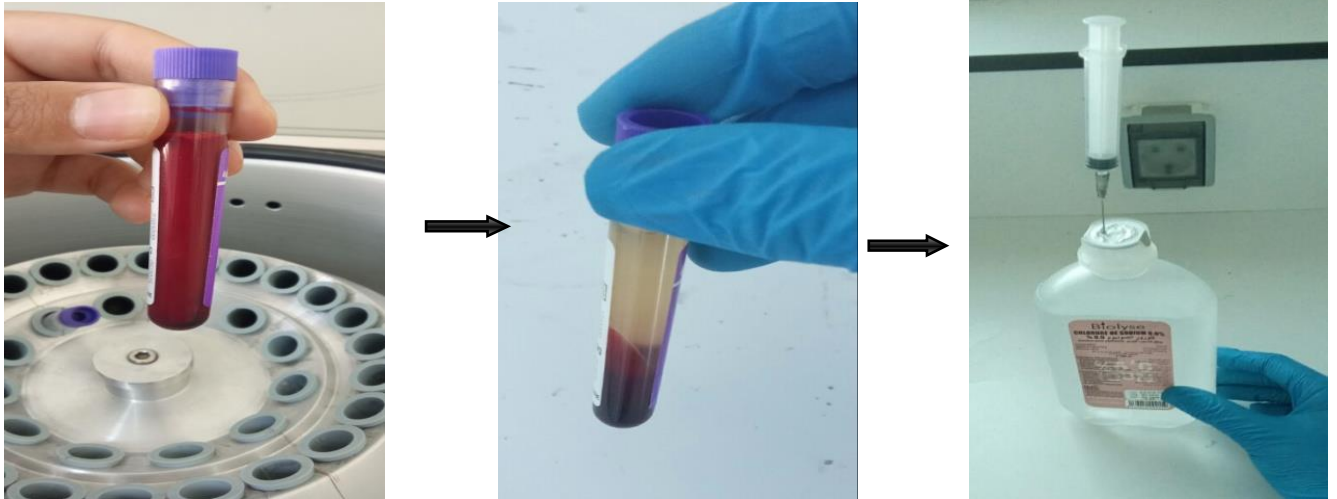
b-1- Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé d'un donneur unique à l'aide d'une seringue a été mis dans un tube EDTA, ensuite centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 3fois avec une solution d'eau physiologique (NaCl) à 0,9% à température ambiante. Chaque lavage consiste en une centrifugation à 3000 trs /min pendant 10 min et une suspension du culot dans l'eau physiologique à 0,9%. Après la dernière centrifugation, le culot obtenu est resolubilisé à nouveau par le même volume du plasma éliminé, la suspension érythrocytaire ainsi obtenue est diluée 40 fois par PBS à 0,2M, pH= 7,4.

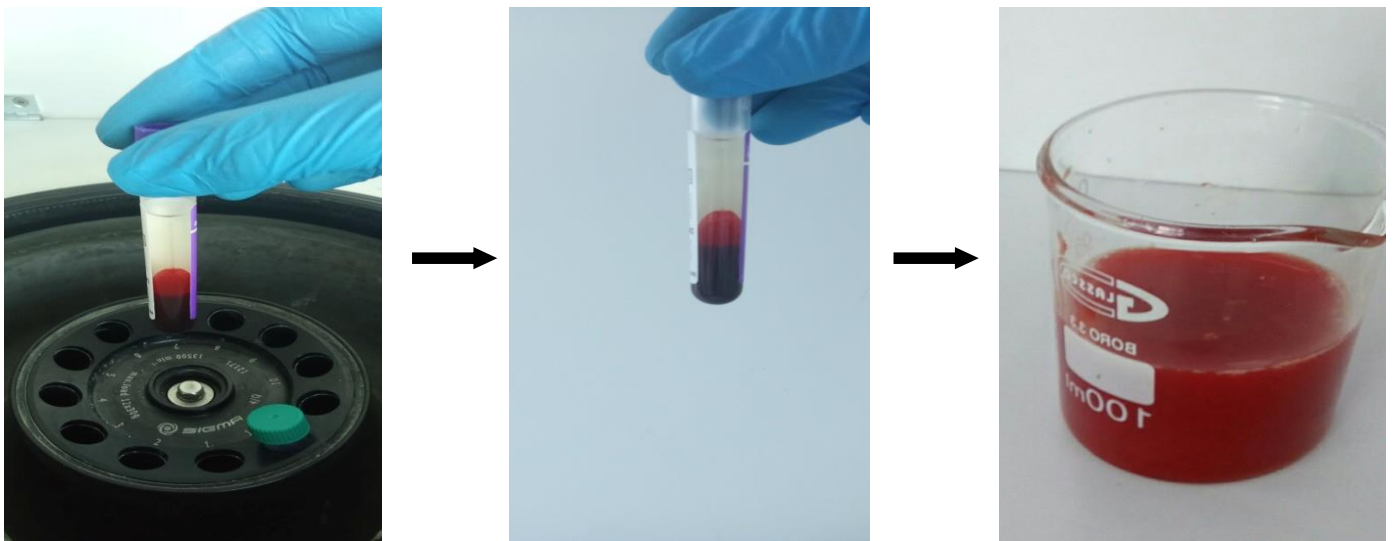
b-2- Préparation de l'EMEG

Différentes concentrations de l'extrait de l'écorce (1 - 0.125mg/ml) ont été diluées dans le PBS.

Matériel et méthodes



Les échantillons de sang humain environ 6ml ont été centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min, Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique (NaCl) à 0,9% jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair

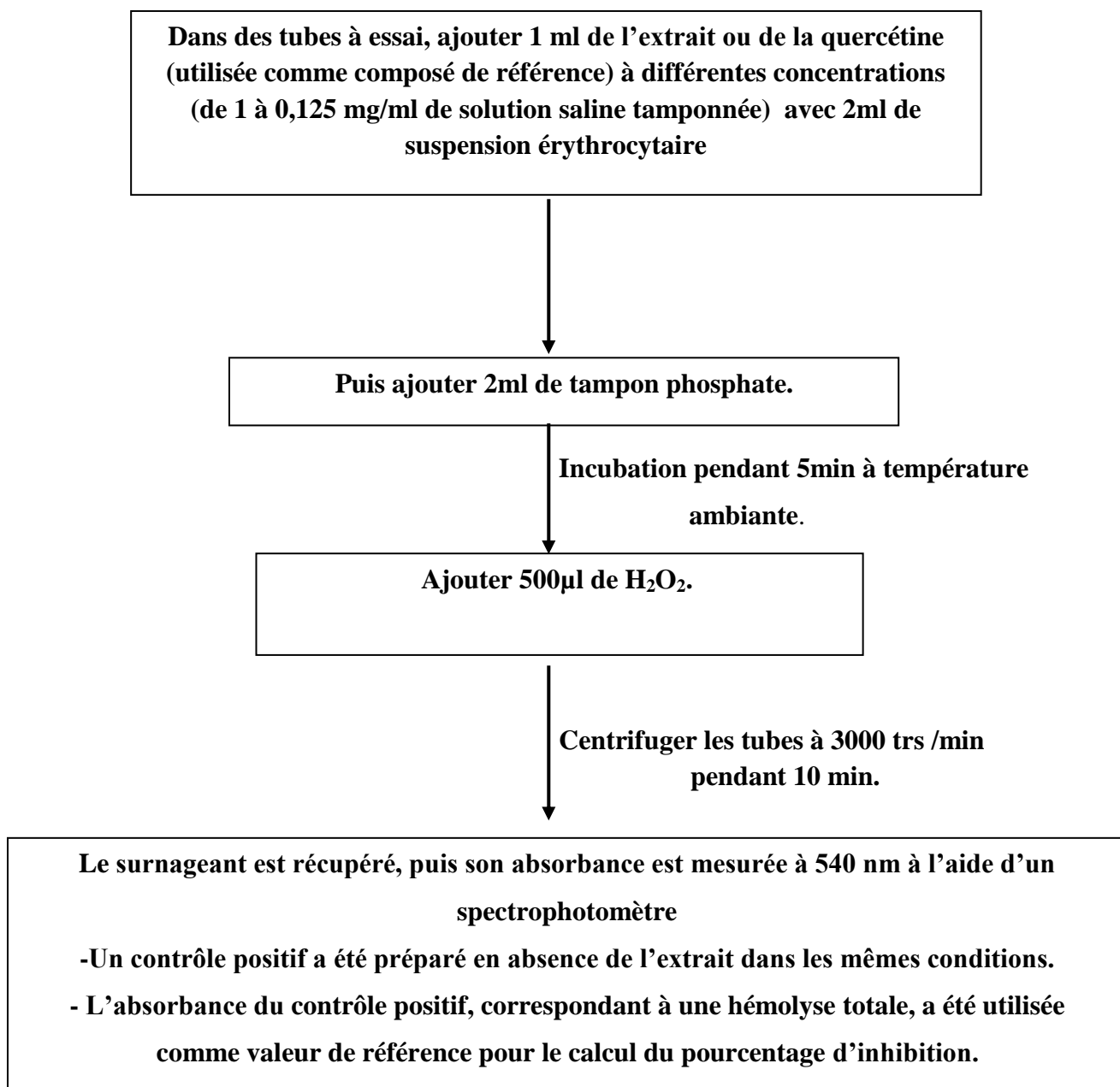


En centrifugeant à chaque fois à la vitesse de 3000 rpm, pendant 5 min. La suspension érythrocytaire ainsi obtenue été diluée 40 fois par PBS

Figure 07 : Protocole de Préparation de la suspension des globules rouges

b-3- Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'EMEG

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'EMEG a été réalisée selon la méthode décrite par **Nabavi et al. (2012)**.



Matériel et méthodes

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = (A_c - A_e / A_c) * 100$$

Où :

A_c : c'est l'absorbance obtenue après hémolyse totale (contrôle positif)

A_e : c'est l'absorbance obtenue en présence de l'extrait.

Tous les tests ont été effectués en triple sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. Les graphes sont mis en forme par Excel.

Résultats et discussion

2.1. Rendement d'extraction

La macération méthanolique des écorces de *P. granatum* L. a permis d'obtenir un rendement en extrait sec de 40,61 %. C'est un résultat très intéressant qui reflète une richesse en composés phytochimiques solubles dans le méthanol. Ce rendement est proche de celui rapporté par **Benguiar (2020)**, qui a obtenu 41 % à partir d'écorces de grenade. Il est également comparable à ceux observés par **Bachir et al. (2025)** et **Wang et al. (2011)**, qui ont respectivement obtenu des rendements de 41,13 % et 46,51 %. En revanche, notre rendement est nettement supérieur à celui rapporté par **Kennas et Amellal-Chibane (2019)**, qui ont obtenu 27,21 % lors de l'extraction des polyphénols à partir des mêmes écorces. De même, **Sehari, et al. (2022)** ont obtenu un rendement encore plus faible, de 22,26 %, bien inférieur à celui obtenu dans notre étude. À l'inverse, **Douaouri (2017)** a enregistré un rendement méthanolique nettement plus élevé, comparativement à notre, atteignant 71,32%.

Ces différences de rendement peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la variété de grenade utilisée, l'origine géographique, les conditions de séchage et de broyage des écorces, ainsi que les protocoles d'extraction tels que la durée de macération, la température, le rapport solvant/matière et la taille des particules des échantillons. Ces éléments influencent de manière significative la qualité et la quantité des composés bioactifs extraits (**Gil-Martín et al., 2022**).

Par ailleurs, le méthanol est couramment recommandé et largement utilisé pour l'extraction des composés phénoliques en raison de son efficacité (**Falleh et al., 2008**). Selon **Wang et al. (2011)**, l'extraction de l'écorce de grenade à l'aide du méthanol a permis d'obtenir le rendement le plus élevé. De plus, les études de **Singh et al. (2002)** et de **Gnanasaraswathi et al. (2014)** ont montré que les extraits méthanoliques de pelures de grenade présentent des résultats supérieurs par rapport aux extraits obtenus avec d'autres solvants. Cependant, l'utilisation du méthanol présente certains inconvénients, tels que sa toxicité, son coût relativement élevé et la nécessité de prendre des précautions strictes lors de sa manipulation (**Kennas et Amellal-Chibane. 2019**).

Enfin, La sélection du solvant est cruciale afin d'obtenir des extraits avec des rendements acceptables ou une activité antioxydante élevée (**El-Beltagi et al., 2022**).

2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux de l'EMEG a été réalisé en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme substance de référence pour établir la courbe d'étalonnage. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 765 nm.

L'apparition d'une coloration bleue après l'ajout de carbonate de sodium confirme la présence de polyphénols, capables de réduire le réactif de Folin-Ciocalteu. (**Figure08**)

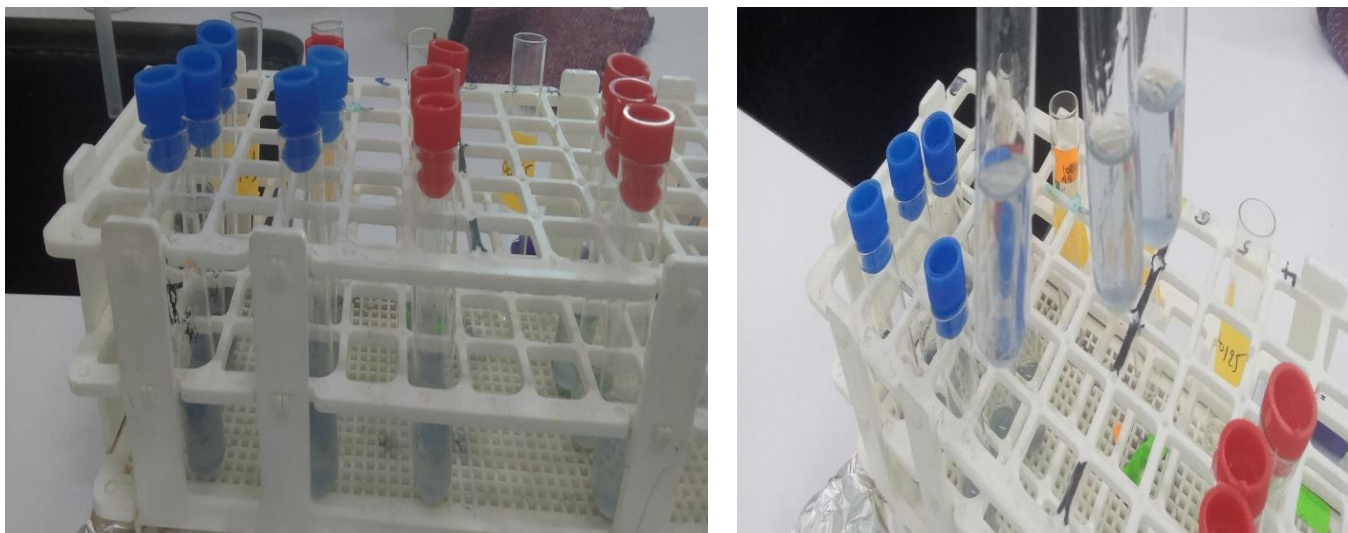


Figure 08 : Résultats de dosage des polyphénols

Les concentrations en polyphénols ont été déterminées à partir de l'équation de régression obtenue grâce à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait). Selon les résultats obtenus, l'EMEG présente une teneur particulièrement élevée en polyphénols, estimée à $683,5 \pm 41,8 \mu\text{g}$ équivalents acide gallique (EAG)/mg d'extrait (**Tableau I**). Cette valeur est considérablement supérieure à celles rapportées dans plusieurs études antérieures, **Bachir et al. (2025)** ont mesuré une concentration de $187,13 \pm 1,92 \mu\text{g}$ EAG/mg dans l'extrait méthanolique d'écorces de grenade du nord-ouest algérien. De même, selon **Abdu et al. (2020)**, la teneur en polyphénols totaux était de $105,6 \pm 0,005 \text{ mg}$ EAG/g pour l'extrait méthanolique, $94,14 \pm 0,02 \text{ mg}$ EAG/g pour l'extrait éthanolique et $83,17 \pm 0,003 \text{ mg}$ EAG/g pour l'extrait aqueux. Notre résultat dépasse également celui rapporté par **Shiban et al. (2012)**, soit $274,1 \pm 17,2 \text{ mg}$ EAG/g pour l'extrait méthanolique, ainsi que celui de **Douaouri et Djebli (2018)**, avec $227,92 \pm 0,50 \text{ mg}$ EAG/g (méthanol) et $92,61 \pm 0,38 \text{ mg}$ EAG/g (aqueux). De leur côté **Jaisinghani et Patil (2025)**, l'extrait éthanolique d'écorces de grenade présente une teneur plus élevée en polyphénols totaux, avec $390,05 \pm 2,1 \text{ mg}$ EAG/g

d'extrait, contre $330,25 \pm 1,4$ mg EAG/g pour l'extrait aqueux. De même, **Tehranifar et al. (2010)**, qui ont obtenu une valeur de $423,5 \pm 1,3$ mg EAG/g. Cependant **Saleh et al. (2017)** ont rapporté plus forte teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux avec une valeur de $810 \pm 9,45$ mgEAG/g.

Par ailleurs, **Kaci-Meziane et al. (2017)** ont rapporté des teneurs en polyphénols totaux comprises entre 658,58 et 892,56 mg EAG/g pour les extraits de pelures de trois cultivars de grenade du nord-est de l'Algérie. Notre extrait se situe dans cet intervalle de valeurs. Cette comparaison suggère que notre extrait présente une richesse en composés phénoliques comparable à celle des cultivars algériens étudiés, confirmant ainsi sa teneur élevée en ces composés bioactifs.

Cette variation de concentration peut être attribuée à plusieurs facteurs. Selon des études antérieures, les différences dans la teneur en composés phénoliques résultent notamment de la variété, du stade de maturité des fruits, des pratiques agricoles, de la zone de culture, de la saison de récolte, des conditions climatiques ainsi que des modalités de stockage des fruits de grenade (**Sepùlveda et al., 2010 ; El Kar et al., 2011 ; Fawole et Opara, 2013**). Par ailleurs, le type de solvant utilisé et les conditions d'extraction jouent également un rôle important. Il est bien établi que la polarité du solvant influence fortement la solubilité des composés phénoliques, le méthanol étant généralement plus efficace pour extraire un large spectre de polyphénols (**Allothman et al., 2009**).

Selon (**Singh et al., 2018 ; Alexandre et al., 2019**) la concentration en acides phénoliques varie significativement selon les variétés et dépend fortement de la localisation géographique, des conditions climatiques et des pratiques culturelles. L'un des principaux paramètres déterminant la concentration en acides phénoliques est la couleur de l'écorce, les variétés à écorce rouge foncé présentant une concentration plus élevée en acides phénoliques que celles à écorce claire (**Gozlekçi et al., 2011**).

Enfin, d'après **Mirdehghan et al. (2007)**, les écorces de grenade sont plus riches en polyphénols totaux que les graines. Ces composés phénoliques sont généralement reconnus comme les principaux responsables de l'activité antioxydante des extraits (**Gulcin et al., 2004**). Cette richesse en polyphénols peut expliquer l'activité antioxydante potentiellement élevée de notre l'extrait trouvé dans cette étude.

2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes de l'EMEG est déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La concentration est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée

Résultats et discussion

avec la quercétine (0–40 µg/ml) et exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait). En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de quercétine ($y = 0.047 + 0.024x$, $r^2 = 0.9832$).

L'apparition d'une coloration jaunâtre confirme la présence de flavonoïdes qui forment un complexe avec l'aluminium. (**Figure 09**)

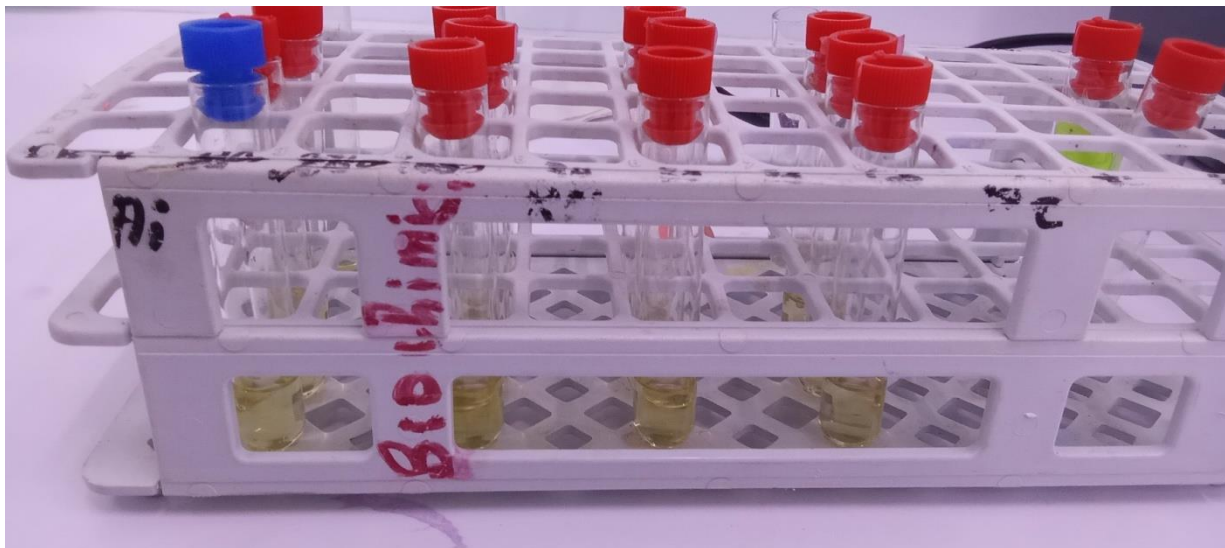


Figure 09 : Résultats de dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de notre extrait, déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine, est de $100,73 \pm 43,8$ µg EQ/mg (**Tableau I**). Cette valeur traduit une concentration relativement élevée en composés flavonoïdiques, ce qui suggère un bon potentiel antioxydant. Selon **Zhishen et al. (1999)**, les extraits riches en flavonoïdes présentent une capacité antioxydante significative, en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres.

En comparaison, plusieurs études ont rapporté des teneurs similaires ou inférieures à celle que nous avons obtenue. **Bachir et al. (2025)** ont obtenu $79,51 \pm 0,83$ µg EQ/mg, une valeur proche de la nôtre, tandis que **Benslimane et al. (2020)** ont mesuré $54,67 \pm 4,62$ µg EQ/mg et **Kennas et Amellal-Chibane (2019)** ont rapporté une teneur de $32,6 \pm 1,46$ µg EQ/mg. Ces valeurs, bien que significatives, restent inférieures à celle observée dans notre étude. De même, **Douaouri (2017)** a rapporté une teneur en flavonoïdes encore plus faible, estimée à $31,34 \pm 0,26$ mg EQ/g, ce qui renforce davantage l'originalité et la richesse de notre extrait.

Résultats et discussion

La teneur et la composition en flavonoïdes varient également de manière significative selon les variétés et les conditions de culture ; il a également été observé que le stade de développement du fruit influence la teneur et la composition en flavonoïdes (**Wafa et al., 2017 ; Fawole et al., 2012 ; Zhao et al., 2014**).

Ainsi, la teneur élevée en flavonoïdes que nous avons mise en évidence pourrait expliquer les propriétés biologiques potentielles de notre extrait, notamment son activité antioxydante. Cette dernière est largement documentée dans la littérature comme étant fortement corrélée à la richesse en flavonoïdes (**Panche et al., 2016**).

Tableau I: Teneur en polyphénols et Flavonoïdes totaux de l'EMEG.

Extrait	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/ mg E}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/ mg E}$)
Méthanolique	683,5 \pm 41,8	100,73 \pm 43,8

Plusieurs facteurs influencent la variation dans le rendement des composés phénoliques et flavonoïdes extraits de produits naturels, notamment le type de plante, la nature des composés à extraire, ainsi que l'efficacité des solvants d'extraction à dissoudre ces composés (**Shabir et al., 2011 ; Roudsari et al., 2007**).

Dans une étude comparative visant à extraire les composés polyphénoliques totaux et les flavonoïdes des feuilles, écorces et graines de grenade à l'aide de l'eau et du méthanol, l'extrait méthanolique des écorces de grenade présentait une teneur plus élevée en polyphénols (86 %) et en flavonoïdes (52 %) que l'extrait aqueux (54 % et 21 % respectivement), suivi par l'extrait méthanolique des feuilles de grenade et celui des graines (**El Falleh et al., 2012**).

Par conséquent, nos résultats sont confirmés par des travaux antérieurs montrant que le méthanol est le solvant le plus approprié pour l'extraction de la majorité des composés polyphénoliques et flavonoïdiques à partir d'échantillons de grenade (**El Falleh et al., 2012**).

2.4. Activité antioxydante

2.4.1. Test de DPPH

L'activité piégeuse des radicaux libres DPPH* a été calculée comme la concentration d'extrait ($\mu\text{g/ml}$) nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH initial (IC50). Dans ce test, lorsque la solution de DPPH* est mélangée à celle d'une substance capable de

Résultats et discussion

libérer un atome d'hydrogène, cela conduit à une forme réduite (DPPH-H), entraînant une perte de la couleur violette pour devenir jaune pâle (Kennas et Amellal-Chibane.2019). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires (Majhenic et al., 2007). (Figure 10)



Figure 10 : Résultats de test de piégeage des radicaux libres (DPPH).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'EM des écorces de *P. granatum* par ce test a révélé une IC_{50} de 0.10 ± 0.01 mg/ml, ce qui indique une bonne capacité de piégeage des radicaux libres. En comparaison, la quercétine, un flavonoïde de référence largement étudié pour son pouvoir antioxydant, présente une IC_{50} de 0.06 ± 0.004 mg/ml. Bien que l'extrait soit légèrement moins puissant que la quercétine, dont IC_{50} plus basse confirme son efficacité en tant qu'antioxydant puissant. Cette différence reste relativement faible, suggérant une richesse en composés bioactifs antioxydants de l'extrait étudié.

Notre extrait a été comparé à celle rapportée par **El-Beltagi et al. (2022)**, qui ont étudié l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de pelures de *p. granatum* et de *Citrus sinensis*. Dans leur étude, l'extrait méthanolique de *p. granatum* a présenté une IC_{50} de $130,5 \pm 2,0$ μ g/ml notre extrait est plus actif que celui de *P. granatum* rapporté dans cette étude (100 μ g/mL < $130,5$ μ g/ml). De même **Kennas et Amellal-Chibane (2019)** rapporte une IC_{50} de 147.83 ± 5.03 μ g/ml pour l'extrait méthanolique des pelures de grenade. De même l' IC_{50} enregistrée dans la présente étude est nettement supérieure à celle rapporté par **Moualkia et Gourmati (2014)**, qui a trouvé une IC_{50} de l'extrait méthanolique de l'écorce de grenade de $747,02$ μ g/ml.

Par contre l'étude de **Bachir et al. (2025)** rapporte une IC_{50} faible, de 14,23 $\mu\text{g/ml}$, pour un extrait également méthanolique de pelures de grenade, ce qui révèle une activité antioxydante plus élevée que celle observée dans notre extrait.

La réduction du DPPH ne résulte généralement pas de l'action d'un seul composé, mais plutôt d'interactions synergiques entre plusieurs constituants. Ces interactions peuvent être présentes dans un extrait et absentes dans un autre, ce qui pourrait expliquer les différences observées dans les résultats d'activité antioxydante (**Bacco et al., 1998 ; Gorinstein et al., 2001**). L'ensemble de ces résultats soutient l'hypothèse selon laquelle les composés extraits des pelures de grenade présentent un fort potentiel antioxydant.

2.4.2. Test de la réduction du fer (FRAP)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est une méthode simple fréquemment utilisée pour évaluer les composés antioxydants présents dans les fruits, les légumes et certains échantillons biologiques (**Wong et al., 2006**). L'augmentation de l'activité antioxydante mesurée par la méthode FRAP reflète une forte capacité de réduction des ions Fe^{3+} , ce qui se manifeste par l'augmentation de l'absorbance à 700 nm (**Douaouri et al. 2017**). Le pouvoir réducteur d'un composé sert d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. (**Zheng et al., 2011**).

Nos résultats de l'essai FRAP indiquent une capacité antioxydante importante de l'extrait de pelure de grenade (EMEG), avec une valeur d' IC_{50} de $0,49 \pm 0,02$ mg/ml. Cependant, le pouvoir réducteur du composé de référence (vitamine C) est plus élevé, avec une valeur d' IC_{50} de $0,34 \pm 0,01$ mg/ml. (**Figure 11**)

Une valeur d' IC_{50} plus faible reflète une activité antioxydante plus élevée, car elle indique qu'une plus faible concentration est suffisante pour atteindre 50 % de l'activité maximale.

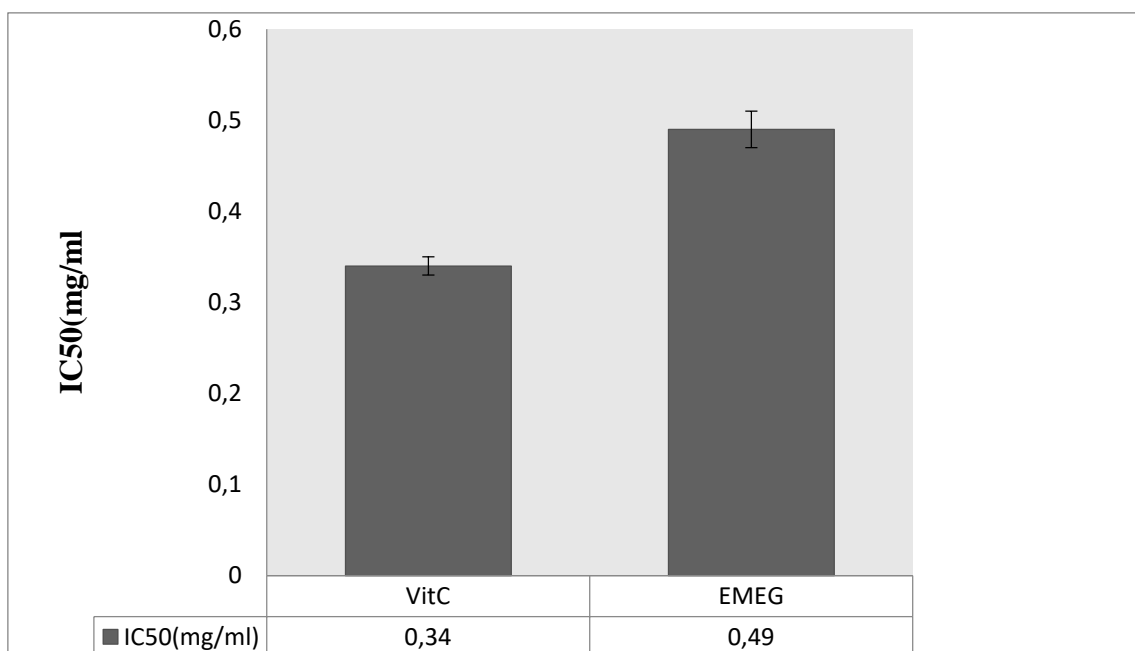


Figure 11 : Pouvoir réducteur du fer ferrique de l'EMEG et l'acide ascorbique.

Ces résultats sont en parfaite concordance avec ceux rapportés par **Douaouri (2017)**, qui a montré que le pouvoir réducteur de la vitamine C est nettement supérieur à celui de l'extrait méthanolique de grenade.

La valeur obtenue dans notre étude pour l'extrait méthanolique des écorces de grenade (EMEG), soit $0,49 \pm 0,02$ mg/ml, reflète une activité antioxydante importante. Cette activité témoigne de la capacité des composés phénoliques présents dans l'extrait à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), selon le principe du test FRAP. Cette valeur est relativement proche de celle rapportée par **Zeghad et al. (2023)**, qui ont obtenu une IC_{50} de $350,83 \mu\text{g/ml}$ pour un extrait hydrométhanolique (30 /70).

Cependant, notre extrait (EMEG) montre un pouvoir réducteur inférieur à celle rapporté par **Bachir et al. (2025)** ont obtenu une IC_{50} de $59,5 \mu\text{g/ml}$ pour un extrait méthanolique similaire, tandis que **Douaouri (2017)** a rapporté des IC_{50} de $0,173 \pm 0,010$ mg/ml pour l'extrait méthanolique et de $0,211 \pm 0,009$ mg/ml pour l'extrait aqueux. Étant donné que des valeurs plus faibles d' IC_{50} traduisent une meilleure activité antioxydante, ces résultats suggèrent que les extraits étudiés dans ces travaux présentent une activité antioxydante élevée que celle observée dans notre étude.

Les différences observées dans les résultats peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la variété de grenade utilisée, la durée et les conditions de stockage, la période de récolte, les conditions climatiques, ainsi que les méthodes d'extraction appliquées et la concentration du solvant utilisé (**Moure et al., 2001 ; Robards, 2003 ; Pinelo et al., 2004**).

Nos résultats sont cependant cohérents avec ceux de **Li et al. (2006)**, qui ont également souligné un pouvoir antioxydant significatif dans les extraits méthanoliques de pelures de grenade. Ce qui confirme l'intérêt des écorces de grenade comme source de composés bioactifs.

2.4.3. Capacité antioxydant totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) de l'extrait méthanolique des écorces de grenade (EMEG), déterminée par la méthode du phosphomolybdène et à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique ($y = 0,0057x + 0,0043$) (**Figure 11**), a été estimée à $439,31 \pm 42,47 \mu\text{g EAA/mg d'extract}$. Ce résultat est en concordance avec celui rapporté par **Negi et al. (2003)**, qui ont évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de pelures de grenade à $2457 \pm 56,3 \mu\text{mol EAA/g}$ à une concentration de 100 mg/ml, cette valeur correspond à environ 432,43 mg EAA/g après conversion, ce qui est très proche de celle obtenue dans notre étude. Cette similitude souligne la richesse des écorces de grenade en composés antioxydants.

À l'inverse, notre valeur est nettement supérieure à celle rapportée par **Hanafy et al. (2021)**, qui ont obtenu une valeur de $56,26 \pm 0,04 \text{ mg EAA/g}$ pour un extrait méthanolique comparable. Ces différences peuvent s'expliquer par des variations dans la méthode d'extraction ou la variété de grenade.

La richesse élevée en polyphénols de l'extrait de pelures de grenade est reconnue comme étant la clé de son puissant capacité antioxydant. (**Mandić-Kovačević et al., 2023**).

2.4.4. Activité chélatrice du fer ferreux

Au cours de la peroxydation lipidique, le fer joue un rôle de catalyseur puissant en favorisant la réaction de Fenton, un mécanisme impliqué dans de nombreuses pathologies humaines (**Halliwell et Gutteridge, 1990**). La capacité de l'extrait à chélater les métaux est évaluée en mesurant sa compétition avec la ferrozine pour le fer ferreux, ce qui permet d'inhiber la formation du complexe. Une baisse de l'absorbance traduit une augmentation de l'activité chélatrice (**Mekhoukh, 2024**)

D'après les résultats présentés dans la **figure 12** montrent que l'EMEG présente une EC_{50} de 0,95 mg/ml, tandis que celle de l'EDTA (chélateur de référence) est nettement inférieure, à 0,063 mg/ml. Cette différence indique que l'EMEG possède une capacité de chélation du fer, mais elle est moins puissante que l'EDTA. En effet, une EC_{50} plus élevée indique qu'une concentration plus importante de l'extrait est nécessaire pour atteindre 50 % d'inhibition de la formation du complexe fer-ferrozine.

Résultats et discussion

Ces résultats suggèrent que bien que l'EMEG contienne des molécules bioactives capables de chélater les ions ferreux, son activité chélatrice reste modérée par rapport à celle du standard synthétique(EDTA).

Ces observations sont en accord avec les travaux de (Sumathy *et al.*, 2013) qui ont également démontré que les extraits flavonoïques des écorce de grenade présentent une capacité significative à chélater les ions ferreux, en réduisant l'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrozine de manière dose-dépendante. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par (Sumathy *et al.*,2013) qui attribuent cette activité à la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. Il a également été démontré que ces composés sont capables non seulement de lier les métaux de transition comme le fer, mais aussi de réduire les complications liées à leur accumulation, en facilitant leur mobilisation et leur excrétion.

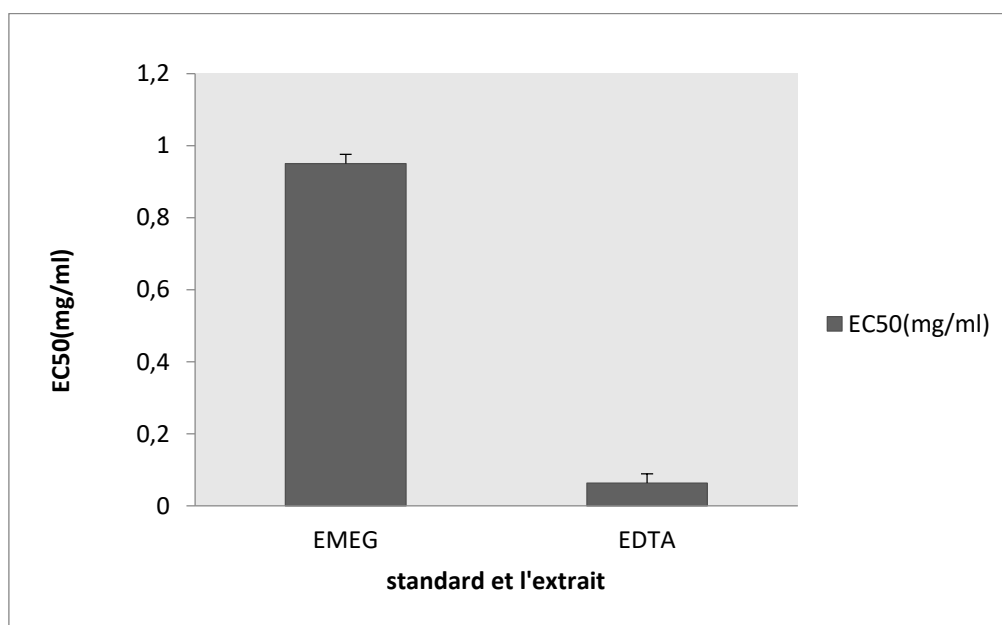


Figure 12 : Pouvoir chélateur du fer ferreux de l'EMEG et standard.

Résultats et discussion

D'après la présente étude, l'EMEG présente une activité antioxydante importante (tableau II), ce qui pourrait s'expliquer par sa teneur élevée en polyphénols incluant les flavonoïdes et les tanins, jouent un rôle essentiel dans la lutte contre le stress oxydatif grâce à leurs multiples mécanismes antioxydants (Bachir *et al.*, 2025).

Tableau II: Activité antioxydant de l'EMEG et les standards

Echantillons	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	FRAP IC ₅₀ (mg/ml)	TAC µg EAA/mgd'E	Pouvoir chélateur de fer (mg/ml)
EMEG	0.10±0.01mg /ml	0,49 ± 0,02 mg/mL	439,31 ± 42,47	0.95± 0.026
quercétine	0.06 ±0.004 mg/ml			
Vitamine C		0,34 ± 0,01 mg/mL		
EDTA				0.063±0.0005

Il est donc probable que les bons résultats obtenus pour notre extrait soient liés à une concentration relativement élevée en polyphénols. Plusieurs études ont également montré que l'extrait d'écorces de grenade présente une activité antioxydante environ 2,8 fois plus élevée que celle des extraits de graines et de feuilles de grenade (Guo *et al.*, 2003 ; Okonogi *et al.*, 2007 ; Negi *et al.*, 2003 ; Tehranifar *et al.*, 2011).

Une étude antérieure a rapporté que les extraits de grenade possèdent un potentiel antioxydant deux à trois fois supérieur à celui du vin rouge ou du thé vert (Gil *et al.*, 2000).

Cette action neutralise efficacement les espèces réactives de l'oxygène (ROS), empêchant ainsi les dommages cellulaires. Le don d'électrons stabilise les radicaux libres, réduisant leur réactivité et diminuant les dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et à l'ADN. De plus, les flavonoïdes ont la capacité de chélater les ions métalliques, tels que le fer et le cuivre, qui favorisent la formation de radicaux libres, réduisant ainsi les réactions oxydatives. Des études ont montré que des composés tels que les ellagitanins et les anthocyanines présents dans la grenade contribuent de manière significative à sa capacité antioxydante

(Benchagra *et al.*, 2021). Ces composés peuvent donner des électrons ou des atomes d'hydrogène aux radicaux libres, les neutralisant ainsi efficacement (Bachir *et al.*, 2025).

De plus, les Composés antioxydants interagissent avec certains précurseurs de peroxydes, empêchant leur conversion en peroxydes et contribuant ainsi à la prévention du stress oxydatif (Negi et Jayaprakasha, 2003 ; Huang et Prior, 2005 ; Zhang *et al.*, 2009).

Ces résultats confirment le potentiel de l'écorce comme source naturelle d'antioxydants pouvant contribuer à la prévention du stress oxydatif et de ses effets néfastes sur la santé.

2.5. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'EMEG comparée à celle du diclofénac, utilisée comme anti-inflammatoire de référence a été évaluée par sa capacité à inhiber la dénaturation thermique de la BSA (bovine serum albumin), un processus utilisé comme modèle de l'inflammation in vitro.

Les résultats obtenus présentés dans la (Figure13), révèle une inhibition dose-dépendante pour l'extrait de grenade et le standard (EMEG et diclofinac).

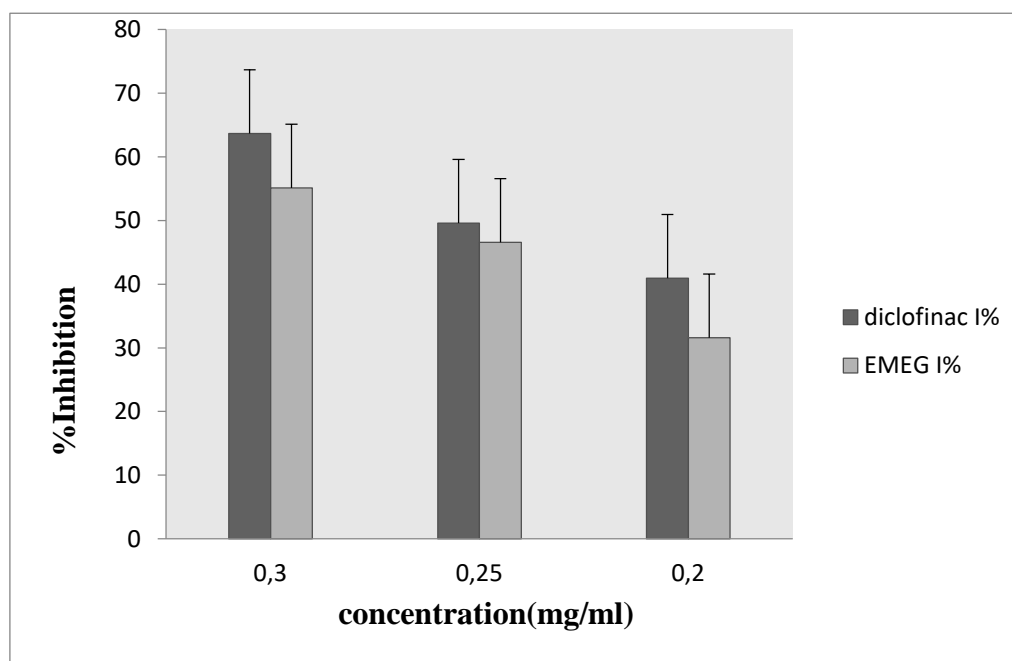


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation d'BSA à différentes concentrations de l'extrait de l'écorce de *P. granatum* et de diclofénac.

À différentes concentrations (0,3 ; 0,25 ; 0,2 mg/ml). On observe que, pour chaque concentration testée, le diclofénac présente un pourcentage d'inhibition plus élevé que l'EMEG. À 0,3 mg/ml, l'inhibition par le diclofénac atteint 63,64 ± 0.05% contre 55.10 ± 0.001

Résultats et discussion

% pour l'EMEG. À 0,25 mg/ml, le diclofénac montre une inhibition de $49.57 \pm 0.01\%$, tandis que celle de l'EMEG est d'environ $46.57 \pm 0.002\%$. Enfin, à 0,2 mg/ml, le diclofénac inhibe à environ $40.92 \pm 0.009\%$, contre $31.60 \pm 0.04\%$ pour l'extrait.

Les résultats de notre étude démontrent que l'EMEG possède une activité anti-inflammatoire, bien que légèrement inférieure à celle du diclofénac.

Notre étude est en accord avec celle menée par **Dathan et al. (2024)**, qui a montré que la propriété anti-inflammatoire de l'extrait de peau de grenade, évaluée par les tests de dénaturation de la BSA et de l'albumine d'œuf, était comparable à celle du traitement standard à des concentrations plus élevées.

L'étude d'**Akram et Khurshid (2015)** a rapporté des pourcentages d'inhibition plus élevés, allant jusqu'à 78,08 % dans l'essai de dénaturation de l'albumine d'œuf et 80,82 % dans l'essai de l'albumine sérique bovine, à des concentrations de 40 et 50 μ l. Malgré des pourcentages d'inhibition légèrement inférieurs à ceux rapportés dans cette étude, nos résultats confirment l'activité anti-inflammatoire notable de l'EMEG.

Des études *in vivo* menées par **Baiju et ses collaborateurs (2015)** ont montré que l'extrait méthanolique inhibait de manière significative la formation d'œdèmes, de façon dépendante de la dose.

Les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait de peau de grenade, attribuées à sa richesse en composés phénoliques, ont été identifiées comme des modulateurs clés des voies de signalisation inflammatoires (**Muthusamy et Rajan, 2017**). Selon **Lee et al. (2008)** et **Romier et al. (2008)**, les constituants bioactifs de l'écorce de grenade réduisent de manière significative la production d'oxyde nitrique (NO) et de prostaglandine E2 (PGE2), notamment par l'inhibition de l'expression des protéines pro-inflammatoires.

Des études antérieures sur l'activité anti-inflammatoire des extraits d'écorce de *P. granatum* appliqués localement sur la peau *ex vivo* ont révélé un effet significatif sur l'expression de la COX-2. Ces résultats suggèrent que l'extrait de peau de grenade, et en particulier la punicalagine, est capable de pénétrer dans la peau et de moduler l'expression de la COX-2 dans l'épiderme viable (**Houston et al., 2017**).

Par ailleurs, l'extrait de fruit de grenade riche en polyphénols, ainsi que les composés dérivés, pourraient être utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires, probablement en inhibant l'activation des basophiles et des mastocytes (**Zafar et al., 2009**).

Le poids des preuves scientifiques convaincantes concernant les bienfaits thérapeutiques de la grenade et de ses fractions a permis d'établir un consensus scientifique selon lequel l'extrait

méthanolique de l'écorce de grenade possède la capacité d'inhiber l'inflammation et les réactions allergiques (Panichayupakaranant *et al.*,2010b).

2.6. Activité anti-hémolytique

L'activité anti-hémolytique a été évaluée pour EMEG, et comparée à une substance de référence, la quercétine, afin de déterminer leur capacité à protéger les érythrocytes humains contre la lyse cellulaire induite par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les résultats d'inhibition de l'hémolyse sont présentés dans la (Figure 14)

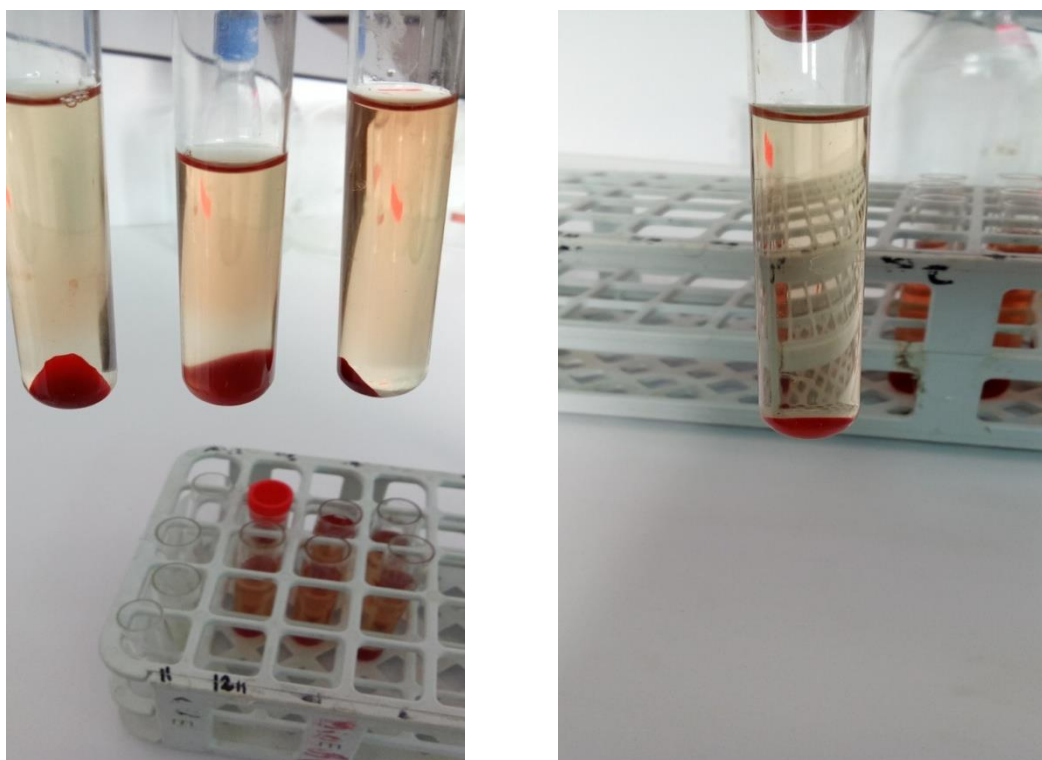


Figure 14 : Résultats de l'activité anti-hémolytique de l'EMEG

Les résultats obtenus révèlent que l'EMEG possède une activité anti-hémolytique notable, avec une efficacité dépendante de la dose. À la concentration la plus élevée (1 mg/mL), l'extrait étudié présente un pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de $65,89 \pm 0,52\%$ comparable à celui de la quercétine ($67,92 \pm 0,97\%$), utilisée comme substance de référence. Cela suggère une capacité significative à stabiliser la membrane des érythrocytes et à limiter les effets délétères du stress oxydatif induit par le H_2O_2 . Cependant, à des concentrations plus faibles (0,5 et 0,25 mg/ml), une diminution progressive de l'activité est observée ($55,50 \pm 0,33\%$, $49,75 \pm 0,41\%$ respectivement), bien que l'EMEG conserve une certaine efficacité

Résultats et discussion

protectrice, légèrement inférieure à celle du standard, et proportionnelle à la concentration (Figure 15).

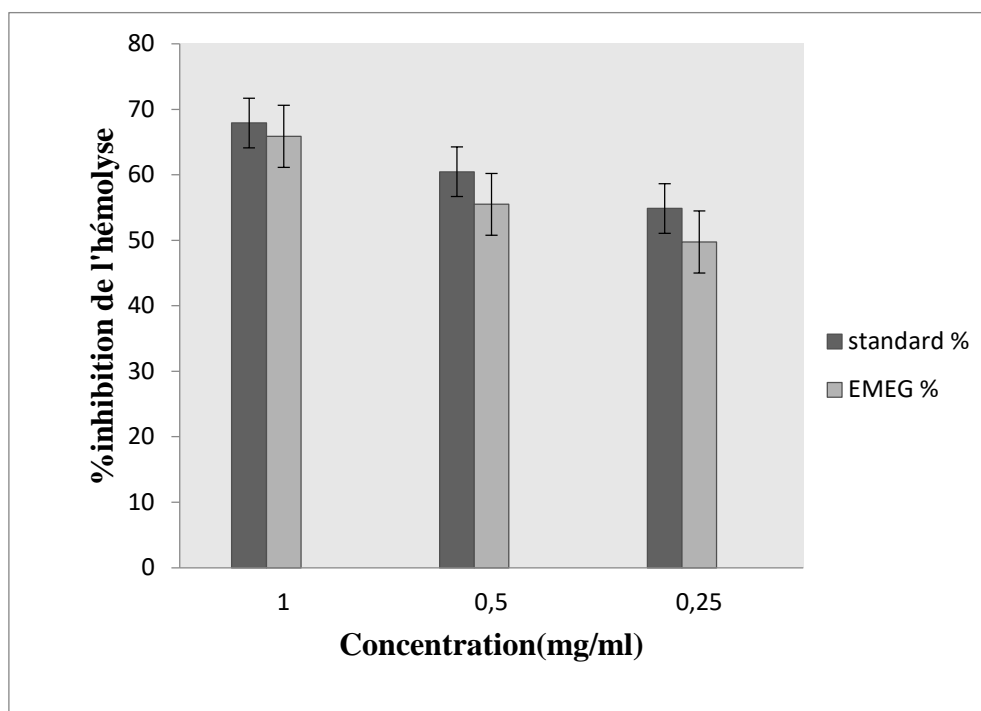


Figure 15 : Pourcentage de l'inhibition de l'hémolyse de l'EMEG et le standard

Ces observations sont en cohérence avec l'étude de **Sumathy et al. (2013)**, qui ont démontré que l'extrait flavonoïque de la peau du fruit de grenade inhibe les dommages membranaires induits par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dans les érythrocytes humains. Eux aussi ont constaté une augmentation de l'effet anti-hémolytique avec la concentration, ce qui montre un effet dose-dépendant protecteur des polyphénols contre le stress oxydatif. Par ailleurs, les résultats de **Yassin et al. (2021)** confirmer l'innocuité des extraits de peau de grenade vis-à-vis des érythrocytes humains. Leur étude a montré l'absence d'effet hémolytique à des concentrations allant jusqu'à 10 mg/ml, bien que l'extrait méthanolique ait présenté une activité hémolytique légèrement supérieure à celles des extraits aqueux. D'autres études menées par **Elkoraichi et al. (2023)** ont également démontré la capacité de l'extrait de peau de grenade à protéger les globules rouges contre l'hémolyse. Selon des études antérieures, la capacité protectrice de l'EMEG sur la membrane érythrocytaire serait attribuée à sa richesse en composés polyphénoliques. L'extrait de peau de *P.granatum* a montré un bon potentiel et pourrait être exploité comme remède antioxydant et anti-hémolytique naturel (**Elkoraichi et al., (2023)**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales, dont la grenade (*Punica granatum L.*), jouent un rôle crucial dans le traitement de nombreuses maladies grâce à leurs composés bioactifs. L'écorce de grenade, en particulier, présente des propriétés thérapeutiques remarquables.

Ce travail de recherche a permis de mettre en évidence la richesse phytothérapeutique de l'écorce de grenade (*Punica granatum L.*), en particulier son potentiel antioxydant, anti-inflammatoire et anti-hémolytique. À travers une approche expérimentale rigoureuse, l'extrait méthanolique obtenu a montré un rendement d'extraction satisfaisant, reflétant une forte concentration en composés bioactifs. L'analyse phytochimique a révélé une richesse significative en composés phénoliques et flavonoïdiques, connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Les résultats des différents tests biochimiques confirment l'activité antioxydante notable de l'extrait, démontrée par sa capacité à piéger les radicaux libres, à réduire le fer ferrique, à chélater le fer ferreux et à présenter une capacité antioxydante totale élevée.

Par ailleurs, l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait a révélé une inhibition importante de la dénaturation des protéines, bien qu'inférieure au diclofénac, mais suffisante pour envisager une utilisation alternative ou complémentaire. L'activité anti-hémolytique observée suggère également une action protectrice sur les membranes cellulaires, renforçant ainsi son intérêt en tant qu'agent thérapeutique naturel.

Ainsi, les résultats obtenus soulignent le fort potentiel thérapeutique des écorces de grenade, souvent considérées comme des déchets, en tant que ressource médicinale valorisable dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Conclusion

Les résultats encourageants de cette étude ouvrent la voie à plusieurs perspectives de recherche :

- ✓ Études *in vivo* : Il serait pertinent de valider les effets observés *in vitro* par des essais *in vivo* sur des modèles animaux, puis humains, pour évaluer la toxicité et l'efficacité thérapeutique de l'extrait dans un contexte biologique plus complexe.

- ✓ Identification des composés actifs : Une analyse chromatographique plus poussée (HPLC) permettrait d'identifier précisément les molécules responsables des activités biologiques observées.

- ✓ Formulation de produits : L'extrait pourrait être intégré dans des formulations pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, comme additif fonctionnel ou ingrédient actif.

- ✓ Valorisation industrielle : À grande échelle, cette valorisation des écorces contribuerait à une économie circulaire, en transformant un déchet agroalimentaire en un produit à haute valeur ajoutée.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

- **Abbas M.W., Hussain M., Qamar M., Ali S., Shafiq Z., Wilairatana P., & Mubarak M.S. (2021).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Peganum harmala* Extracts: An *In Vitro* and *In Vivo* Study. *Molecules*, 8, 26(19)
- **Abdu, O. H., Saeed, A. A. M., & Fdhel, T. A. (2020).** Polyphenols/flavonoids analysis and antimicrobial activity in pomegranate peel extracts. *Electronic Journal of University of Aden for Basic and Applied Sciences*, 1(1), Article 4.
- **Afaq, F., Zaid, M. A., Khan, N., Dreher, M., & Mukhtar, H. (2009).** Protective effect of pomegranate-derived products on UVB-mediated damage in human reconstituted skin. *Experimental Dermatology*, 18(6), 553-561.
- **Ahmed, A. U. (2011).** An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274–281.
- **Akram, Z., & Khurshid, Z. (2015).** Therapeutic and medicinal potential of pomegranate in oral health. *Journal of Clinical Dentistry*, 22(1), 4–9.
- **Albrecht, M., Jiang, W., Kumi-Diaka, J., Lansky, E. P., Gommersall, L. M., Patel, A., et al. (2004).** Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *Journal of Medicinal Food*, 7(3), 274–283. .
- **Alexandre, E. M. C., Silva, S., Santos, S. A. O., Pinto, P. C. R., Coelho, E., Rodrigues, A. E., & Duarte, C. M. M. (2019).** Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food Research International*, 115, 167–176.
- **Al-Gubory, K. H., Laher, I., & Garrel, C. (2021).** Pomegranate peel attenuates dextran sulfate sodium-induced lipid peroxidation in rat small intestine by enhancing the glutathione/glutathione disulfide redox potential. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4278–4287. .
- **Ali, M. F., Jamil, M. A., Adnan, M., Saeed, M.S., Rehman, F. U., & Ilahi, H. (2021).** Bio-Medical Importance of Agronomic Weeds: An Overview, *Int.J. Phar. & Biomed. Res.* 8(1), 1-8.
- **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, 785–788.
- **Arun, K. B., Jayamurthy, P., Anusha, C. V., Mahesh, S. K., & Nisha, P. (2017).**

Studies on activity guided fractionation of pomegranate peel extracts and its effect on antidiabetic and cardiovascular protection properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1–12.

-B-

- **Bachir, B., Kaouter, B., Abdelkader, B., & Bendehiba, M. (2025).** In vitro antioxidant and phytochemical evaluation of methanolic extracts from *Punica granatum* peels in Northwestern Algeria. *Acta Biologica Slovenica*, 68(2).
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086
- **Baiju, E. C., Jeslin, T., & Padikkala, J. (2015).** Free radical scavenging and anti-inflammatory activities of *Punica granatum* Linn. fruit rind. *Research & Reviews: Journal of Biology*, 3(4), 12–15.
- **Bailey-Shaw, Y. A., Williams, L. A. D., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017).** Stabilization of heat-treated BSA by NSAIDs as an in vitro model for anti-inflammatory drug screening. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145–153. Article No. 27.
- **Barnes, P. J. (2009).** Targeting the epigenome in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 6(8), 693–696.
- **Bassiri-Jahromi, S. (2018).** *Punica granatum* (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. *Oncology Reviews*, 12, 345.
- **Benchagra, L., Berrougui, H., Islam, M. O., Ramchoun, M., Boulbaroud, S., Hajjaji, A., ... Khalil, A. (2021).** Antioxidant effect of Moroccan pomegranate (*Punica granatum* L. sefri variety) extracts rich in punicalagin against the oxidative stress process. *Foods*, 10(9), 2219.
- **Benguiar, R. (2020).** *Effet préventif de l'écorce de grenade vis-à-vis du cancer du côlon chimio-induit* [Thèse de doctorat, Université de Mostaganem]. Université de Mostaganem.
- **Benslimane, S., Rebai, O., Djibaoui, R., & Arabi, A. (2020).** Pomegranate peel extract activities as antioxidant and antibiofilm against bacteria isolated from caries and supragingival plaque. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(3), 403–412.
- **Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
- **Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1998).** Antioxidant activity and phenolic composition of *Citrus* peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(6), 2123–2129.

- **Chen, J., Liao, C., Ouyang, X., Kahramanoğlu, I., Gan, Y., & Li, M. (2020).** Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–8.
- **Chiu, D., Lubin, B., & Shohet, S. B. (1982).** Peroxidative reactions in red cells biology. In W. A. Pryor (Ed.), *Free radicals in biology* (Vol. 5, pp. 115–160). Academic Press.
- **Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., & Chou, S.-T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2454–2458.
- **Costantini, E., D’Angelo, C., & Reale, M. (2018).** The role of immunosenescence in neurodegenerative diseases. *Mediators of Inflammation*, 2018, 6039171.
- **Cuendet, M., Hostettmann, K., Dyatmiko, W., & Potterat, O. (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagvaea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80(4), 1144–1152.

- **Dathan, P. C., Nallaswamy, D., Rajeshkumar, S., Joseph, S., Ismail, S., & Rashid, N. (2024).** Evaluation of anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract: An in-vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 18(6), ZC01–ZC08.
- **Dhumal, S. S., Karale, A. R., Jadhav, S. B., & Kad, V. P. (2014).** Recent advances and the developments in the pomegranate processing and utilization: A review. *Journal of Agriculture and Crop Science*, 1(September), 1–17.
- **Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. J. (2003).** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255–262.
- **Dos Santos, R. L., Dellacqua, L. O., Delgado, N. T., Rouver, W. N., Podratz, P. L., Lima, L. C., et al. (2016).** Pomegranate peel extract attenuates oxidative stress by decreasing coronary angiotensin-converting enzyme (ACE) activity in hypertensive female rats. *J. Toxicol. Environ. Health A* 79, 998–1007. doi: 10.1080/15287394.2016.1213690
- **Douaouri, N. E. H. (2017).** Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum* L.) – Étude in vivo [Thèse de doctorat, Université de Mostaganem].
- **Douaouri, N. E. H., & Djebli, N. (2018).** In vivo anti-inflammatory activity and chemical

composition of Algerian pomegranate (*Punica granatum L.*). *International Journal of Biosciences*, 12(2), 76–90.

- **Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M., & Wang, B. G. (2006).** Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, 95(1), 37–43.

-E-

- **El Kar, C., Ferchichi, A., Attia, F., & Bouajila, J. (2011).** Pomegranate (*Punica granatum*) juices: Chemical composition, micronutrient cations, and antioxidant capacity. *Journal of Food Science*, 76(6), C795–C800.

- **El-Beltagi, H. S., Eshak, N. S., Mohamed, H. I., Bendary, E. S. A., & Danial, A. W. (2022).** Physical characteristics, mineral content, and antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* or *Citrus sinensis* peel extracts and their applications to improve cake quality. *Plants*, 11(13), 1740.

- **Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., & Ferchichi, A. (2012).** Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(32), 4724–4730.

- **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(1), e12803.

- **Elkoraichi, I., Latif, M., El Faqer, O., Elaje, R., Thoume, A., Mtairag, E. M., Rais, S., & Daoudi, F. (2023).** *In vivo* and *in vitro* evaluation of antioxidant, anti-hemolytic, acute toxicity effects and high-performance liquid chromatography analysis of an aqueous extract of Moroccan *Punica granatum L.* *Journal of Herbmед Pharmacology*, 12(1), 168–175.

- **Elliott, G. (1999).** Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53, 46–48.

- **Espín, J. C., García-Conesa, M. T., & Tomás-Barberán, F. A. (2007).** Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*, 68, 2986–3008.

-F-

- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372–379.

- **Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2013).** Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. ‘Ruby’) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 150, 37–46.

- **Fawole, O. A., Makunga, N. P., & Opara, U. L. (2012).** Antibacterial, antioxidant and

tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 200.

- **Fawole, O. A., Opara, U. L., & Chen, L. (2015).** Bioaccessibility of total phenolic concentration and antioxidant capacity of pomegranate fruit juice and marc after in vitro digestion. *Acta Horticulturae*, 1079, 285–290.
- **Feng, Y., Lin, J., He, G., Liang, L., Liu, Q., Yan, J., & Yao, Q. (2022).** Compositions and biological activities of pomegranate peel polyphenols extracted by different solvents. *Molecules*, 27(15), 47–96.
- **Fetni, S., & Bertella, N. (2020).** Étude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L. (Rosacées). *Nutrition et Santé*, 9(2), 117–125.

-G-

- **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.
- **Gilbert, D. L. (2000).** Fifty years of radical ideas. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), 1.
- **Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. (2022).** Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918.
- **Gnanasaraswathi, M., Lakshmipraba, S., Jesudoss, R. R. P., Abhinayashree, M., Beevi, F. M., Lakshmi Priya, A. V., & Kamatchi, S. (2014).** Potent anti-oxidant behaviour of citrus fruit peels and their bactericidal activity against multi-drug resistant organism *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2, 139–144.
- **Gozlekçi, S., Saraçoğlu, O., Onursal, E., & Özgen, M. (2011).** Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. *Pharmacognosy Magazine*, 7(26), 161–164.
- **Gracious, R. R., Selvasuramanian, S., & Jayasundar, S. (2001).** Immunomodulatory activity of *Punica granatum* in rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 78(1), 85–87.
- **Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371–382.
- **Gulcin, I., Şat, I. G., Beydemir, S., Elmastas, M., & Küfrevioğlu, O. I. (2004).**

Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87, 393–400.

- **Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., & Xu, J., Jiang, Y. (2003).** Antioxidant activities of peel, pulp, and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719–1726.
- **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1–93.

-H-

- **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1990).** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1–85.
- **Hanafy, S. M., Abd El-Shafea, Y. M., Saleh, W. D., & Fathy, H. M. (2021).** Chemical profiling, *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of pomegranate, orange and banana peel extracts against pathogenic microorganisms. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, Article 80.
- **Hmid, I. (2013).** Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum* L.) : Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais [Thèse de doctorat, Université d'Angers]. Alimentation et Nutrition.
- **Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009).** Pomegranate: Botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, 35, 127–191.
- **Houston, D. M., Bugert, J., Denyer, S. P., & Heard, C. M. (2017).** Anti-inflammatory activity of *Punica granatum* L. (pomegranate) rind extracts applied topically to ex vivo skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 112, 30–37.
- **Huang, D. O., & Prior, B. R. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- **Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016).** Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 7432797.

-I-

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

-J-

- **Jaisinghani, R. N., & Patil, R. P. (2025).** Evaluation of phytochemicals and *in vitro* antibacterial and antioxidant activity of *Punica granatum* L. peel extracts. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 14(5), e11768.

- **Kaci-Meziane, Z., Boutekrabt, L., Laidoudi, D., Moussaoui, T., Melahi, N., Ait Ouarab, D., Djeghboub, M., & Meguetaoui, A. (2017).** Évaluation phytochimique, et potentiel antioxydant, antibactérien de trois cultivars de fruit de grenadier *Punica granatum L.* du Nord Est d'Algérie. *Revue Agrobiologia*, 7(2), 589–602.
- **Kandikattu, K., Bharath, R. K. P., Venu, P. R., Sunil, K. K., & Ranjith Singh, B. R. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729–730.
- **Karray, A., Krayem, N., Saad, H. B., & Sayari, A. (2021).** Spirulina platensis, Punica granatum peel, and moringa leaves extracts in cosmetic formulations: An integrated approach of in vitro biological activities and acceptability studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(7), 8802–8811.
- **Kennas, A., & Amellal-Chibane, H. (2019).** Comparison of five solvents in the extraction of phenolic antioxidants from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 3(5), 140–147. **Khan, A. J., & Hanee, S. (2011).** Antibacterial properties of *Punica granatum* peels. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(1), 23–27.
- **Kumari, A., Dora, J., Kumar, A., & Kumar, A. (2012).** Pomegranate (*Punica granatum*) – Overview. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 1(4), 1218. Retrieved from

- **Lairini, R., Bouslamti, F., Zerrouq, A., & Farah, A. (2014).** Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *Journal Master Environnement Sciences*, 5(S1), 2314–2318. ISSN : 2028-2508.
- **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.
- **Lansky, E., Shubert, S., & Neeman, I. (1997).** Pharmacological and therapeutic of pomegranate. *CIHEAM Options Méditerranéennes*, 5, 231-235.
- **Lee, S. I., Kim, B. S., Kim, K. S., Lee, S., Shin, K. S., & Lim, J. S. (2008).** Immune-suppressive activity of punicalagin via inhibition of NFAT activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371(4), 799–803.
- **Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., & Feng, C. (2008).** Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 41(3), 385–390.

- **Li, J. W., Fan, L. P., Ding, S. D., & Ding, X. L. (2007).** Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry*, *103*(2), 454–460.
- **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.
- **Longtin, R. (2003).** The pomegranate: Nature's power fruit? *Journal of the National Cancer Institute*, *95*(5), 346–348.

-M-

- **Majhenic, L., Kerget, M. S., & Knez, Ž. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, *104*(3), 1258–1268. **Malik, A., & Mukhtar, H. (2006).** Prostate cancer prevention through pomegranate fruit. *Cell Cycle*, *5*(4), 371–373.
- **Malik, A., Afaq, F., Sarfaraz, S., Adhami, V. M., Syed, D. N., & Mukhtar, H. (2005).** Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(41), 14813–14818.
- **Mandal, A., Bhatia, D., & Bishayee, A. (2017).** Anti-inflammatory mechanism involved in pomegranate-mediated prevention of breast cancer: The role of NF-κB and Nrf2 signaling pathways. *Nutrients*, *9*(5), 436.
- **Mandić-Kovačević, N., Kukrić, Z., Latinović, S., Cvjetković, T., Šobot, T., Bajić, Z., Maličević, U., Marinković, S., Đukanović, Đ., Uletilović, S., & Suručić, R. (2023).** Antioxidant *properties* of pomegranate peel extract. *Srpski medicinski časopis (Scr Med)*, *54*(1), 9–18.
- **Mastrogiovanni, F., Romani, A., Santi, L., Lacetera, N., & Bernini, R. (2021).** Antiproliferative effect of pomegranate peel extracts on bovine peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). *Natural Product Research*, *35*(10), 1696–1701.
- **Mekhoukh, N. (2024).** Propriétés antioxydante et biologique de *Putoria calabrica* [Thèse de doctorat, Université de Bejaia, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie].
- **Melgarejo, P. (Ed.), Martínez-Nicolás, J. J. (Ed.), & Martínez-Tomé, J. (Ed.). (2000).** *Production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: Advances in research and technology* (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; No. 42, pp. 55–62).
- **Melgarejo, P., & Salazar, D. M. S. (2003).** Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas (Vol. 2: Algarr., 416 p.).
- **Miguel, M. G., Neves, M. A., & Antunes, M. D. (2010).** Pomegranate (*Punica granatum*

L.): A medicinal plant with myriad biological properties – A short review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2836–2847.

- **Mirdehghan, S. H., & Rahemi, M. (2007).** Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111, 120–127.
- **Mo, Y., Ma, J., Gao, W., Zhang, L., Li, J., Li, J., & Zang, J. (2022).** Pomegranate peel as a source of bioactive compounds: A mini review on their physiological functions. *Frontiers in Nutrition*, 9, 887113.
- **Moghaddam, G., Sharifzadeh, M., Hassanzadeh, G., Khanavi, M., & Hajimahmoodi, M. (2013).** Anti-ulcerogenic activity of the pomegranate peel (*Punica granatum*) methanol extract. *Food and Nutrition Sciences*, 4(10), 43.
- **Moghaddasi, M. S., & Haddad Kashani, H. (2012).** Composition chimique de la plante *Punica granatum L.* (Grenadier) et ses effets sur le cœur et le cancer. *Journal de Recherche des Plantes Médicinales*, 6(40), 5306–5308.
- **Mohammed, A. H. (2019).** Importance of medicinal plants. *Research Journal of Pharmacy and Health Sciences*, 5(2), 151. **Mohan, M., Waghulde, H., & Kasture, S. (2010).** Effect of pomegranate juice on angiotensin II-induced hypertension in diabetic Wistar rats. *Phytotherapy Research*, 24(Suppl 2), S196–S203.
- **Moualkia, H., & Gourmati, M. (2014).** Détermination de substances naturelles à potentialités antioxydante et anti-inflammatoire de plantes *Punica granatum L.* et *Lawsonia inermis*.
- **Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Lema, J. M. (2001).** Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. *Food Research International*, 34(2–3), 103–109.
- **Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P., & Opara, U. L. (2016).** Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 143.
- **Muthusamy, S., & Rajan, S. (2017).** *Punica granatum* as an oral health agent: A review of its antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. *International Journal of Dentistry*, 2017, 1037645.
- **Muthusamy, S., & Rajan, S. (2017).** *Punica granatum* as an oral health agent: A review of its antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. *International Journal of Dentistry*, 2017, 1037645.

-N-

- **Nabavi, F.S., Nabavi, M.S., Hellio, C., Alinezh, H., Zare, M., Azimi, R., Baharfar, R.**

(2012). Antioxidant and antihemolytic activities of methanol extract of *Hyssopus angustifolius*. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85: 198-201

- **Negi, P. S., & Jayaprakasha, G. K. (2003).** Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. *Journal of Food Science*, 68(4), 1473–1477.
- **Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2003).** Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 80(3), 393–397.

-O-

- **Oguntibeju, O. O. (2018).** Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. *Journal of Inflammation Research*, 11, 307–317.
- **Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007).** Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, 103(3), 839–846.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

-P-

- **Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** *Flavonoids: an overview*. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- **Panichayupakaranant, P., Tewtrakul, S., & Yuenyongsawad, S. (2010).** Antibacterial, anti-inflammatory, and anti-allergic activities of standardized pomegranate rind extract. *Food Chemistry*, 123, 400–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.054>
- **Petrovska, B. B. (2011).** Historical review of medicinal plants' usage. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 1-5.
- **Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- **Pinelo, M., Manzocco, L., Núñez, M. J., & Nicoli, M. C. (2004).** Interaction among phenols in food fortification: Negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1177–1180.
- **Planchon, G., & Collin, E. (1875).** *Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale* (Tome I, pp. 235–236, 307–308). Librairie F. Savy.
- **Prieto P, Pineda M, & Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*. 269(2): 337-341.

-Q-

- **Qnais, E. Y., Elokda, A. S., Abu Ghalyun, Y. Y., & Abdulla, F. A. (2007).** Activité

antidiarrhéique de l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* (grenadier). *Biologie Pharmaceutique*, 45(9), 715–720. ISSN 1996-0875.

-R-

- **Rahimi, H. R., Arastoo, M., & Ostad, S. N. (2012).** A comprehensive review of *Punica granatum* (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology researches. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2), 385–400.
- **Rahman, K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219–236.
- **Rahmani, A. H., Alsahli, M. A., & Almatroodi, S. A. (2017).** Active constituents of pomegranates (*Punica granatum*) as potential candidates in the management of health through modulation of biological activities. *Pharmacognosy Journal*, 9(5).
- **Rakotoarivelo, N. H., Rakotoarivony, F., Ramarosandratana, A. V., Jeannoda, V. H., Kuhlman, A. R., Randrianasolo, A., & Bussmann, R. W. (2015).** Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11(1), 68.
- **Razani, Z., Dastani, M., & Kazerani, H. R. (2017).** Cardioprotective effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice in patients with ischemic heart disease. *Phytotherapy Research*, 31(11), 1731–1738.
- **Rehman, F. U., Kalsoom, M., Nasir, T. A., Adnan, M., Anwar, S., & Zahra, A. (2020).** Chemistry of Plant–Microbe Interactions in Rhizosphere and Rhizoplane. *Ind. J. Pure App. Biosci.* 8(5), 11-19.
- **Rehman, F. ur, Kalsoom, M., Adnan, M., Fazeli-Nasab, B., Naz, N., Ilahi, H., Ali, M. F., Ilyas, M. A., Yousaf, G., Toor, M. D., & Ali, Z. (2021).** Importance of medicinal plants in human and plant pathology: A review. *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research*, 8(2), 1–11.
- **Robards, K. (2003).** Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1000(1–2), 657–691.
- **Romier, B., Van De Walle, J., During, A., Larondelle, Y., & Schneider, Y. J. (2008).** Modulation of signalling nuclear factor-kappaB activation pathway by polyphenols in human intestinal Caco-2 cells. *The British Journal of Nutrition*, 100(3), 542–551.
- **Roudsari, M. H. (2007).** *Subcritical water extraction of antioxidant compounds from canola meal* (Master's thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada).
- **Rouhi, S. Z., Sarker, M. M., Rahmat, A., Alkahtani, S. A., & Othman, F. (2017).** The effect of pomegranate fresh juice versus pomegranate seed powder on metabolic indices, lipid profile, inflammatory biomarkers, and the histopathology of pancreatic islets of Langerhans in

streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetic Sprague–Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 156.

-S-

- **Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H., & Mirakzahi, M. T. (2017).** Effects of dietary α -tocopherol acetate, pomegranate peel, and pomegranate peel extract on phenolic content, fatty acid composition, and meat quality of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 629–636.
- **Seeram, N. P., Schulman, R. N., & Heber, D. (2006).** *Pomegranates: Ancient roots to modern medicine*. Taylor & Francis.
- **Sehari, N. H., Siouda, W., Sehari, M., Merinas, L., & Netah, N. (2022).** Phytochemical profile, FTIR studies, antioxidant and antifungal activity of extracts of pomegranate peel (*Punica granatum* L.). *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(12), 8–16. https://doi.org/10.15421/2022_414
- **Sepulveda, E., Saenz, C., Pena, A., Robert, P., Bartolome, B., & Gomez-Cordoves, C. (2010).** Influence of the genotype on the anthocyanin composition, antioxidant capacity and color of Chilean pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70(1), 50–57.
- **Shabir, G., Anwar, F., Sultana, B., Khalid, Z. M., Afzal, M., Khan, Q. M., & Ashrafuzzaman, M. (2011).** Antioxidant and antimicrobial attributes and phenolics of different solvent extracts from leaves, flowers and bark of gold mohar [*Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf.]. *Molecules*, 16, 7302–7319.
- **Shiban, M. S., Al-Otaibi, M. M., & Al-Zoreky, N. S. (2012).** Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*, 3(7), 991–996.
- **Shohet, S. B. (1972).** Hemolysis and changes in erythrocyte membrane lipids. *The New England Journal of Medicine*, 286(11), 577–583.
- **Shon, M. Y., Kim, T. H., & Sung, N. J. (2003).** Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*, 82(4), 593–597.
- **Siddiqui, S. A., Singh, S., & Nayik, G. A. (2024).** Bioactive compounds from pomegranate peels - Biological properties, structure–function relationships, health benefits and food applications – A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*, 116, 106132.
- **Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2018).** Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food Chemistry*, 261, 75–86.
- **Singh, P., Simon, O., & Donaldson, K. (2001).** Investigation of the anti-inflammatory

properties of leaves of *Artocarpus altilis* (breadfruit). *West Indian Medical Journal*, 50(5), 15–17.

- **Singh, R. P., Murthy, K. N. C., & Jayaprakasha, G. K. (2002).** Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81–86. <https://doi.org/10.1021/jf010865b>

- **Sridevi, G., Sembulingam, K., Muhammed, I., Srividya, S., & Prema, S. (2015).** Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of *Pergularia daemia*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(6), 1100–1108.

- **Sumathy, R., Sankaranarayanan, S., Bama, P., Ramachandran, J., Vijayalakshmi, M., & Deccaraman, M. (2013).** Antioxidant and antihemolytic activity of flavonoid extract from fruit peel of *Punica granatum*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(Suppl 2), 211–214.

-T-

- **Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015).** Évaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Materials and Environmental Sciences*, 6(4), 1111–1117.

- **TehraniFar, A., Selahvarzi, Y., Kharrazi, M., & Bakhsh, V. (2011).** High potential of agroindustrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products*, 34, 1523–1527.

- **TehraniFar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B., & Vazifeshenas, M. R. (2010).** Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 126, 180–185.

-V-

- **Vučić, V., Grabež, M., Trchounian, A., & Arsić, A. (2019).** Composition and potential health benefits of pomegranate: A review. *Current Pharmaceutical Design*, 25, 1817–1827.

-W-

- **Wafa, B. A., Makni, M., Ammar, S., Safta, H. B., Limem, I., Jaballah, S., ... & Bouaziz, M. (2017).** Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 123–131.

- **Wald, E. (2009).** Le grenadier (*Punica granatum*) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. *Sciences pharmaceutiques*.

- **Waldvogel Abramowski, S. (2021).** Hemolysis: Mechanism and clinico-biological

consequences. *Transfusion Clinique et Biologique*.

- **Wang, T., Jónsdóttir, R., & Ólafsdóttir, G. (2009).** Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry*, 116(1), 240–248.
- **Wang, Z., Pan, Z., Ma, H., & Atungulu, G. G. (2011).** Extract of phenolics from pomegranate peels. *The Open Food Science Journal*, 5, 17–25.
- **Williams, L. A. D., Connar, A. O., Latore, L., Denis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., & Kraus, W. (2008).** The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and nonsteroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*, 57(4), 327–331.
- **Williams, L., Vasquez, E., Milan, P., Zebitz, C., & Kraus, W. (2002).** In vitro anti-inflammatory and anti-microbial activities of phenylpropanoids from *Piper betle* (Piperaceae). In A. P. Rauter, P. B. Palma, J. Justino, M. E. Araújo, & S. P. Santos (Eds.), *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe: Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application* (Vol. 74, pp. 221–27). Kluwer Academic Publishers.
- **Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97(4), 705–711.

-Y-

- **Yassin, M. T., Mostafa, A. A.-F., & Al Askar, A. A. (2021).** In vitro evaluation of biological activities and phytochemical analysis of different solvent extracts of *Punica granatum* L. (pomegranate) peels. *Plants*, 10(12), 2742.
- **Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016).** The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21(5), 559.

-Z-

- **Zafar, R., Nahid, A., Arivarasu, N. A., Sangeetha, R., Meenakshi, S., & Tariq, M. H. (2009).** Polyphenol-rich pomegranate fruit extract (POMx) suppresses PMACI-induced expression of pro-inflammatory cytokines by inhibiting the activation of MAP kinases and NF- κ B in human KU812 cells. *Journal of Inflammation*, 6(1), 1.
- **Zeghad, N., Ahmed, E., Khan, M. Z., & Belkhiri, A. (2023).** Exploring the potential use of pomegranate (*Punica granatum* L.) and prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) peels as sources of cosmaceutical sunscreen agent for their antioxidant and photoprotective properties. *Pharmaceutical Sciences Asia*, 50(4), 273–280. <https://doi.org/10.29090/psa.2023.04.23.116>

- **Zhang L, Fu Q, Zhang Y (2011).**Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. *Food Chem* 127:1444–1449.
- **Zhang, Y., Kruger, D., Durst, R., Lee, R., Wang, D., Seeram, N., & Heber, D. (2009).** International multidimensional authenticity specification (IMAS) algorithm for detection of commercial pomegranate juice adulteration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2550–2557.
- **Zhao, S., Zhao, X., Su, H., Liu, X., Suo, X. (2010).** Development of MTT assay for the detection of peripheral blood T cell proliferation of swine. *China animal husbandry & veterinary medicine*, 37(12): 35-38.
- **Zhao, X., Yuan, Z., Fang, Y., Yin, Y., & Feng, L. (2014).** Flavonols and flavones changes in pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peel during fruit development. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16(7), 1649–1659.
- **Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999).** *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.* **Food Chemistry**, 64(4), 555–559.
- **Zhuang, H., Du, J., & Wang, Y. (2011).** Antioxidant capacity changes of three Chinese pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivar juices and corresponding wines. *Journal of Food Science*, 76(7), C606–C611.

Résumé

L'écorce de *Punica granatum* L., qui constitue la couche externe rigide du fruit de la grenade, est reconnue pour ses nombreuses propriétés biologiques. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle, notamment dans le traitement des troubles digestifs tels que les diarrhées et les ulcères. Riche en composés phénoliques et flavonoïdiques, l'écorce a été choisie comme matériel végétal pour cette étude. L'extrait méthanolique, obtenu par macération, a présenté un rendement de 40,61 %. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été respectivement de $683,5 \pm 41,8 \mu\text{g EAG/mg}$ et $100,73 \pm 43,8 \mu\text{g EQ/mg}$, ce qui indique une forte concentration en composés bioactifs. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide de plusieurs tests : DPPH ($\text{IC}_{50} = 0,10 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$), FRAP ($\text{IC}_{50} = 0,49 \pm 0,02 \text{ mg/mL}$), TAC ($439,31 \pm 42,47 \mu\text{g EAA/mg}$) et capacité chélatrice du fer ($\text{EC}_{50} = 0,95 \pm 0,026 \text{ mg/mL}$), confirmant son pouvoir réducteur et sa capacité à neutraliser les radicaux libres. Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire a été examinée par le test de dénaturation de l'albumine bovine, révélant une inhibition dose-dépendante, avec un pourcentage maximal d'inhibition de 55,10 % à la concentration de 0,3 mg/ml.

Enfin, l'activité anti-hémolytique a montré une inhibition significative de l'hémolyse induite par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), atteignant un taux maximal de 65,89 % à 1 mg/mL. L'ensemble de ces résultats met en évidence le potentiel thérapeutique de l'écorce de "*Punica granatum* L." en tant que source naturelle d'agents antioxydants, anti-inflammatoires et anti-hémolytiques.

Mots clés : écorce de grenade, polyphénols, flavonoïdes, antioxydant, anti-inflammatoire, anti hémolytique.

Abstract

The peel of *Punica granatum* L., which is the hard outer layer of the pomegranate fruit, is a well-known source of multiple biological properties. It is widely used in traditional medicine, especially in the treatment of digestive disorders such as diarrhoea and ulcers. Thanks to its richness in phenolic and flavonoid compounds, this bark was chosen as a plant material in this study. The methanolic extract, obtained by soaking, showed a yield of 40.61%. The total phenolic compounds and flavonoids content reached 41.8 ± 683.5 microgrammes gallic acid equivalent/mg and 43.8 ± 100.73 microgrammes quercetin equivalent/mg, respectively, indicating a high concentration of bioactive compounds. The antioxidant activity of the extract was evaluated using several tests: DPPH ($\text{IC}_{50} = 0.10 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$), FRAP ($\text{IC}_{50} = 0.49 \pm 0.02 \text{ mg/ml}$), TAC (439.31 ± 42.47 microgrammes ascorbic acid equivalent/mg), and iron chelation capacity ($\text{EC}_{50} = 0.95 \pm 0.026 \text{ mg/ml}$), confirming its reducing ability and effectiveness in neutralising free radicals. Additionally, the anti-inflammatory activity was evaluated using the bovine serum albumin denaturation test, which showed a dose-dependent inhibition, with a maximum inhibition rate of 55.10% at a concentration of 0.3 mg/ml. Finally, the anti-hemolytic activity showed a significant inhibition of haemolysis caused by hydrogen peroxide (H_2O_2), with a maximum inhibition of 65.89% at a concentration of 1mg/ml. These results collectively highlight the therapeutic potential of *Punica granatum* L. peel. As a natural source of antioxidant, anti-inflammatory, and anti-hemolytic agents.

Keywords: Pomegranate peel, polyphenols, flavonoids, antioxidant, anti-inflammatory, anti-hemolytic.

ملخص

تشكل قشرة *Punica granatum* L.، وهي الطبقة الخارجية الصلبة لثمرة الرمان، مصدرًا معروفًا بخصائصه البيولوجية المتعددة. وتستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي، خصوصًا في علاج الاضطرابات الهضمية مثل الإسهال والقرحات. وبفضل غناها بالمركبات الفينولية والفلافونويدية، تم اختيار هذه القشرة كمادة نباتية في هذه الدراسة. أظهر المستخلص الميثانولي، الذي تم الحصول عليه عن طريق النقع، مردودًا بلغ 40.61%. وقد بلغت نسبة المركبات الفينولية الكلية والفلافونويدات 683.5 ± 41.8 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ و 100.73 ± 43.8 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ على التوالي، مما يدل على تركيز عالٍ من المركبات النشطة بيولوجيًا.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص باستخدام عدة اختبارات: DPPH ($\text{IC}_{50} = 0.10 \pm 0.01 \text{ ملغ/مل}$)، FRAP ($\text{IC}_{50} = 0.49 \pm 0.02 \text{ ملغ/مل}$)، TAC (439.31 ± 42.47 ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك/ملغ) و قدرة تخليب الحديد ($\text{EC}_{50} = 0.95 \pm 0.026 \text{ ملغ/مل}$)، مما يؤكد قدرته الاختزالية وفعالته في تثبيت الجذور الحرة. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للتهاب باستخدام اختبار تغيير طبيعة ألبومين الأبقار، حيث أظهر تثبيطًا يعتمد على الجرعة، مع نسبة تثبيط قصوى بلغت 55.10% عند تركيز 0.3 ملغ/مل. وأخيرًا، أظهر النشاط المضاد لانحلال الدم تثبيطًا ملحوظًا لانحلال الكريات الحمراء الناتج عن بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، حيث بلغ الحد الأقصى للتثبيط 65.89% عند تركيز 1 ملغ/مل. تُبرز هذه النتائج مجتمعة الإمكانيات العلاجية لقشرة *Punica granatum* L. كمصدر طبيعي للعوامل المضادة للأكسدة، والمضادة للتهاب، والمضادة لانحلال الدم.

الكلمات المفتاحية: قشرة الرمان، البوليفينولات، الفلافونويدات، مضاد أكسدة، مضاد التهاب، مضاد لانحلال الدم.