



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

LE GRENADIER
(*PUNICA GRANATUM*) :
Plante historique et évolutions
thérapeutiques récentes.

Présentée et soutenue publiquement

Le 02 juillet 2009

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Elodie WALD**
née le 23 avril 1982 à Epinal (88)

Membres du Jury

Président :	M. Max HENRY,	Professeur de Botanique et Mycologie
Juges :	M. François MORTIER, M. Jean-Claude SONNTAG,	Professeur de Pharmacognosie Docteur en Pharmacie à Nancy

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Directeur des Etudes

Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Janine SCHWARTZBROD

Responsable de la Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Responsable de la Commission Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH :

(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Jean-Michel SIMON

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Roger BONALY

Thérèse GIRARD

Maurice HOFFMAN

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire

Madame BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Alain ASTIER (en disponibilité)	Pharmacie clinique
Jeffrey ATKINSON	Pharmacologie
Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU	Biochimie clinique
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie
Pierre LEROY.....	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT.....	Pharmacie galénique
Alain MARSURA.....	Chimie thérapeutique
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS.....	Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS.....	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN.....	Biochimie, Biologie moléculaire
Janine SCHWARTZBROD	Bactériologie, Parasitologie
Jean-Michel SIMON.....	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON.....	Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT.....	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS.....	Parasitologie
Mariette BEAUD.....	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT.....	Communication et Santé
Michel BOISBRUN.....	Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX.....	Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX.....	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Gérald CATAU.....	Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN.....	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT.....	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB.....	Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Bernard DANGIEN.....	Botanique, Mycologie
Dominique DECOLIN.....	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU.....	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique

François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL.....	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN.....	Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Stéphanie MARCHAND.....	Chimie physique
Faten MEHRI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Patrick MENU.....	Physiologie
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Dominique NOTTER.....	Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER.....	Sémiologie
-------------------------	------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD.....	Anglais
-------------------------	---------

ASSISTANT

Annie PAVIS.....	Bactériologie
------------------	---------------

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITÉ (SCD)

Anne-Pascale PARRET.....	Directeur
Frédérique FERON.....	Responsable de la section Pharmacie- Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX
OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES
OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Nous tenons à remercier particulièrement le président et les membres du jury.

Monsieur le professeur Max HENRY, professeur de botanique et de mycologie à la faculté de Pharmacie de Nancy.

Nous vous remercions d'avoir accepté de présider notre jury de thèse. C'est un honneur et nous vous exprimons notre plus grand respect.

Monsieur le professeur François MORTIER, ancien professeur de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy.

Nous vous remercions de nous avoir guidé avec bienveillance, amabilité et compétence dans l'élaboration de ce travail.

Veuillez considérer ce travail comme le témoignage de notre gratitude.

Monsieur Jean-Claude SONNTAG, docteur en pharmacie à Nancy.

C'est un honneur pour nous de vous compter parmi les membres de notre jury de thèse. Nous vous remercions de l'intérêt porté à notre travail.

Je remercie également :

Mes parents pour leur soutien, leur aide et leurs conseils.

Et enfin Eric, pour sa patience ...

Le grenadier

(*Punica granatum*) :

plante historique et évolutions

thérapeutiques récentes.

Introduction.....	9
I. La grenade, un fruit historique.....	10
A. La grenade dans la mythologie.....	10
B. La grenade dans les religions.....	12
1. Dans la religion chrétienne.....	12
2. Dans la religion musulmane.....	12
3. Dans la religion juive.....	12
4. Dans la religion hindouiste.....	13
C. La grenade dans l’histoire.....	13
D. La grenade dans l’art et la littérature.....	13
E. La grenade dans les symboles et les coutumes.....	14
II. Origine géographique et aire de répartition du grenadier.....	15
A. Origine géographique du grenadier.....	15
B. Aire de répartition géographique du grenadier.....	16
C. Production de la grenade.....	16
III. La culture du grenadier.....	20
A. Les exigences de milieu.....	20
1. Conditions climatiques.....	20
2. Le sol.....	20
3. L'eau.....	20
B. Soins cultureux.....	21
1. Entretien régulier.....	21
2. Engrais.....	21
C. Les maladies et parasites du grenadier.....	21
1. Les pucerons.....	21
2. <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	21
3. Les zeuzères.....	22
4. <i>Aspergillus castaneus</i>	22
D. La multiplication.....	22
1. Le semis.....	22
2. La bouture.....	22
3. Le marcottage.....	23
4. Le drageon.....	23
5. La greffe.....	23
E. La fructification et la récolte des fruits.....	24
1. La fructification.....	24
2. La récolte des fruits.....	24
3. La conservation des grenades.....	24
IV. Classification de <i>Punica granatum</i>	26
A. Notions de classification.....	26
B. Le genre <i>Punica</i>	27
V. Quelques variétés du grenadier commun.....	28
A. Les variétés à fruits.....	28
B. Les variétés ornementales.....	30
1. Variétés à fleurs simples.....	30
2. Variétés à fleurs doubles.....	30
3. Variétés naines.....	30
VI. Autres dénominations.....	32
A. Synonymes.....	32

B.	Les dénominations communes dans différentes langues.....	32
VII.	Botanique.	33
A.	Description générale du grenadier.....	33
B.	Les feuilles.	33
C.	Les fleurs.....	33
1.	Diagramme floral.	34
2.	Le calice.	34
3.	La corolle.....	34
4.	Le gynécée.....	34
5.	Les étamines.	35
D.	Les fruits.....	35
1.	La baie.	35
2.	Les graines.....	35
3.	L'écorce du fruit.....	36
E.	L'écorce de la racine.	36
F.	L'écorce de la tige.	37
G.	Illustrations des différents organes.....	37
VIII.	Falsifications.	42
A.	Falsification avec l'écorce de buis.	42
B.	Falsification avec l'écorce de mûrier.	42
C.	Falsification avec l'écorce d'épine-vinette.	42
D.	Falsification de l'écorce de la racine de grenadier par de l'écorce de tige.	43
IX.	Usages empiriques et traditionnels de la grenade.	44
A.	Usage médicinal du grenadier.....	44
B.	Usage culinaire du grenadier.....	48
1.	Mode de consommation de la grenade.	48
2.	Choisir et conserver une grenade fraîche.	49
3.	Intérêts nutritionnels de la grenade.	49
C.	Autres usages du grenadier.	52
1.	Les teintures naturelles.....	52
2.	Le tannage et la teinture des cuirs.	53
3.	L'encre.	53
X.	Composition chimique des différents organes du grenadier.	54
A.	L'écorce de la racine.	54
B.	L'écorce du tronc du grenadier.	57
C.	Les feuilles.	57
D.	Les fleurs.....	57
E.	La peau de la grenade ou <i>malicorium</i>	57
F.	Le jus de grenade.....	58
G.	Les graines.....	58
XI.	Toxicité du grenadier.	61
XII.	Propriétés thérapeutiques de <i>Punica granatum</i>	63
A.	Propriétés antioxydantes de la grenade.	63
1.	Propriétés antioxydantes des différents organes du grenadier.	63
2.	Propriétés antioxydantes des différentes parties de la grenade.	66
3.	Propriétés antioxydantes du jus de grenade comparé au jus d'autres fruits.....	69
4.	La grenade et les marqueurs de l'oxydation et de la peroxydation.	71
B.	Protection contre les maladies cardiovasculaires.	72
1.	L'athérosclérose et ses facteurs de risque.	72
a.	Définition de l'athérosclérose.	72

b.	Epidémiologie de l'athérosclérose.	72
c.	Facteurs de risque de l'athérosclérose.	73
2.	Physiopathologie de l'athérosclérose.	74
3.	La grenade et l'athérosclérose.	76
a.	Action sur les lipides sanguins.	76
*	HDL et LDL.	76
*	Le stress oxydant.	76
*	La paraoxonase.	77
b.	Action sur l'hypertension artérielle.	79
*	Le système rénine angiotensine.	79
*	Le monoxyde d'azote.	81
c.	Action sur le développement des plaques d'athérome.	82
*	Formation des cellules spumeuses.	82
*	Etude chez la souris.	82
*	Etude chez l'homme.	84
C.	Propriétés anti-inflammatoires du grenadier.	85
1.	Le processus inflammatoire.	85
a.	Définition et causes de l'inflammation.	85
b.	Les causes de l'inflammation.	85
2.	Intérêts du grenadier dans les processus inflammatoires.	87
a.	Rôle sur l'activation des NF- κ B.	87
b.	Activité sur les cyclo-oxygénases (COX).	89
D.	Intérêt du grenadier dans les cancers.	92
1.	Processus de la cancérisation.	92
2.	La grenade et son implication dans le cancer de la prostate.	94
a.	Incidence et mortalité du cancer de la prostate.	94
b.	Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer de la prostate.	95
*	Etudes <i>in vitro</i>	95
*	Etudes <i>in vivo</i>	98
c.	Intérêt de la grenade dans les récidives du cancer de la prostate.	99
3.	La grenade et son implication dans le cancer du sein.	100
a.	Incidence et mortalité du cancer du sein.	100
b.	Histologie et étiologie du cancer du sein.	100
c.	Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer du sein.	101
*	Etude sur une levure.	101
*	Etude sur des lignées cellulaires de cancer du sein.	103
*	Activité sur l'aromatase.	105
*	Etude sur des glandes mammaires de souris.	106
4.	La grenade et son implication dans le cancer de la peau.	107
a.	Incidence et mortalité du cancer de la peau.	107
b.	Histologie et étiologie du cancer de la peau.	107
c.	Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer de la peau.	108
5.	La grenade et son implication dans le cancer du poumon.	111
a.	Incidence et mortalité du cancer du poumon.	111
b.	Histologie et étiologie du cancer du poumon.	111
c.	Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer du poumon.	112
*	Etude <i>in vitro</i>	112
*	Etude <i>in vivo</i>	113
E.	Propriétés antidiabétiques du grenadier.	118

1.	Le diabète et ses facteurs de risque.	118
a.	Epidémiologie du diabète.	118
b.	Physiopathologie du diabète de type II.	119
c.	Le diabète et ses complications.	119
2.	La grenade et le diabète de type II.	120
a.	Activité inhibitrice des α -glucosidases intestinales.	120
b.	Activité agoniste des PPAR- γ	125
F.	Propriétés antimicrobiennes de la grenade.	126
1.	Activités antibactériennes.	126
a.	Spectre d'action de <i>Punica granatum</i>	126
b.	Action sur <i>S. aureus</i> méthicillino-sensible et méthicillino-résistant.	126
2.	Activités antivirales.	128
a.	Action sur le VIH-1.	128
b.	Action sur d'autres virus.	129
3.	Activités antifongiques.	130
a.	Action sur les infections bucco-dentaires.	130
b.	Autres propriétés antifongiques.	130
4.	Activités anthelminthiques et molluscicides.	132
G.	Utilisation du grenadier dans les produits cosmétiques.	134
1.	Intérêt de l'acide ellagique comme agent cosmétique « anti-pollution ».	135
2.	Intérêt du grenadier pour les cheveux colorés.	136
3.	Propriétés cicatrisantes de la grenade.	137
XIII.	Propriétés thérapeutiques historiques du grenadier et connaissances scientifiques actuelles.	138
	Conclusion.	140
	Bibliographie.	141
	Webographie.	147

Autrefois, les conteurs orientaux posaient des devinettes au cours
des soirées au clair de lune. Le conteur s'écriait :

« Je ne suis ni roi, ni reine, je porte la couronne, qui suis-je ? »

Et devant le silence perplexe de l'assistance, il tonitruait :

« C'est la grenade ! » [s]

Introduction.

Depuis des milliers d'années, le grenadier, *Punica granatum*, ses fruits ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs, sont utilisés, au Moyen-Orient et en Asie, régions dont cet arbuste est originaire, pour leurs propriétés médicinales.

D'abord disséminé par les nomades arabes, puis introduit en Chine au début du II^{ème} siècle avant JC, le grenadier est importé à Rome par les Romains de retour des guerres puniques, après leur victoire sur les Carthaginois. Plus tard, le grenadier sera introduit dans la péninsule ibérique, où le nom de son fruit, la grenade, sera donné à l'une des plus grandes villes d'Espagne.

Connu depuis plus de 4000 ans, le grenadier n'a cessé de fasciner toutes les civilisations par sa beauté et la succulence de son fruit, à la symbolique nombreuse. Le calice de la grenade, en forme de couronne, en fait un fruit majestueux.

Utilisé, de façon empirique, dans les médecines traditionnelles, pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires, le grenadier fait son apparition dans la pharmacopée française en 1818. Abandonné ensuite en raison de la toxicité de certains de ses principes actifs, le grenadier fait l'objet, depuis une dizaine d'années, d'un regain d'intérêt, tant sur un plan médical et pharmacologique que sur un plan cosmétologique. En effet, la grenade possède, par exemple, des propriétés antioxydantes supérieures à celles du vin rouge ou du thé vert.

Ainsi, après une brève présentation de l'historique, de la description botanique et de la composition chimique du grenadier et de ses différents organes, il sera ensuite rappelé les propriétés qui leurs étaient données dans la médecine traditionnelle. Enfin, il sera abordé, de façon détaillée et avec l'appui des nombreuses études réalisées sur le sujet, les nouvelles propriétés thérapeutiques que l'on attribue aujourd'hui à la grenade.

I. La grenade, un fruit historique.

A. La grenade dans la mythologie.

Le grand nombre de graines que la grenade contient, l'a fait adopter, dans la symbolique populaire et la mythologie, comme la représentante de la fécondité, de la génération et de la richesse. [26]

Symbole de fertilité en raison de l'abondance de ses graines et de sa forme ronde, elle était considérée comme le fruit des dieux en Egypte. [E]

Dans la mythologie grecque, Perséphone (aussi appelée Proserpine), fille de Zeus et de Déméter, est enlevée par Hadès, roi des Enfers et frère de Zeus. Après une longue période de jeûne, Perséphone mange sept graines d'une grenade du jardin des Enfers. Ayant goûté la nourriture des Morts, elle se condamne à devenir reine des Enfers, et à passer six mois de l'année en ces lieux et six mois sur Terre, reproduisant ainsi le cycle des saisons, l'alternance de l'été et de l'hiver. (Figure 1) [j]

Egalement, dans la mythologie grecque, la grenade, emblème d'amour et de fécondité, est un attribut d'Aphrodite, déesse de la beauté et de l'amour (Vénus chez les romains). Depuis le jour où elle naît de l'écume et sort de la mer, partout où elle met le pied surgissent de la terre fleurs, herbes, buissons... C'est lorsqu'elle pose le pied à Chypre que naît le grenadier. [20]

Selon certains, c'est une grenade et non une pomme que Pâris donne à Vénus (Aphrodite). Cette « pomme de la discorde », sur laquelle est écrit « à la plus belle » est revendiquée par trois déesses, dont Vénus. Un mortel, Pâris, simple berger, est alors pris pour juge. Il choisit Vénus en lui offrant le fruit, car celle-ci lui a promis en cadeau la plus belle des femmes, Hélène, épouse du roi de Sparte. L'enlèvement d'Hélène est à l'origine de la guerre de Troie. [g]

Selon le mythe d'origine orientale d'Agdistis, aussi appelé Cybèle, cette divinité est hermaphrodite. Privée de ses attributs masculins, Agdistis n'est plus que femme. De ses organes virils naît le grenadier. [8]

Selon Oppien, un homme ayant perdu sa première femme, devint amoureux de sa fille Side (mot qui signifie grenade). Pour échapper à la persécution, la jeune fille se tue. Les dieux ont pitié d'elle et la transforment en grenadier. Son père fut changé en épervier. Voilà pourquoi, d'après Oppien, l'épervier ne s'arrête jamais sur le grenadier, qu'il évite constamment. [26]

Dans un conte indien, les parents d'une princesse font garder son jardin de manière que personne ne puisse y entrer. Dans un même temps, ils font annoncer que celui qui

entrera au jardin et emportera trois grenades sur lesquelles la princesse et ses servantes dorment, celui-là épousera la princesse. [26]



Figure 1 : Perséphone mangeant la grenade d'après Rossetti. [j]

B. La grenade dans les religions.

1. Dans la religion chrétienne.

Dans la tradition chrétienne, le grenadier garde une forte signification symbolique : il associe l'annonce du sacrifice du Christ, figuré par le liquide doux et sanguin qui s'écoule du fruit quand on l'ouvre. [8]

Son jus rouge, couleur sang, évoque également le martyre des saints. [23]

Le grenadier a ainsi pris quelquefois une signification lugubre. Mais, le plus souvent, ce sang qui coule et les nombreuses graines de ce fruit, sont un heureux indice de fécondité et d'abondance. [26]

On prétend que le fruit donné par Eve à Adam, le « fruit défendu », n'est pas une pomme, mais une grenade, et qu'il faut presque toujours sous-entendre la grenade lorsqu'il est fait mention d'une pomme dans les mythes et dans les usages populaires qui se rapportent au mariage. [26]

Dans la Bible, la grenade est citée pas moins de trois fois dans le Cantique des Cantiques, chant d'amour entre une jeune femme noire, une Sulamithe, et un berger. [i]

2. Dans la religion musulmane.

On raconte que le prophète Mahomet a encouragé ses disciples à manger la grenade pour chasser l'envie et la haine. [f]

3. Dans la religion juive.

Elle représente la nostalgie de la terre promise pour les Hébreux en exil. [I]

Lors de la fête de Tou-bi-Shevat, « la fête des fruits », les membres de la famille prononcent des bénédictions sur les « sept espèces » dont Israël a été béni : les grenadiers, les figues, les raisins, les olives, le miel, le blé et l'orge. Et au moment de manger ces fruits, ils récitent des psaumes célébrant la magnificence de Dieu. [s]

Dans la Torah sont décrits les huit vêtements du Cohen Gadol, le « grand prêtre », qui doit les revêtir lors de son entrée dans des lieux sacrés. La confection d'un de ces vêtements est décrite comme suit dans la Bible du Semeur, Exode 28 : *«Tu feras la robe de l'éphod tout entière en pourpre violette. Il y aura au milieu une ouverture pour y passer la tête, cette ouverture sera garnie tout autour d'un ourlet tissé comme l'encolure d'un vêtement de cuir tressé, pour que la robe ne se déchire pas. Tu en garniras tout le bord inférieur de grenades faites de fils de pourpre violette, de*

pourpre écarlate et de rouge éclatant alternant avec des clochettes d'or: une clochette d'or et une grenade, et ainsi de suite sur tout le tour du bas de la robe.» [r]

4. Dans la religion hindouiste.

En Inde, la grenade est un attribut de Kubera, le dieu des richesses, et de Hariti, déesse protectrice des enfants, des accouchements sans complications et de l'harmonie générale de la famille. Ces dieux tiennent une grenade à la main comme symbole de fécondité. [s]

C. La grenade dans l'histoire.

Dans l'ancienne Egypte, la grenade est un symbole de fécondité et de richesse, un attribut de la royauté. Elle est considérée comme le fruit des dieux. [8]

Elle figure sur les bas-reliefs égyptiens, notamment sur ceux du temple de Karnak. [11]

Les anciens Egyptiens préparaient un vin de grenade, le « shehan », obtenu en faisant fermenter les graines de grenade. [s]

De plus, les Egyptiens enterraient ce fruit avec les morts et le représentaient sur les murs des tombaux. [s]

En Perse, la fleur du grenadier surmontait le sceptre royal. [8]

Dans le temple de Salomon, les fleurs du grenadier ornaient les piliers ainsi que les parements brodés des vêtements sacerdotaux. [8]

Le grenadier poussait dans les jardins suspendus de Babylone. [f]

D. La grenade dans l'art et la littérature.

Très appréciée des Romains, on retrouve fréquemment le grenadier et ses fruits dans les représentations picturales des jardins. [8]

Un petit objet d'ivoire, en forme de grenade, mesurant deux à trois centimètres, retrouvé lors de fouilles archéologiques, semblerait faire partie du mobilier liturgique utilisé par les prêtres du temple de Salomon. Il est conservé au musée du Caire depuis 1980. [c]

A Xanthos, en Turquie, le monument des Harpyies se trouve décoré de frises. Sur l'une d'elle se trouve représentée une jeune fille tendant une grenade. La frise se trouve depuis 1942 exposée au British Museum. Des moulages remplacent aujourd'hui les originaux sur le monument. [B]

D'après Dioscoride, médecin grec auteur de « *De Materia Medica* », si l'on mange trois fleurs de grenadier, même de petite taille, on ne souffrira pas des yeux de toute l'année. [20]

Hippocrate recommandait la grenade contre les leucorrhées, pour favoriser « l'écoulement rouge » chez les femmes, pour « faire concevoir », pour soigner un œil qui pleure et qui est douloureux, et pour beaucoup d'autres maux. [n]

Selon Shakespeare, c'est sous son feuillage que Roméo s'abrita pour chanter une sérénade à Juliette.

« *JULIETTE. - Veux-tu donc partir ? Le jour n'est pas proche encore : c'était le rossignol et non l'alouette dont la voix perçait ton oreille craintive. Toutes les nuits il chante sur le grenadier là-bas. Crois-moi, amour c'était le rossignol. »*

[SHAKESPEARE - Roméo et Juliette, Acte III, Scène 5]

E. La grenade dans les symboles et les coutumes.

Dans certains pays, comme en Turquie, la jeune mariée jette une grenade à terre. Elle aura autant d'enfants que l'on verra de graines sortir du fruit frappé au sol. [26]

En Chine et au Vietnam, la grenade, symbole de fécondité et de prospérité, sert à l'expression des souhaits. [s]

En Chine également, la coutume veut qu'on offre une grenade aux nouveaux époux en guise de promesse d'une nombreuse descendance. [f]

Dans le langage des fleurs, la fleur du grenadier est censée représenter l'amour le plus ardent. Les jeunes mariés en portaient dans leur coiffe. [26]

En Sicile, on cherche les trésors cachés avec des branches de grenadier. Elles ne manquent jamais de les trouver, dit-on, pourvu qu'elles soient maniées par des sorciers ou des personnes qui connaissent les formules magiques. [26]

II. Origine géographique et aire de répartition du grenadier.

A. Origine géographique du grenadier.

Le grenadier serait originaire d'Iran et d'Afghanistan, où il croît de façon spontanée depuis plus de 4000 ans. On le retrouve également sur des bas-reliefs égyptiens datant de 2500 ans avant le Christ et au jardin botanique de Thoutmosis III créé en 1450 avant JC. [2]

Les nomades arabes, dans leurs transhumances, en ont facilité la dissémination. En effet, en raison de la résistance de son écorce, qui en fait un fruit de longue conservation et peu susceptible d'être altéré durant le transport, la grenade a constitué, très tôt dans l'histoire, un des aliments de base des voyageurs et des caravaniers. D'autant plus que sa pulpe gorgée d'eau et légèrement acidulée permettait d'étancher la soif durant les longues traversées du désert.

La grenade a été introduite en Chine au début du II^{ème} siècle avant JC, par le ministre Tchang K'ien, à l'occasion d'une mission en Inde.

C'est donc dans l'ancienne Perse que débuta la culture du grenadier et c'est également de la Perse que le grenadier fut importé en Occident, sur les pourtours du bassin méditerranéen de l'Europe et de l'Afrique du nord. En effet, la plante fut introduite à Rome à la fin des guerres puniques, rapportée par les Romains après leur victoire sur les Carthaginois. [11]

La grenade porte le nom de pomme punique, c'est le *Malum punicum* de Pline, ou pomme de Carthage. Elle sera alors renommée *Punica granatum*. *Punica* en souvenir des guerres puniques ou peut-être pour *puniceus* qui signifie rouge écarlate en latin, et *granatum* pour la multiplicité des graines contenues dans le fruit. [36]

Les Maures, berbères d'Afrique du nord, l'introduisirent dans la péninsule ibérique, au VIII^{ème} siècle après JC, lors de la conquête de ce territoire. Forts appréciés dans le sud de l'Espagne, les grenadiers connaissent alors une culture intensive. [36]

L'ancienne cité primitive d'Elvira, située dans le sud de l'Espagne, conquise par les Maures, fut, au XI^{ème} siècle, renommée « Garnat Al Yahud », c'est-à-dire Grenade.

Les conquistadors espagnols l'introduisirent en Amérique et aux Antilles au XV^{ème} siècle lors de la découverte du continent américain. [36]

Dans les Antilles, au nord du Venezuela, se trouve d'ailleurs un archipel d'une superficie d'environ 340 km², composé d'une île principale dénommée Grenade, et de quelques îles appelées « îles des grenadines ».

B. Aire de répartition géographique du grenadier.

Le grenadier est fortement représenté au Moyen-Orient, sa terre d'origine. Ainsi, on le trouve fréquemment en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie, et en Inde.

Il est aussi beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc.

On le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, en Bulgarie et en Crimée.

De même en Amérique, la culture du grenadier reste très sporadique. Il est présent en Californie, dans l'Utah, en Alabama, Louisiane et Floride.

C. Production de la grenade.

Dans le monde, les plus importants pays producteurs de grenades sont les pays d'Orient dont l'Iran, la Turquie, la Transcaucasie et l'Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne la Tunisie, le Maroc, l'Espagne, l'Italie et la Grèce.

Aux Etats-Unis et plus particulièrement en Californie, la culture de la grenade est très développée.

La production de grenade est en nette augmentation ces dernières années, montrant un regain d'intérêt pour ce fruit oublié depuis plusieurs décennies.

Ainsi, un article parut dans un journal américain, le Boston Globe, annonce la pénurie de la production américaine de jus de grenade en 2007. Il semblerait en effet que les supermarchés américains n'arrivent pas à garder en stock de jus de grenade. Cela viendrait essentiellement de la publicité faite pour ce jus dans de nombreux magazines, suite à une étude de 2002, qui démontre les puissants pouvoirs antioxydants de ce fruit, et son rôle dans la prévention des cancers et des maladies cardiovasculaires. Certains magazines annonçaient même le jus de grenade comme « jus de l'année 2007 ». Des producteurs américains envisageraient d'arracher leurs vignes pour planter des grenadiers. La situation en matière d'approvisionnement semble devenue tellement critique que les supermarchés parlent de faire venir du jus depuis l'Europe. [u]

De même, d'après un rapport du centre de veille stratégique, la Tunisie note une forte augmentation de la demande en grenades. De 2005 à 2006, la production du fruit est passée de 65000 à 71000 tonnes, dont 2000 tonnes destinées à l'exportation. [P]

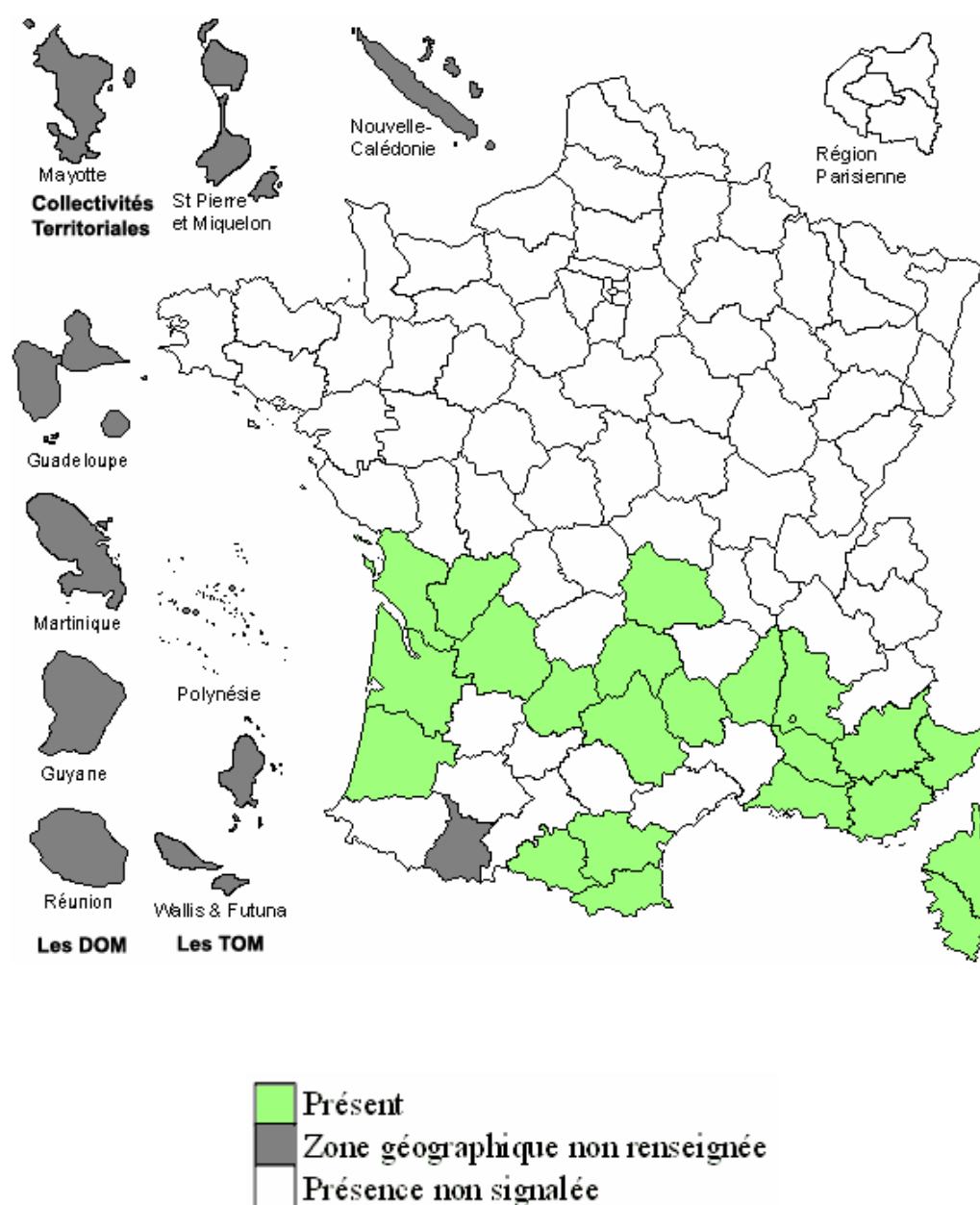


Figure 2 : Répartition géographique de la grenade en France. [N]

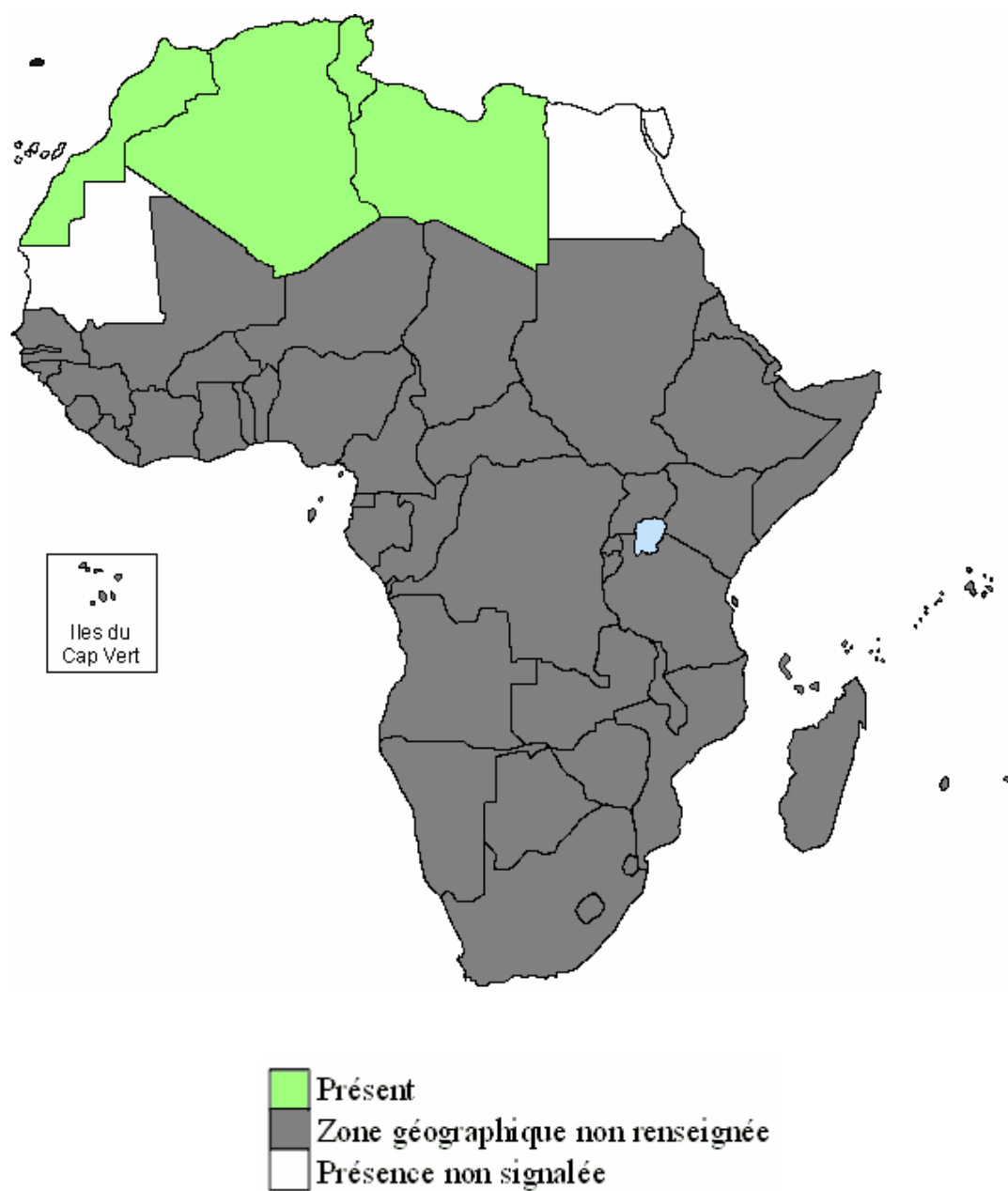


Figure 3 : Répartition géographique de la grenade en Afrique. [M]

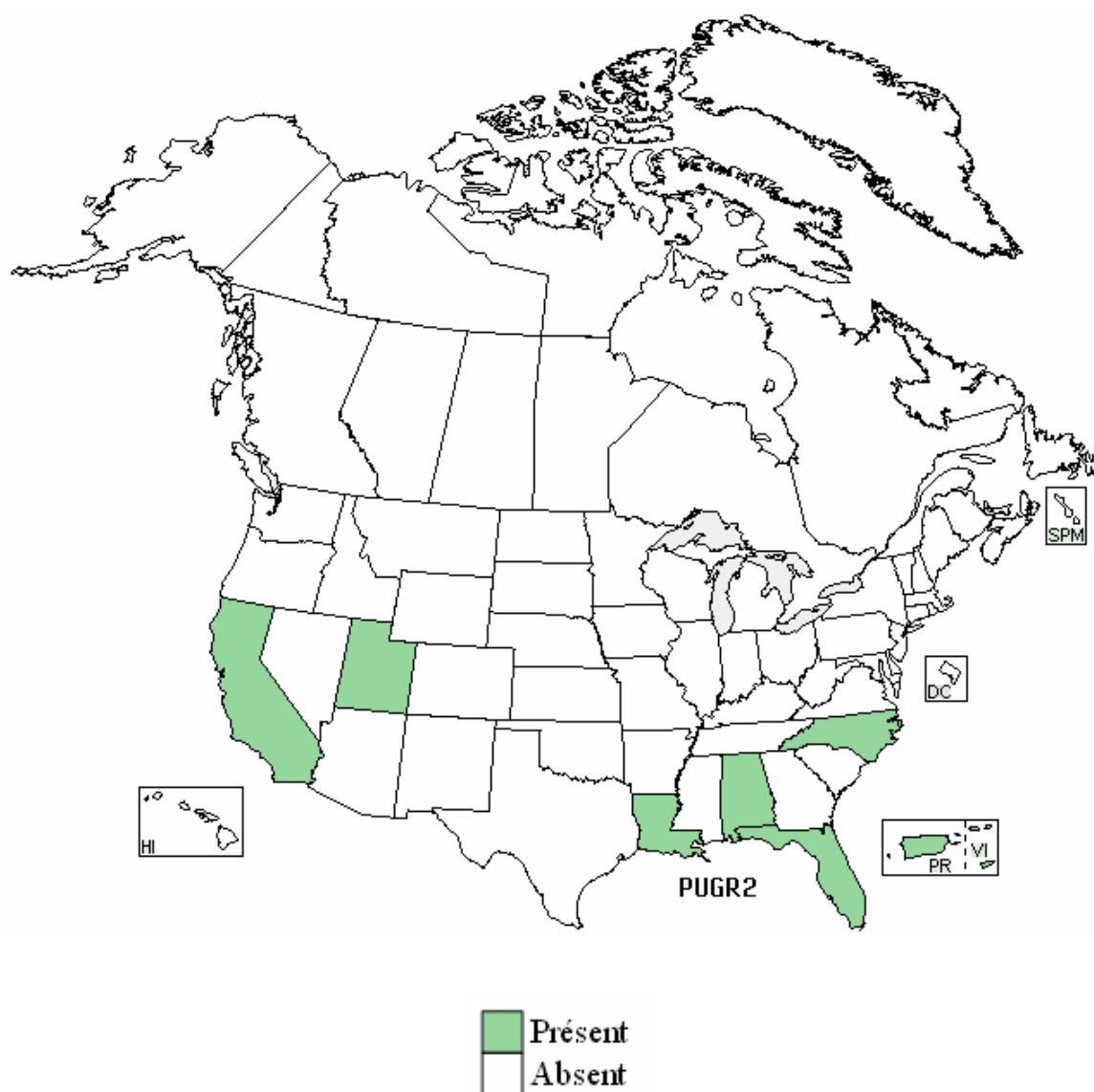


Figure 4 : Répartition géographique de la grenade en Amérique du nord. [m]

III. La culture du grenadier.

Le grenadier est un petit arbuste à longue durée de vie, bien adapté au climat méditerranéen et aux zones arides. Il est très résistant et s'acclimate très bien dans de nombreux milieux. Cependant, respecter au mieux ses exigences assurera au grenadier une bonne croissance et une bonne fructification.

A. Les exigences de milieu.

1. Conditions climatiques.

Le grenadier s'adapte à de nombreux climats, des tropiques aux régions tempérées chaudes. Cependant, c'est un climat austral subtropical voire tropical qui lui convient le mieux. Les meilleurs fruits sont obtenus dans les régions subtropicales, où la période des températures élevées correspond au moment de la maturité des grenades.

Il supporte très bien la sécheresse, mais cela compromet la qualité de ces fruits. Un climat chaud et sec sera bon pour le grenadier à condition que ses racines ne manquent pas d'eau. [I]

En dehors des régions subtropicales, le grenadier pousse fort bien dans toutes les régions où la température ne descend pas en dessous de -15°C. [E]

2. Le sol.

Le grenadier n'est pas exigeant en ce qui concerne la nature de son sol. Il s'adapte à une large gamme de sols et tolère les terrains acides, alcalins, crayeux... Il est également assez résistant à la salinité de la terre. [E]

Néanmoins, il donne de meilleurs résultats dans un terrain profond et gras : les terres d'alluvions lui conviennent mieux. Les terrains alcalins, argilo limoneux, lui sont favorables.

3. L'eau.

Les arboriculteurs turcs et perses prétendent que le grenadier doit avoir « les pieds dans l'eau et la tête au soleil ».

En effet, il est nécessaire que ses racines soient au frais et largement irriguées, afin d'obtenir des fruits de bonne qualité et en grande quantité. [I]

B. Soins cultureux.

1. Entretien régulier.

Il faut procéder, une fois par an, à un ameublissement du sol et à la destruction des mauvaises herbes.

Au cours de l'été, plusieurs sarclages sont nécessaires afin de maintenir les racines humides.

2. Engrais.

Il faut être prudent avec les engrais, et éviter ceux azotés, qui risquent de faire éclater les fruits sur l'arbre et faire proliférer les brindilles, gourmands et drageons. Ce type d'engrais est à réserver pour des arbres chétifs et en mauvaise santé.

Au contraire, des engrais phosphatés ont une influence favorable sur la fructification, et doivent être apportés à l'arbre en hiver. [1]

C. Les maladies et parasites du grenadier.

Le grenadier et la grenade ont peu d'ennemis. La plupart des ravageurs du grenadier sont répandus dans les pays tropicaux ou les régions proches de la mer, et très peu présents dans les régions continentales.

1. Les pucerons.

Les pucerons sont assez nuisibles dans les zones littorales. Ces insectes dévorent les jeunes pousses. Leur destruction nécessite l'emploi de produits chimiques. [39]

2. *Ectomyelois ceratoniae*.

Ectomyelois ceratoniae est un lépidoptère considéré comme le plus grand ennemi des grenades, pouvant causer des dégâts considérables en affectant 90% des fruits d'une récolte. Les traitements chimiques n'ont pas donné grande satisfaction. [39]

3. Les zeuzères.

Ces insectes, à l'état de larve, creusent des galeries sur le tronc et les grosses branches, pouvant provoquer leur cassure. [39]

4. *Aspergillus castaneus*.

Aspergillus castaneus est un champignon capable de décolorer les fruits et les graines du fruit qui en est infesté. [A]

D. La multiplication.

La multiplication du grenadier peut se faire par semis, par boutures, par marcottage, par drageons ou par greffes. [1]

1. Le semis.

Le semis a lieu au printemps, en pépinière, avec la graine récoltée la même année. Il faut choisir, pour cette opération, la graine des variétés à fruits acides et de maturité tardive. En effet, ces variétés sont, en général, plus rustiques que celles à fruits doux, et donc mieux adaptées à ce mode de multiplication.

Cependant, le semis est peu utilisé car ce procédé est long et donne des résultats non homogènes.

2. La bouture.

La bouture est un mode de multiplication végétative. Le bouturage est simple sur le grenadier et donne, en général, de bons résultats.

En février-mars, on taille les boutures de 20 à 25 cm de longueur et de 0,5 cm d'épaisseur. Puis, ces boutures sont mises en pépinière, de telle sorte qu'un seul œil reste au dessus du sol, tous les autres étant enterrés. Elles s'enracinent alors facilement et rapidement. Dès le printemps suivant, elles peuvent être mises en place. Cependant, il est plus prudent de les laisser en pépinière pendant deux saisons. C'est ce qu'il est couramment fait.

Ce procédé de bouturage favorise une repousse plus vigoureuse et rapide du jeune arbre, mais les racines sont moins développées.

3. Le marcottage.

Le marcottage est un mode de multiplication végétative.

La technique du marcottage consiste à multiplier une plante, en provoquant l'enracinement d'un rameau, alors que celui-ci est toujours solidaire de la plante mère. La partie de la plante placée en terre émet alors des racines adventives. Lorsque ces racines sont suffisamment développées, on coupe la branche pour séparer le jeune plant de la plante mère.

Le marcottage est une technique de multiplication simple mais un peu longue : l'enracinement n'intervient parfois qu'au bout d'une année.

4. Le drageon.

Le drageon est également un mode de multiplication végétative.

Le drageon est un rejet issu de la racine d'une plante. Quand celui-ci a acquis suffisamment de force, il est séparé de la plante mère et mis en terre. Cela donne un nouveau pied.

La multiplication par drageons chez le grenadier est assez simple car cet arbre en produit parfois abondamment.

Ce procédé est, semble-t-il, assez souvent employé dans la région méditerranéenne.

5. La greffe.

La greffe permet d'obtenir un organisme hybride, associant les caractéristiques du porte-greffe et du greffon. Les parties greffées n'ont pas le même patrimoine génétique que le pied lui-même.

C'est une technique rarement employée chez le grenadier.

E. La fructification et la récolte des fruits.

1. La fructification.

Le grenadier, bien soigné, commence à fructifier dans sa quatrième année.

L'irrigation joue un rôle très important dans la qualité des fruits. Ainsi, pour produire de gros fruits, un arrosage abondant est nécessaire. De plus, un fruit qui a manqué d'eau a tendance à éclater facilement, le rendant impropre à la consommation et à la commercialisation.

2. La récolte des fruits.

Il est prudent de faire la cueillette des grenades avant leur complète maturité, quand leur écorce commence à rougir. Souvent, en effet, le fruit se fend sur l'arbre quand il est tout à fait mûr. [1]

Il est déconseillé de cueillir par temps humide car les fruits risquent également de se fendre.

Selon les variétés, la récolte des grenades se fera entre fin août et décembre.

3. La conservation des grenades.

Dans *De de rustica*, Columelle relate les recettes du carthaginois Magon, pour la conservation des grenades.

Ainsi « il prescrit de bien faire chauffer de l'eau de mer et d'y plonger un certain temps les grenades, enveloppées dans du lin ou du spart, jusqu'à ce qu'elles perdent leur couleur. Après les avoir retirées de l'eau, il conseille de les faire sécher au soleil pendant trois jours et de les suspendre dans un lieu frais. Quand on veut les consommer, il faut les mettre à macérer dans de l'eau douce froide pendant un jour et une nuit, jusqu'au moment de servir ». [s]

Une autre de ces recettes conseille de : « recouvrir les grenades à peine cueillies d'une couche de terre glaise bien pétrie. Quand cette argile aura séché, les suspendre dans un lieu frais. Avant de les manger, les plonger dans l'eau pour dissoudre la terre. Cette méthode permet de leur garder toute leur fraîcheur ».

Magon enseigne encore : « au fond d'une casserole neuve en argile, déposer une couche de sciure de peuplier ou de chêne vert. Y déposer les grenades de façon que l'on puisse bien tasser la sciure dans les intervalles séparant les fruits. Les disposer ainsi jusqu'à ce que la casserole soit pleine. Mettre un couvercle et recouvrir soigneusement d'une épaisse couche de boue ». [s]

A échelle familiale, ces méthodes de conservation traditionnelle sont encore utilisées dans certains pays producteurs comme la Tunisie.

Néanmoins, la non maîtrise des techniques de conservation à grande échelle de ce fruit rend très difficile l'étalement de la période de commercialisation des grenades et surtout l'exportation sur de longues distances.

IV. Classification de *Punica granatum*.

A. Notions de classification.

L'Homme a, depuis très longtemps, cherché à organiser le monde vivant. Il a alors établi des classifications du règne végétal et du règne animal.

On considère Aristote (384-322 av. JC) comme le précurseur de la classification, utilisant déjà les concepts du genre et de l'espèce.

De l'Antiquité au Moyen Age, de nombreuses classifications du règne végétal, basées essentiellement sur l'utilisation de la plante, ses propriétés alimentaires, aromatiques, médicinales ou toxiques, voient le jour. Les plus connues sont rédigées par Théophraste (370-285 av. JC), Pline (23-79 ap. JC), Dioscoride (40-90 ap. JC) ou encore Albert le Grand (1193-1280).

Au XVI^{ème} siècle, les premières classifications « scientifiques » apparaissent. Elles utilisent, comme critères de classification, l'habitat des végétaux ainsi que certains caractères végétatifs et morphologiques des plantes.

Au XVIII^{ème} siècle, Carl von Linné (1707-1778), considéré comme le père de la taxonomie, invente une classification basée sur les différences des organes sexuels : 24 classes réparties selon le nombre de styles et selon le nombre, l'assemblage et la longueur des étamines. Cette classification, qualifiée d'artificielle, car basée sur un nombre restreint et arbitraire de critères, fut néanmoins utilisée comme référence pendant plusieurs centaines d'années et elle est d'ailleurs aujourd'hui encore très largement employée. [52]

Le grenadier, *Punica granatum*, a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Telle est cette classification :

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

En 1998, une nouvelle classification des angiospermes, c'est-à-dire des plantes à graines, est créée par un groupe de botanistes, l'*Angiosperm Phylogeny Group* ou APG. Cette classification phylogénétique réorganise le règne végétal en fonction de critères moléculaires, s'intéressant essentiellement à l'ADN de deux gènes chloroplastiques et d'un gène nucléaire de ribosome. Ainsi, pour certaines espèces végétales, les résultats moléculaires sont en accord avec les anciennes classifications alors que pour d'autres espèces végétales, il est nécessaire de modifier leur position

dans la systématique. Ces résultats reconsidèrent la phylogénie des plantes. Cette nouvelle organisation se compose alors de 462 familles réparties dans 40 ordres. [52]

Cette classification a été révisée en 2003, donnant naissance à la classification phylogénétique APGII, qui comporte 457 familles réparties dans 45 ordres. Au sein de cette classification, la position du grenadier est :

- Clade : Angiospermes
- Clade : Dicotylédones vraies
- Clade : Rosidées
- Ordre : Myrtales
- Famille : Lythraceae
- Genre : *Punica*
- Espèce : *Punica granatum*

Il convient donc de retenir que dans cette nouvelle classification, la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces. [52]

B. Le genre *Punica*.

Que ce soit dans la classification de Linné ou dans la classification APGII, le genre *Punica* ne possède que deux représentants : *Punica granatum*, d'une part, et *Punica protopunica*, d'autre part. Ce dernier est recensé exclusivement sur l'île de Socotra ou Socotora, située dans l'océan Indien, au large des côtes de Somalie. [18]

V. Quelques variétés du grenadier commun.

A. Les variétés à fruits.

(Liste non exhaustive)

Zone géographique	Variétés	Maturité des fruits	Taille des fruits	Caractéristiques des fruits	Grains	Qualités gustatives
Espagne	<i>Blanca</i>	sept./oct.	moyen	peau lisse	roses	pulpe juteuse et sucrée
	<i>Dulce Colorada</i>	oct.	gros	peau lisse, fine et teintée de rouge	gros, rouges	très bonne
	<i>Cagin</i>	oct.	gros	colorés	petits, rouges et très acides	excellente pour la grenadine
	<i>Pignonenca</i>	-	gros	colorés	grains rouges	bonne conservation
Maroc	<i>Meknes</i>	-	-	-	sans grains	-
Tunisie	<i>Zéri</i>	août/sept.	assez gros	peau ferme, rouge	très petits, rouges	bonne, très juteuse
	<i>Gabsi</i>	sept.	gros	peau jaunâtre, claire	-	bonne
	<i>Chelfi</i>	sept./oct.	assez gros	teintés de rouge	-	très rustique
	<i>Tounsi ou Tounsi</i>	-	assez gros	colorés, teintés de rouge	rouge foncé, pulpe très colorée	-
	<i>Maïki</i>	oct.	assez gros	peau ferme, jaune	gros	rustique, médiocre
	<i>Djelbi</i>	nov./déc.	très gros	rouge foncé	-	acide, variété plutôt d'apparat
Malte	<i>Guiseppe</i>	oct.	gros à très gros	peau colorée, rouge à brun	gros	juteuse, sucrée, excellente
Grèce	<i>Douce de Patras</i>	août/sept.	très gros	peau colorée	petits, rouges, très acides	excellente
	<i>Acide de Patras</i>	oct.	très gros	peau colorée fine mais dure	très rouges, acides	très bonne pour la grenadine
	<i>Denagra ou Tanagra</i>	oct.	gros	colorés, peau épaisse	rouges	très bonne

	<i>Chio</i>	oct.	gros	peau colorée	petits et rouges	très savoureuse
France	<i>De Jaffa</i>	-	-	peau colorée, rouge	-	-
	<i>De Provence</i>	oct.	gros	-	Gros et durs	bonne
	<i>A fruit aigre</i>	oct.	-	-	acides	médiocre
Afghanistan	<i>Grosse Blanche de Kandagar</i>	fin août	très gros	blancs à jaune clair	gros et pâles	très bonne
	<i>Grosse Rouge de Kandagar</i>	fin sept.	très gros	rouge écarlate	rouges	excellente
	<i>Grosse Noire de Kandagar</i>	nov.	très gros	rouge foncé violacé	gros et rouges	très bonne
	<i>Kaboul</i>	-	-	-	-	-
	<i>Paklia</i>	-	-	-	-	-
Turquie	<i>Ak Anar</i>	sept.	moyen	peau épaisse, jaune blanc	assez gros et pâles	très rustique
	<i>Tchercherdeksis</i>	oct.	assez gros	jaune foncé teinté de rouge	petits et très tendres	très bonne
	<i>Kyzyl-Anar</i>	oct.	assez gros	peau épaisse rouge foncé	petits et très rouges	-
	<i>Kara-Anar</i>	déc.	gros	peau ferme, rouge foncé à violet	gros et rouge grenat	rustique, médiocre
Irak	<i>Akmar Selimi</i>	-	-	rouge	-	-
	<i>Aswad Selimi</i>	-	-	peau très foncée	-	-
	<i>Halwa Selimi</i>	-	-	-	-	excellente
Arabie	<i>Mellassi</i>	sept.	très gros	-	gros, pâles et tendres	-
	<i>Selimi</i>	oct.	très gros, lourds	peau fine, ferme et rouge écarlate	très petits et tendres	excellente
	<i>Roman Chouall</i>	nov.	assez gros	peau ferme, fine, violet foncé	gros et très rouges	très bonne
	<i>Nejidi</i>	nov.	gros	peau ferme et fine, très colorée	rouges	-

	<i>Cherabani</i>	nov.	assez gros	-	petits	très acide, pour vin de grenade
	<i>Senna Djemel</i>	déc.	gros	peau épaisse colorée	rouges	bonne
U.S.A.	<i>Wonderfull</i>	août/sept.	très gros, aplatis	rouge rosâtre	rouges	très bonne, rustique
	<i>Paper Shell</i>	sept./oct.	gros	marbrés de pourpre	petits	parfumée, très sucrée
	<i>Spanish-Ruby</i>	oct.	gros	rouges	rouges	rustique

Figure 5 : Variétés de grenadiers à fruits. [I]

B. Les variétés ornementales.

Le grenadier est surtout connu pour ces gros fruits ronds et charnus. Mais il existe également des variétés de grenadiers sans fruits, qui sont utilisés pour décorer les jardins ou former des haies. En effet, le grenadier possède de très belles fleurs colorées et d'une grande valeur ornementale. A titre d'exemple, voici quelques unes de ces espèces. [K]

1. Variétés à fleurs simples.

Albescent : fleurs blanches.

Flore Pleno : nombreux pétales chiffonnés.

2. Variétés à fleurs doubles.

Chico : belles fleurs doubles d'un rouge puissant.

Luteum plenum : fleurs doubles de couleur jaune pâle.

Legrelliae, *Legrelli* ou *madame Legrelliae* : fleurs doubles de couleur panaché orangé, crème, saumon.

Maxima rubra : fleurs doubles de couleur rouge orangé.

3. Variétés naines.

Les variétés naines ont généralement une hauteur de 40 à 60 cm. Ces espèces sont très recherchées et cultivées en pot, tel un bonsaï. En effet, le grenadier présente certains atouts pour le « travail en bonsaï » : des feuilles de petite taille, une écorce blanchâtre

qui se crevasse rapidement donnant un aspect « vénérable », une floraison abondante et de jolis fruits de petite taille. [a]

Quelques espèces de variétés naines :

Nana : fleurs doubles rouge orangé.

Nana gracillissima : fleurs simples chiffonnées de couleur rouge orangé, floraison abondante, hauteur 50 cm.

Nana racemosa : fleurs doubles, hauteur 80 cm.



Figure 6 : Grenadier nain cultivé en bonsaï. [t]

VI. Autres dénominations.

A. Synonymes.

L'espèce *Punica granatum* est mieux connue sous le terme de grenadier. Cependant, dans la culture française, cet arbre s'est vu attribuer d'autres noms vernaculaires, moins courants.

Ainsi, grenadier est synonyme de :

- Balaustier
- Miouganier
- Arosse
- Granatier
- Migranier
- Miougranié
- Baloufié

De même, la fleur du grenadier est également appelée balauste. [45]

Aussi, le fruit, la grenade, porte quelquefois le nom de :

- Pomme vénitienne
- Pomme grenade
- Pomme de Carthage
- Balauste
- Miougane
- Arosse
- Granate
- Migrane

Quant au mot malicorium, il désigne l'écorce du fruit du grenadier. [45]

B. Les dénominations communes dans différentes langues.

Selon les langues parlées dans chaque pays, le nom vernaculaire de *Punica granatum* varie. Ainsi le nom de cet arbre sera :

- En anglais : Pomegranate ou Pome Granate.
- En allemand : Granatapfelbaum, Granatbaum, Gemeine Granat, Balluster.
- En espagnol : Granado coltivado, Mangrano.
- En italien : Granato.
- En chinois : Ngan Che Lieou, Shi Liu.

VII. Botanique.

A. Description générale du grenadier.

Le grenadier est un arbre ou arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur, légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux. Il croît majoritairement dans toute la région méditerranéenne, de façon subsponnée ou cultivée. [22]

B. Les feuilles.

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes.

Elles sont glabres sur les deux faces. La face supérieure est vert foncé et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, vert clair, montre une nervure médiane très saillante.

Ces feuilles entières, lancéolées, assez coriaces, et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. Leur sommet peut être obtus ou allongé.

Elles sont munies d'un court pétiole, de 1 à 5 mm de long, qui est généralement rougeâtre dessus. [25]

Elles ne possèdent pas de stipule. [22]

C. Les fleurs.

Les fleurs du grenadier portent également le nom de balaustes. [45]
Elles sont très ornementales.

Les fleurs rouge pourpre ou grenat, d'aspect froissé, portées par un court pédoncule, solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de deux ou trois au sommet des branches, s'ouvrent de mai à juillet. [22]

Les fleurs du grenadier sont actinomorphes et hermaphrodites. [18]

Les fleurs sèches sont sans odeur. Elles ont une saveur âpre et astringente et donnent à la salive une teinte violacée. [45]

1. Diagramme floral.

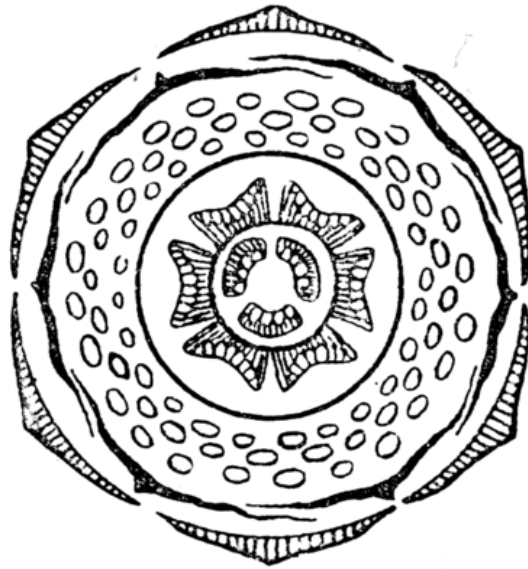


Figure 7 : Diagramme d'une fleur de *Punica granatum*. [d]

2. Le calice.

Le calice est formé de 4 à 8 sépales courts, charnus, épais, d'une belle couleur rouge vif, persistants, d'abord dressés puis étalés après la fécondation. [22]

Ces sépales présentent une préfloraison valvaire. [18]

3. La corolle.

La corolle comprend 4 à 8 pétales minces alternant avec les sépales.

Ces pétales sont généralement très colorés, souvent d'un rouge orangé vif, mais pouvant prendre de nombreuses autres teintes selon les variétés, tel que blanc, jaune pâle, crème ou saumon. Ils ont un aspect chiffonné.

Les pétales, simples chez le grenadier sauvage, sont généralement doublés chez le grenadier cultivé, formant les variétés dites à fleurs doubles, très ornementales.

4. Le gynécée.

Le gynécée est formé de 8 ou 9 carpelles soudés au tube du calice, disposés sur deux verticilles.

L'ovaire, infère, est surmonté d'un style conique terminé par une tête stigmatique. [22]

5. Les étamines.

Les étamines, libres et très nombreuses, tapissent la paroi interne du réceptacle floral, à partir de la corolle. [18]

Ces étamines ont des anthères biloculaires. Elles sont introrses, versatiles et à déhiscence longitudinale. [18]

D. Les fruits.

1. La baie.

Le fruit du grenadier, la grenade, est une baie ronde, cortiquée, c'est-à-dire à épicarpe cutinisé et dur, de la taille d'une pomme ou d'une orange, de 2 à 12 cm de diamètre. [16]

Ce fruit, très coloré, généralement de couleur rouge vif, peut, selon les variétés, avoir une peau de teinte blanc jaunâtre, ou jaune foncé marbré de rouge ou encore violet très foncé.

Cette baie est surmontée des restes du calice, formant une couronne dentée, qui la rend facilement identifiable. [13]

Son péricarpe, coriace et épais, est non comestible. Il forme une écorce dure, d'un beau jaune à l'intérieur du fruit. [7]

La grenade présente une placentation hétérogène. [BEZANGER] Après fécondation de la fleur, l'accroissement du tube du calice porte les carpelles externes au dessus des autres, et le fruit se trouve composé de deux rangées de loges superposées, de telle sorte que dans la rangée inférieure la placentation est axile, tandis qu'elle est pariétale dans la rangée supérieure. [22]

2. Les graines.

Cette baie renferme de nombreuses graines contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et membraneuses. Toutes ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit. [7]

Les graines, au tégument externe pulpeux et très succulent, possèdent un tégument interne dur et coriace. [18]

Ces multiples graines, courtement funiculées, deviennent plus ou moins anguleuses par compression réciproque. [18]

L'embryon, exalbuminé, est formé d'une courte radicule et de deux larges cotylédons auriculés, enroulés en spirale l'un sur l'autre. [18]

3. L'écorce du fruit.

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée *malicorium*. Il s'agit de la partie dure du fruit.

Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées.

Ces fragments sont de consistance coriace. Ils sont formés d'un parenchyme de cellules à parois minces, au milieu desquelles on distingue des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires. [45]

La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente. [45]

E. L'écorce de la racine.

La racine du grenadier est ligneuse, noueuse, dure et pesante. [27]

L'écorce de la racine se présente sous forme de fragments irréguliers, plus ou moins enroulés ou cintrés, d'un millimètre d'épaisseur environ. La face externe gris jaunâtre ou brunâtre montre de larges écailles subéreuses, des rides ou de larges fissures. La face interne jaune verdâtre est lisse et finement striée longitudinalement. La section jaune clair est nette et montre de fines stries transversales et radiales correspondant au liber. [22]

Une coupe transversale de l'écorce montre, au dessous du suber plus ou moins épais, le parenchyme cortical, renfermant de nombreux grains d'amidon et quelques cristaux d'oxalate de calcium. Le liber très épais, en faisceaux ogivaux, est caractérisé par de petits éléments quadrangulaires alignés transversalement et dans lesquels se trouvent en abondance l'amidon et l'oxalate de calcium disposés en rangées alternantes, une rangée de cellules à oxalate pour une ou deux rangées de cellules à amidon. Les rayons médullaires sont en général unisériés. Cette disposition donne à la coupe un aspect

strié assez régulier. En outre, dans le parenchyme et le liber se trouvent de gros sclérites à parois très épaisses, à cavité presque nulle. [22]

L'iodure de potassium fait apparaître l'amidon coloré en violet, la paroi cellulaire en brun et les sclérites en jaune vif.

Le perchlorure de fer colore tout en noir verdâtre. [22]

F. L'écorce de la tige.

L'écorce de la tige se présente généralement en fragments tuyautés ou cintrés, plus long que ceux de la racine, à surface externe soit lisse et intacte, soit rugueuse et crevassée, pourvue de nombreuses lenticelles arrondies. Les plaques subéreuses minces sont plus petites que dans la racine. [22]

G. Illustrations des différents organes.



Figure 8 : Grenadier au tronc tortueux. [J]



Figure 9 : Feuilles lancéolées de *Punica granatum*. [x]



Figure 10 : Fleurs aux sépales charnus et rouges et aux pétales froissés. [x]



Figure 11 : Fleur et ses nombreuses étamines. [b]



Figure 12 : Grenades et leur calice denté. [G]



Figure 13 : Grenade et ses nombreuses graines. [k]



Figure 14 : Graine au mésocarpe charnu et gélatineux. [p]

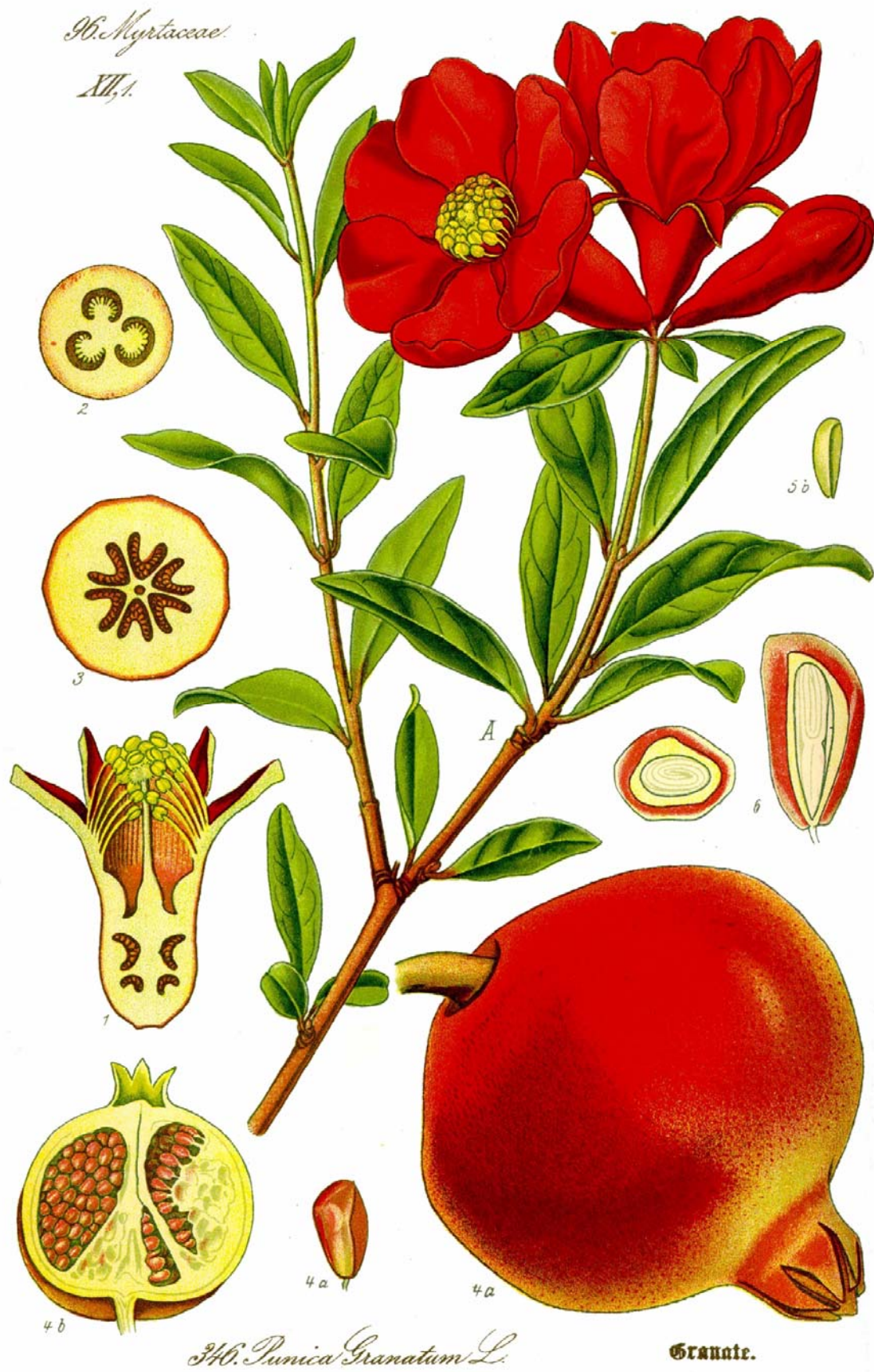


Figure 15 : Le grenadier, *Punica granatum* L. [h]

VIII. Falsifications.

Les écorces de buis, de mûrier et d'épine-vinette sont parfois substituées à l'écorce de racine de grenadier.

L'écorce de racine de grenadier a une saveur légèrement amère. Elle colore la salive en jaune et contient une assez grande quantité de tannins, ce qui lui donne, sous l'action des sels de fer, une coloration bleu noirâtre. [46]

A. Falsification avec l'écorce de buis.

L'écorce de buis peut être confondue avec l'écorce de grenadier, malgré un aspect extérieur et des caractères structuraux assez différents.

Cependant, l'écorce de buis a une saveur amère très marquée. Elle ne colore pas la salive en jaune. Elle ne réagit pas avec les sels de fer. [46]

B. Falsification avec l'écorce de mûrier.

L'écorce de mûrier a une saveur sucrée et fade. Elle ne colore pas la salive. Elle ne réagit pas avec les sels de fer. [22]

C. Falsification avec l'écorce d'épine-vinette.

L'écorce d'épine-vinette, connue également sous le nom de berbérís, a quelques fois été utilisée pour falsifier celle du grenadier.

L'écorce d'épine-vinette colore la salive en jaune, comme celle du grenadier, mais, par action de l'eau chlorée, elle donne une coloration rouge sang, en raison de la présence de berbérine. [22]

Outre sa couleur d'un jaune très marqué dans les couches intérieures, la falsification peut également être mise en évidence par l'absence de réaction avec les sels de fer. [46]

L'écorce de grenadier et celle d'épine-vinette, traitées par l'eau puis certains réactifs, présentent les résultats suivants : [27]

	EPINE-VINETTE	GRENADIER
Couleur du macéré	Jaune pur	Brun foncé
Gélatine	Action nulle	Précipité très abondant
Acétate de plomb	Louche et précipité peu sensible	Précipité jaune, très abondant et cohérent ; liqueur entièrement décolorée
Sulfate de fer	Action nulle	Couleur noire très intense

Figure 16 : Tableau comparant les caractères chimiques distinctifs de l'écorce d'épine-vinette et de l'écorce de grenadier. [27]

D. Falsification de l'écorce de la racine de grenadier par de l'écorce de tige.

Une autre falsification fréquente de l'écorce de racine de grenadier consiste à mélanger cette écorce avec celle de la tige. On peut reconnaître cette substitution, à l'aide d'un microscope, par la présence, sur l'épiderme de l'écorce de la tige, d'un grand nombre de cryptogames, c'est-à-dire de lichens foliacés noirs, tels que *opographa serpentina* ou *verrucaria leinitata*. [16]

IX. Usages empiriques et traditionnels de la grenade.

A. Usage médicinal du grenadier.

Le grenadier est utilisé depuis des centaines d'années en médecine traditionnelle. La grande diversité des propriétés qui lui sont attribuées laisse à penser que cet arbre est une véritable panacée.

Les Egyptiens, au VIII^{ème} siècle avant JC, connaissaient les effets vermifuges de l'écorce de grenade. Les médecines traditionnelles égyptiennes la considéraient comme anthelminthique et mettaient à profit l'effet astringent du tanin contenu dans l'écorce, la fleur et le fruit du grenadier.

Ainsi, le tanin des fruits aigres était prescrit comme fébrifuge et antivomitif, celui des fruits sucrés comme adoucissant pour la toux. [s]

Hippocrate, célèbre médecin grec, né vers 460 avant JC, considéré comme le père de la médecine, attribue au grenadier de nombreuses propriétés. Il recommande le jus de la grenade contre la fièvre et comme « fortifiant contre la maladie ».

Aussi, dans la partie de son oeuvre *Des maladies des femmes*, il fait régulièrement référence au grenadier, par exemple, pour des maux liés à la maternité comme pour favoriser la conception, pour « la purgation lochiale après l'accouchement », pour traiter des diarrhées ou des « souffrances de l'utérus » après un accouchement ...

D'autres problèmes féminins semblent nécessiter l'emploi du grenadier, comme le traitement de la leucorrhée ou l'emploi de boissons à base de jus de grenade pour « favoriser l'écoulement rouge ».

Selon les maux à traiter, Hippocrate conseillera, associés à d'autres produits, le jus de grenade, l'écorce, la racine ou les feuilles du grenadier, parfois en boisson, en injection ou en lavement dans les parties génitales, ou encore en application locale.

Dans le même ouvrage, il conseille le jus de grenade pour arrêter les vomissements et pour « l'œil douloureux qui pleure ». Aussi, il recommande l'usage de l'écorce sèche de grenade comme lavement pour la dysenterie. [n]

Un peu plus tard, Dioscoride, médecin grec né vers 40 après JC, écrit, dans son célèbre *De materia medica*, que les fleurs de grenadier « passent pour protéger les yeux ». En effet, selon cet auteur, l'ingestion de trois fleurs de grenadier, même de petite taille, permet d'éviter toutes souffrances oculaires durant l'année. [20]

De l'Afrique du Nord jusqu'en Inde, le jus de grenade, couramment utilisé dans les médecines indigènes, a la réputation d'accroître la fécondité et d'être un antidote à la stérilité. [s]

La pharmacopée et la médecine traditionnelle chinoise font aussi référence au grenadier.

La peau (*malicorium*) séchée de la grenade, *Shi Liu Pi*, est reconnue pour ses propriétés astringentes pour l'intestin, pour « arrêter le sang » et pour « chasser les parasites ». Le *malicorium* est ainsi indiqué en cas de diarrhée chronique, dysenterie chronique, présence de sang dans les selles, prolapsus rectal, spermatorrhée, hyperménorrhée, pertes blanches, accumulation de parasites, douleurs abdominales et dermatophytie. La peau séchée de la grenade est alors utilisée en décoction, à raison de 2,8 à 5g par jour, ou en usage externe, en lavage local avec la décoction ou par application de poudre de peau de grenade séchée.

L'usage de la racine de grenadier, *Shi Liu Gen*, est également retenu. A raison de 7 à 14g par jour de décoction de racines, on traite le ténia, les diarrhées chroniques, les dysenteries chroniques et les pertes blanches ou hémorragiques.

Enfin, la pharmacopée chinoise référence aussi la fleur du grenadier, *Shi Liu Hua*, pour soulager les épistaxis, otites et hémorragies. Il est alors conseillé, en usage interne, de consommer de 3,5 à 7g par jour de décoction de fleurs. Ces fleurs peuvent aussi être employées en application locale. [28]

Toujours en médecine chinoise, l'ingestion, au cours d'un même repas, de grenades, raisins ou kakis avec des crustacés, était fortement déconseillée. Cela débiliterait les fonctions digestives et provoquerait des maux d'estomac. [s]

Dans la médecine ayurvédique, la grenade est classée parmi les aliments de saveur astringente, de nature rafraîchissante et d'action post digestive sucrée. Elle est recommandée aux personnes souffrant d'une maladie rapportée à l'action du « vent ». [s]

Selon Paracelse, né en 1493, « tout ce que la nature crée, elle le forme à l'image de la vertu qu'elle entend y attacher ». C'est cette pensée qu'il développera dans sa célèbre théorie des signatures, qui veut que ce soit la ressemblance, qu'elle soit de forme, de couleur, d'odeur ou de consistance, qui déterminera l'adéquation d'un remède.

Les graines de la grenade faisant penser à des dents par leur aspect et leur disposition dans la pulpe du fruit, il était donc conseillé d'en croquer contre le mal de dents.

Le jus de la grenade, rouge comme le sang, déjà utilisé par les herboristes du Moyen Âge, était recommandé contre les troubles de la circulation et pour arrêter les hémorragies. [s]

Bien que Dioscoride et Caton aient mentionné les propriétés vermifuges de l'écorce de la racine et de la tige du grenadier, et bien que Barthélemy de Glainville, au XIII^{ème} siècle, ait rappelé leurs propriétés, elles ne furent connues en Europe qu'après 1807, lorsque le médecin anglais Buchanan en eût appris l'emploi des Hindous. [21]

C'est le docteur Mérat qui, en 1832, attire l'attention des praticiens français sur cette écorce. [21]

Il considérait la racine fraîche comme beaucoup plus efficace que la racine sèche. Il fut reconnu plus tard que la racine sèche est aussi efficace que la racine fraîche, et que la dessiccation n'altère en rien les principes actifs. Il semblerait qu'il soit nécessaire,

dans ces conditions, de faire macérer les morceaux de racine séchée pendant vingt-quatre heures dans l'eau qui doit servir à l'ébullition.

C'est pour cette raison que ce médecin avait pour habitude de faire acheter un grenadier vivant, âgé de huit à dix ans au moins, un arbre plus jeune ne pouvant fournir la quantité d'écorce de racine nécessaire, et de faire séparer l'écorce de racine de l'arbre chez le malade même, le jour, ou, au plus tard, le lendemain du jour où des anneaux de ténia avaient été expulsés. Cette écorce recueillie, il l'employait immédiatement en décoction. [16]

Le docteur Mérat assure « n'avoir jamais vu manquer la racine de grenadier contre le ténia », le succès étant lié à l'observation indispensable de certaines conditions, qui sont les suivantes :

- N'administrer le médicament que le jour même ou le lendemain du jour où des anneaux de ténia ont été rendus.
- Faire prendre en trois fois, à une demi-heure de distance, le produit de la décoction de 60g d'écorce de racine fraîche de grenadier, dans 750g d'eau réduite à 500g par ébullition.

Selon lui, les insuccès que l'on a reprochés à ce mode de traitement sont dus uniquement à un non respect de ces conditions, résultant soit de la faute du médecin, soit de la faute du malade. [16]

Ainsi, au XIX^{ème} siècle, les fleurs et l'écorce du fruit du grenadier sont connues pour être toniques et astringentes. On les emploie, en usage interne, pour traiter la diarrhée et la dysenterie quand la période d'irritation est dissipée, ainsi que dans les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, la leucorrhée et la blennorrhée.

On se sert également de ces fleurs et écorces, en usage externe, sous forme de gargarismes, afin de soigner le gonflement atonique des amygdales, ainsi que le relâchement de la luette et des gencives.

Ces mêmes parties du grenadier, utilisées en lotion ou en injection, lutteraient contre le relâchement de la muqueuse du vagin, la chute du rectum, l'œdème des extrémités et les engorgements articulaires à la suite d'entorse ou de luxation. [16]

Toujours au XIX^{ème} siècle, l'emploi des feuilles, fraîches ou sèches, donne une tisane tonique agréable, utilisée contre « la débilité de l'estomac », le manque d'appétit, les nausées, la faiblesse générale, la chlorose, l'anémie, les courbatures dans les convalescences, la migraine, les diarrhées chroniques et les frissons fébriles. Ces mêmes feuilles peuvent, semble-t-il, être à l'origine d'une constipation.

L'écorce des jeunes rameaux, recueillie au début du printemps, est connue pour rendre des services analogues.

Les graines des fruits, beaucoup moins astringentes, ont été prescrites en poudre dans la leucorrhée et pour soulager les ulcères atoniques.

Le suc de la grenade, rafraîchissant, diurétique, adoucissant, s'emploie contre les inflammations oculaires et fournit, étendu d'eau, une boisson acidulée de saveur agréable, recommandée dans les maladies inflammatoires et bileuses, ainsi que dans les affections des voies urinaires. [21]

L'intérêt thérapeutique du grenadier et de ses racines, fleurs et fruits a été réellement reconnu par le milieu médical français mais également espagnol et américain. En effet, comme indiqué dans le tableau suivant, ces divers organes sont présents, au XVIII^{ème} et XIX^{ème} siècle, dans les pharmacopées de différents pays.

	Pharmacopée française - Codex	Pharmacopée espagnole	Pharmacopée américaine
Ecorce de la racine	1818 - 1910	1865 - 1905	1842 – 1916
Fleurs	1818 - 1884	1794 - 1884	-
Ecorce du fruit	1818 - 1884	1794 - 1884	1820 – 1873
Suc de grenade	1818 - 1884	1794 - 1905	-

Figure 17 : Tableau représentant l'inscription d'organes du grenadier dans des pharmacopées. [22]

Le codex 1908 décrit « l'apozème d'écorce de racine » du grenadier. Cet apozème se prépare à partir de 60g d'écorce sèche de racine de grenadier réduite en poudre et de 750g d'eau. Pour sa réalisation, il faut faire macérer la poudre dans l'eau pendant 6 heures, puis chauffer au bain-marie jusqu'à réduction aux deux tiers et enfin filtrer. L'apozème s'administre en 3 fois à une demi heure d'intervalle. Cette préparation permet de tuer le ténia. Deux heures après la dernière prise, il est nécessaire de faire ingérer 30g d'huile de ricin, très bon purgatif, afin d'expulser le parasite. [22]

A partir de la fin du XIX^{ème} siècle, le grenadier est peu à peu abandonné au profit d'autres traitements. En effet, certains principes actifs du grenadier, tels que la pelletiérine, semblent présenter une toxicité non négligeable pour l'homme.

Néanmoins, il semblerait qu'au début du XXI^{ème} siècle, en Guadeloupe, on utilise encore l'écorce fraîche de la grenade comme antidiarrhéique et contre les maux de ventre.

De même, cette écorce de fruit serait aussi recommandée aux Antilles, pour ses vertus antidysentériques, antirhumatismales et emménagogues. [11]

A la même époque, il semblerait que l'écorce du fruit du grenadier soit considérée, par les médecins persans et tibétains, comme succédané du quinquina, et employée contre les fièvres intermittentes. [16]

B. Usage culinaire du grenadier.

1. Mode de consommation de la grenade.

Tout d'abord, la grenade peut être utilisée en fruit de table. Dans ce cas, le fruit se mange nature ou accompagné de sucre, à décortiquer grain par grain. Pour déguster commodément la grenade, il est préférable de prélever à la cuillère les petits grains pulpeux.

Ces grains peuvent également servir à garnir une salade de fruits, lui apportant une saveur sucrée acidulée.

La grenade peut aussi être employée pour la confection de sorbets ou coulis, en passant les grains pulpeux au moulin à légumes, afin d'obtenir un jus épais, sombre et parfumé, qui servira de base à ces préparations. [H]

Riche en pectines, le suc de grenade est également utilisé dans la préparation de gelées alimentaires. [s]

Le célèbre sirop de grenadine, fort apprécié des enfants, était autrefois réalisé avec des grenades fraîches, de préférence avec des fruits acides, tel que les variétés *Cagin* ou *acide de Patras*. La vraie grenadine, de couleur rouge vif, est un sirop concentré de suc de graines de grenade. Aujourd'hui, la grenade n'entre plus dans la composition du sirop de grenadine industriel, qui n'a gardé de la grenade que le nom, et qui est un assemblage de jus de fruits rouges, de vanille et d'acide citrique. [K]

Voici la recette du sirop de grenadine artisanal :

- Couper les grenades et récupérer les grains.
- Presser les grains pour en extraire le jus. Veiller à ne pas laisser des débris de peau blanche des cloisons, qui donneraient un goût amer à la préparation.
- Filtrer.
- Ajouter du sucre, de l'ordre de 2/3 du poids en jus.
- Faire cuire le mélange jus-sucre pour le faire réduire et épaissir.
- Rectifier l'acidité avec du jus de citron si besoin. [K]

En Iran et au Liban, on fait grand usage d'un concentré de jus de grenades acides. Ce concentré y est à peu près aussi répandu que le concentré de tomate dans notre pays. Il sert à préparer de nombreuses sauces et des plats aussi divers que des poissons farcis aux herbes, des légumes farcis à la viande, ou encore des ragoûts de viande agrémentés de légumes et/ou de fruits.

Mélangé à des noix hachées, il est la base d'une sauce aux noix au goût acidulé, que l'on sert avec des tranches d'aubergines frites.

En France, le concentré de grenade est en vente dans les épiceries orientales. [s]

En Turquie, les graines de grenade donnent une note colorée, acidulée et piquante aux salades, aux œufs sur le plat et aux desserts, comme le *keskul*, une crème de riz aux amandes. [s]

En Inde, on emploie les graines de variétés aigres de grenade comme condiment, appelé « anardana ». Les graines séchées au soleil, d'une couleur rouge noir et d'aspect poisseux, sont très prisées dans la cuisine indienne et pakistanaise pour leur goût piquant et leur parfum délicat. Réduites en poudre au mortier, elles acidulent les currys, les lentilles et la pâtisserie.

On trouve « l'anardana » dans toutes les épicerie indiennes. A défaut de ce condiment, il est tout de même possible de réaliser une recette indienne, en remplaçant « l'anardana » par du jus de citron, de saveur également acide et piquante. [s]

2. Choisir et conserver une grenade fraîche.

On trouve des grenades fraîches chez presque tous les marchands de fruits et légumes, à partir de la fin de l'automne et en hiver.

Pour bien choisir une grenade, il faut savoir que le fruit mûr émet un son métallique lorsqu'on le frappe du plat de la main. Il est conseillé de choisir des fruits lourds dans la main, signe qu'ils sont bien juteux. L'écorce du fruit doit être lisse, brillante et exempte de brunissures. Les petites grenades sont à éviter, car elles sont souvent sèches, ligneuses, âcres et de ce fait, immangeables. [I]

Une grenade fraîche se conserve plusieurs semaines au réfrigérateur. Le jus de grenade se conservera quelques jours, au réfrigérateur également. [I]

3. Intérêts nutritionnels de la grenade.

La grenade est très proche de la figue fraîche et de la mangue par sa valeur énergétique et sa teneur en glucides. Elle est très sucrée, mais la présence d'acide citrique la rend également acidulée. Elle est très juteuse. [H]

La grenade est aussi une source non négligeable de vitamine C. Cette vitamine antioxydante et anti-fatigue, contribue à la santé des os, des cartilages, des dents et des gencives. De plus, elle protège contre les infections, favorise l'absorption du fer contenu dans les végétaux et accélère la cicatrisation. [I]

Ce fruit fournit aussi de nombreuses vitamines du groupe B, et plus particulièrement de la vitamine B6, également connue sous le nom de pyridoxine. Cette dernière fait partie des coenzymes qui participent au métabolisme des protéines et des acides gras, ainsi qu'à la fabrication de neurotransmetteurs. De plus, elle collabore à la fabrication de globules rouges. Elle est aussi nécessaire à la transformation du glycogène en glucose et contribue au bon fonctionnement du système immunitaire. Enfin, cette vitamine joue un rôle dans la formation des cellules nerveuses. [I]

La grenade renferme également de nombreux oligo-éléments et minéraux, tels que le potassium, phosphore, calcium, magnésium, fer, zinc et cuivre. Ce dernier, le cuivre,

est nécessaire à la formation de l'hémoglobine et du collagène, et il entre dans la composition de nombreuses enzymes. [I]

La grenade, à condition d'en consommer les graines, est très riche en fibres insolubles, contenues dans le tégument de ces graines. [H]

Dans le tableau suivant, (figure 18), se trouvent résumées les valeurs nutritionnelles de la grenade, pour 100g de portion comestible. Les valeurs indiquées sont issues du fichier canadien sur les éléments nutritifs de 2007. [e]

Energie	68 kCal soit 284 kJ
Eau	80,97 g
Protéines	0,95 g
Lipides	0,30 g
Glucides	17,17 g
Fibres alimentaires	0,6 g
Calcium	3 mg
Fer	0,30 mg
Magnésium	3 mg
Phosphore	8 mg
Potassium	259 mg
Sodium	3 mg
Zinc	0,12 mg
Cuivre	0,070 mg
Sélénium	0,6 µg
α -carotène	50 µg
β -carotène	40 µg
Vitamine A	0
Vitamine B1	0,030 mg
Vitamine B2	0,030 mg
Vitamine B5	0,596 mg
Vitamine B6	0,105 mg
Vitamine B12	0
Vitamine C	6,1 mg
Vitamine D	0
Vitamine E	1 mg
Vitamine K	4,6 µg
Vitamine PP	0,300 mg

Figure 18 : Valeurs nutritionnelles de la grenade, pour 100g de portion comestible. [e]

C. Autres usages du grenadier.

1. Les teintures naturelles.

Le grenadier fournit de nombreux principes tinctoriaux, aux couleurs très variées, tels que le vert, une large palette de jaunes, des gris, bruns et noirs. Les parties utilisées de cet arbre sont essentiellement l'écorce des grenades, recueillie et séchée à mesure de la consommation des fruits, mais aussi l'écorce de la racine, des tiges et du tronc. [15]

L'écorce de la grenade, ou *malicorium*, contient environ 28% d'ellagitanins, tel que le flavogallol, de couleur jaune, la punicaline, la punicalagine, la punicacortéine, la punigluconine et les granatines A et B. [15]

La récolte des fruits se fait à l'automne. Un arbre pouvant fournir jusqu'à 1kg d'écorce de grenade séchée par an. [14]

Les substances colorantes issues du grenadier sont utilisées de façon traditionnelle, des montagnes du Maroc jusqu'aux cités-oasis de l'Asie centrale. Ainsi, le jaune d'or des tapis de laine des Aït Ighezrane du Moyen Atlas, les noirs des tentes des nomades du M'zab, en Algérie, les brun-noir d'un tapis « Kagizman » du nord est de l'Anatolie, les gris des soies des teinturiers de Yazd, en Iran, et les noirs des soies des teinturiers de Boukkara et de Samarkand, en Ouzbékistan, sont tous obtenus à partir du grenadier.

La plupart des techniques emploient des quantités comprises entre moitié et poids égal d'écorce par rapport au poids de fibres ou de tissus à teindre. [15]

Diverses méthodes de teinture permettent d'obtenir cette large palette de couleurs.

La technique du mordantage est très souvent employée en teinturerie. Elle consiste à appliquer une substance chimique, généralement un métal ionisé, le mordant, sur l'étoffe à colorer, afin de créer des ponts permettant l'accrochage du colorant sur son support. Ainsi, par utilisation d'un mordant à l'alun, on obtient des jaunes à jaune-brun et par utilisation d'un mordant au fer, des bruns, gris, et noirs.

Sans mordants, on obtient par décoction des écorces un jaune-fauve.

Dans les traditions de la teinturerie orientale, l'écorce des grenades permet aussi de réaliser des tons verts. En effet, en faisant bouillir le support à colorer, préalablement teinté en indigo, et mordancé à l'alun, dans une décoction d'écorce de grenade, on réalise de très beaux verts foncés. Par la même technique, mais avec un mordantage au fer, on crée des nuances plus sombres, allant du vert bouteille au vert émeraude. [15]

Les couleurs obtenues sont solides, très résistantes à la lumière et aux lavages. [14]

L'industrie européenne de l'impression des tissus va, au XIX^{ème} siècle, intégrer l'écorce de grenade et la racine de grenadier dans la vaste gamme des teintures naturelles. Ainsi, avant 1846, surgira la mode du « gris de grenade » ou « gris argentin » à l'écorce de grenade et au sulfate ferreux, mais aussi des teintes « bois » à la garance et à la racine de grenadier mordancées à l'alun et/ou au fer. [15]

Des tisserands perpétuent encore aujourd'hui la tradition des tisseurs à la main au Mexique, en employant des teintures immémoriales, dont notamment la grenade pour les verts tirant vers le jaune. [E]

2. Le tannage et la teinture des cuirs.

L'écorce de grenade servait au tannage et à la teinture des cuirs. Ainsi, c'est l'écorce de ce fruit qui était employée, avec mordantage à l'alun, pour donner leur belle couleur jaune aux cuirs marocains, utilisés par exemple pour la réalisation des babouches. [s]

Les teinturiers de cuir de Fez et Marrakech employaient les écorces de fruits verts pour réaliser des jaunes pâles et les écorces de fruits bien mûrs pour les tons dorés. [15]

Dans les années 1950, le grenadier fournissait, grâce à l'écorce de ses fruits, une matière tannante, sans emploi dans nos industries européennes, mais très utilisée dans le nord de l'Afrique pour la préparation des maroquins jaunes. [21]

3. L'encre.

L'écorce de la grenade fut quelquefois utilisée, pour remplacer la noix de galle, dans la préparation de l'encre. [21]

X. Composition chimique des différents organes du grenadier.

Déjà au XIX^{ème} siècle, le grenadier suscite un intérêt chez les chercheurs qui, avec des moyens très rudimentaires, ont ainsi mis en évidence certains principes actifs de cet arbre, tel que la pelletierine. Grâce aux relativement récents procédés d'analyse chimique, comme les techniques de chromatographie, de résonance magnétique ou encore de spectrométrie de masse, il a été possible d'identifier avec précision la composition des différents organes du grenadier.

A. L'écorce de la racine.

L'écorce de la racine de grenadier a été analysée d'abord par Mitouart, en 1824, qui en a retiré une matière grasse assez abondante, des tanins, de l'acide gallique, une matière résineuse, de la mannite, du sucre et « du ligneux ». [16]

Puis Latour de Trié, en 1831, trouve dans cette écorce de la chlorophylle, beaucoup de résine, des tanins, de la matière grasse, et une substance cristalline sucrée qu'il nomme « grenadine ». Cette dernière est blanche, sans odeur, cristallisée en choux-fleurs, et ne semble pas constituer le principe actif du végétal. Il sera montré par la suite que cette substance est simplement de la mannite. [16]

C'est en 1878 qu'un pharmacien français, Charles Tanret, découvre des alcaloïdes dans cette écorce, dont le principal qu'il appelle pelletierine, et 3 autres, qu'il nomme isopelletierine, pseudopelletierine et méthylpelletierine. [22]

Le nom de pelletierine fut choisi en l'honneur du célèbre pharmacien et chimiste français, Joseph Pelletier (1788-1842), à l'origine de la découverte de la quinine et de la strychnine. [44]

En 1899, Piccinini ajoute à cette liste un cinquième alcaloïde liquide, isomère de la méthylpelletierine, l'isométhylpelletierine. [22]

Vers 1918, deux allemands, Hess et Heckel, trouvent, dans l'écorce de la racine, des bases un peu différentes de celles mises en évidence par Tanret, qu'ils nomment l-pelletierine, d-l-pelletierine et méthylisopelletierine. [22]

Lebeau et Courtois, établirent plus tard la correspondance entre les bases découvertes par Tanret et celle de Hess et de ses collaborateurs. Ainsi la pelletierine de Tanret serait la l-pelletierine de Hess, l'isopelletierine la d-l-pelletierine, et la méthylpelletierine la méthylisopelletierine. [22]

Ces alcaloïdes représentent environ 0,70% de l'écorce de racine du grenadier. [44]

La pelletière, $C_8H_{15}ON$, est un liquide huileux incolore, bouillant à 195° sous la pression atmosphérique, 125° sous une pression de 100mm de mercure, 106° sous 21mm de mercure. Soluble dans 20 fois son poids d'eau, soluble en toute proportion dans l'éther et le chloroforme. D'abord décrite comme dextrogyre et donnant des sels lévogyres, cette base est lévogyre à l'état libre. [22]

L'isopelletière, isomère de la précédente, est un alcaloïde liquide optiquement inactif, bouillant entre 102 et 107° sous une pression de 11mm de mercure. [22]

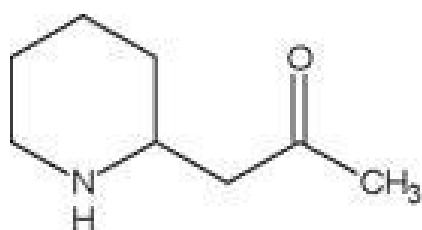
La méthylpelletière est décrite comme un liquide huileux bouillant à $106-108^\circ$ sous 45mm de mercure. Elle est soluble dans 25 fois son poids d'eau à 12° , très soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme. Ses sels sont très hygroscopiques. [22]

La pseudopelletière, isolée par Tanret en 1978, cristallise en tablettes prismatiques fondant à 48° , solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther et le chloroforme. [22]

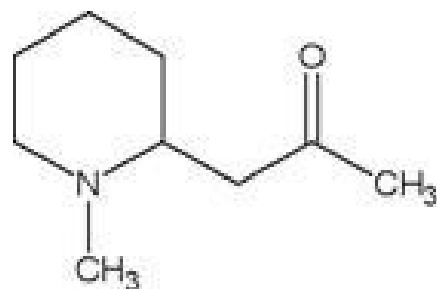
En plus de ces alcaloïdes, les écorces de racine de grenadier contiennent une quantité importante de matières minérales, de l'ordre de 10 à 12%, correspondant à la richesse en oxalate de calcium. [44]

Elles renferment également environ 20 à 22% de tanins. [22]

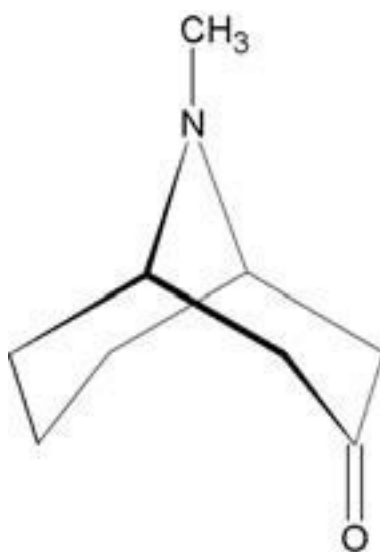
Plus récemment, l'analyse complète de cette écorce par des techniques modernes, met en évidence la présence d'ellagitannins tels que la punicaline, la punicalagine, les punicalcortéines A, B, C et D, et la punigluconine, ainsi que des alcaloïdes pipéridiniques autres que la pelletière et ses dérivés. [35]



Pelletiérine



Méthylpelletiérine



Pseudopelletiérine

Figure 19 : Les alcaloïdes de l'écorce de racine du grenadier, mis en évidence par Charles Tanret [35]

B. L'écorce du tronc du grenadier.

L'écorce de l'arbre, ainsi que tous les autres organes du grenadier, hormis l'écorce de racine, n'ont presque pas été étudiés par les chercheurs du XIX^{ème} siècle. C'est seulement depuis quelques années, et avec des procédés modernes, que l'analyse chimique du grenadier dans son intégralité a été réalisée.

Ainsi, l'écorce du grenadier se compose d'ellagitanins comme la punicaline, la punicalagine, la puniacortéine A, B, C et D, la punigluconine. Elle contient aussi des alcaloïdes tels que la pelletière, la méthylpelletière et la pseudopelletière. [35]

C. Les feuilles.

Les feuilles du grenadier contiennent des flavones, telles que la lutéoline et l'apigénine. Cette dernière posséderait des propriétés anxiolytiques. [35]

Elles renferment également des tanins, comme la punicaline et la punicalagine. [35]

D. Les fleurs.

Les fleurs du grenadier contiennent de l'acide gallique et des triterpènes comme l'acide ursolique, acide oléanolique, acide asiatique, acide maslinique. [35]

E. La peau de la grenade ou *malicorium*.

La peau du fruit contient deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, molécules de coloration jaune, et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. De nombreux ellagitanins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B. [35]

Ces tanins représentent jusqu'à 28% de la peau du fruit. [21]

La pelletière pourrait aussi se trouver dans la peau de la grenade. En effet, deux méthodes de dosage des alcaloïdes, utilisant le réactif de Dragendorff pour l'une et le réactif de Mayer pour l'autre, s'opposent. La méthode utilisant le réactif de

Dragendorff s'avère répondre positivement à la présence de pelletière, l'autre méthode négativement. [35]

F. Le jus de grenade.

Le jus de grenade, comme de nombreux jus de fruits, se compose de sucres tels que le glucose, fructose et saccharose, d'acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide ascorbique, l'acide gallique et l'acide ellagique, ainsi que d'acides aminés comme la valine, proline et méthionine. [35]

Il contient aussi des flavanols et des indole-amines comme la tryptamine, la sérotonine, neuromédiateur qui intervient dans la régulation du sommeil, de l'appétit et de l'humeur, et la mélatonine, connue sous le nom « d'hormone du sommeil », intervenant dans la régulation des rythmes chronobiologiques. [35]

Enfin, sa teneur en anthocyanines, puissantes molécules antioxydantes, fournissant au jus de grenade sa couleur brillante, augmente jusqu'à maturité du fruit, et diminue après la pression du fruit. [35]

G. Les graines.

L'huile, obtenue à partir des graines de grenade, se compose à 80% d'acides gras insaturés, acides gras présentant au moins une double liaison, essentiellement représentés par l'acide punicoïque, acide *cis-9,trans-11,cis-15*,octadécatriénoïque, mais également par les acides oléiques et linoléiques.

Cette huile se compose aussi d'acides gras saturés, qui ne présentent aucune double liaison, comme les acides palmitique et stéarique. [35]

Il a été mis en évidence l'existence d'hormones stéroïdiennes dans les graines de grenade. En effet, la 17 α -oestradiol, l'oestrone, l'oestriol et la testostérone sont présentes.

De plus, ces graines contiennent aussi de nombreux stérols, comme le cholestérol ou le stigmastérol.

Enfin, elles renferment aussi un glycolipide entrant dans la composition des gaines de myéline des mammifères, le cérébroside. [35]

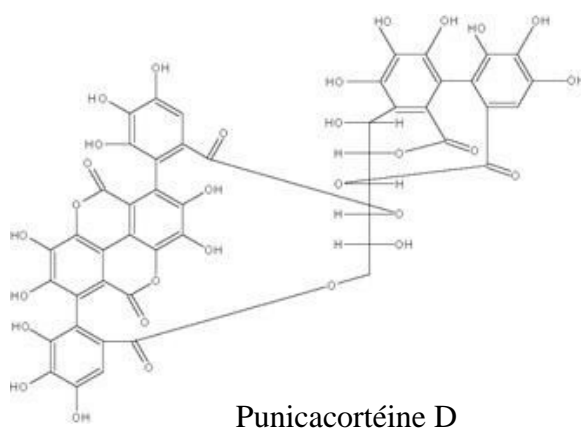
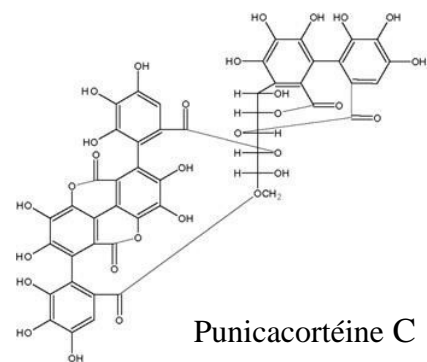
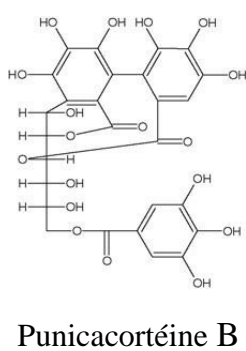
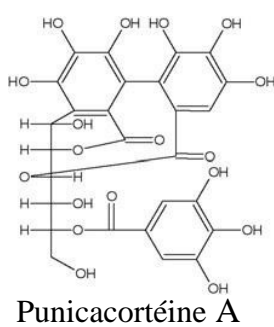
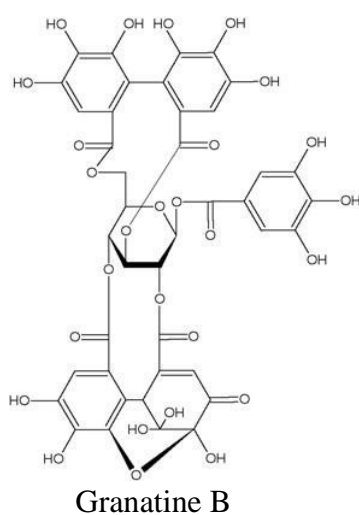
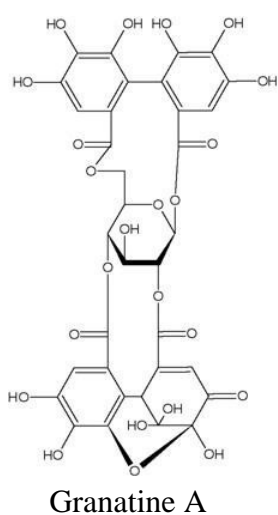
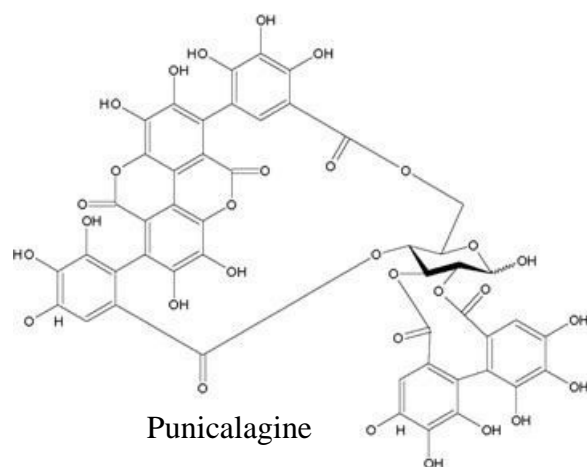
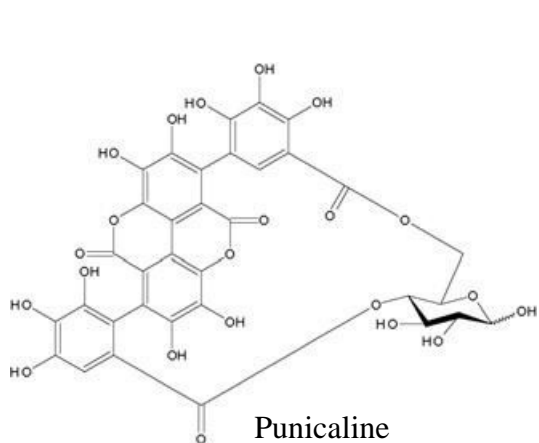
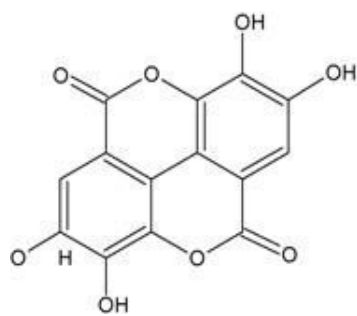
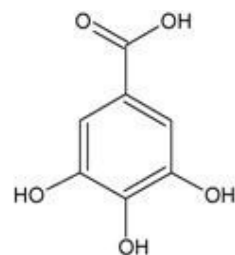


Figure 20 : Les ellagitannins du grenadier. [35]

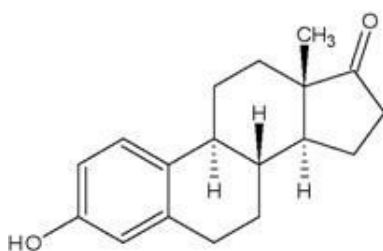


Acide ellagique

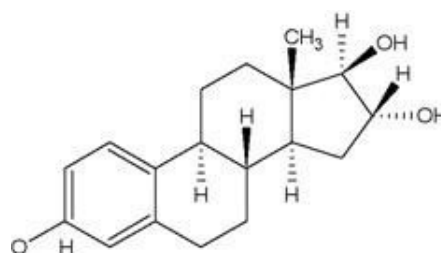


Acide gallique

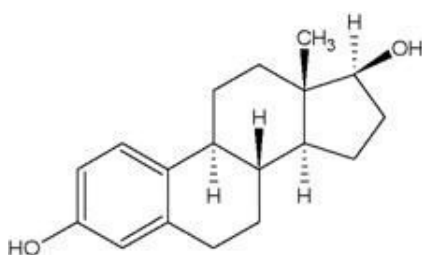
Figure 21 : Les acides hydroxybenzoïques du grenadier. [35]



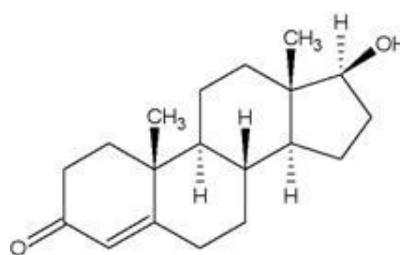
Oestrone



Oestriol



17 α -oestradiol



Testostérone

Figure 22 : Les hormones stéroïdes du grenadier. [35]

XI. Toxicité du grenadier.

L'écorce du grenadier, au XIX^{ème} siècle, souvent utilisée pour ses propriétés anthelminthiques, semble montrer quelques effets secondaires non négligeables. Ainsi, après administration d'une décoction d'écorce de racine, il fut observé, chez plusieurs patients, l'apparition de vertiges, d'étourdissements, d'une sorte d'ivresse, parfois des syncopes, et de légers mouvements convulsifs. Cependant, ces accidents étant fugaces et ne laissant aucune trace après leur manifestation, ils furent tolérés par les médecins de l'époque. [16]

Un cas d'intoxication est cependant rapporté. Chez un malade, l'administration de deux doses de 0,30g de sulfate de pelletiérine a provoqué une paralysie spasmodique, que les auteurs rattachent directement à l'ingestion du médicament. [22]

L'écorce de racine de grenadier montre néanmoins une très grande efficacité sur les ténias. Elle semblerait agir aussi contre d'autres parasites intestinaux tels que les ascaris et les ankylostomes. [22]

L'action de la pelletiérine sur les ténias paraît très spécifique. En effet, ce principe actif semble intoxiquer le ver, que l'on retrouve toujours mort, pelotonné sur lui-même, et souvent noué fortement à plusieurs endroits de sa longueur. [16]

Quelques expériences sont d'abord réalisées sur les ténias, au milieu du XIX^{ème} siècle. Breton, ayant jeté des ténias vivants dans une décoction d'écorce de racine de grenadier, les vit se contracter aussitôt avec vivacité et mourir au bout de quelques minutes. Par opposition, d'autres ténias, plongés dans de l'eau simple, vécurent plusieurs heures.

Un autre chercheur, Gomès, s'aperçu que des portions de ténia vivant, jetées dans la décoction d'écorce de racine de grenadier, deviennent raides, contractées, et meurent presque aussitôt, alors que d'autres portions, plongées dans de l'essence de térébenthine, substance parfois utilisée à l'époque comme anthelminthique, restent à se mouvoir avec plus ou moins de vivacité. [16]

D'autres expériences sont ensuite effectuées sur diverses espèces animales, à partir de la pelletiérine et de ses dérivés.

Sur le muscle isolé de grenouille, la pelletiérine créa d'abord une augmentation du tonus, de la contractilité et de la résistance à la fatigue, suivie d'une diminution du tonus avec perte de l'excitabilité.

Chez l'huître, une dose liminaire de pelletiérine accéléra le rythme cardiaque, et des doses élevées entraînèrent une forte action inotrope positive. En effet, l'huître présente un cœur muni d'une oreillette et d'un ventricule. Ce cœur est doué d'automatisme. Il bat à une fréquence de 20 à 30 contractions par minute.

Une administration de 0,15 à 0,20g de pelletiérine suffit à tuer un lapin.

Ce principe actif semble être un toxique très violent. [22]

Par la suite, il est démontré que la pelletiérine et l'isopelletiérine, un peu moins active, paralysent les nerfs moteurs, à la façon de la conicine ou du curare. Ils agissent sur la plaque motrice de ces nerfs, tout en laissant à la fibre musculaire sa contractilité, et aux nerfs sensitifs leur sensibilité.

Au point de vue circulatoire, ils produisent une élévation brusque et passagère de la pression artérielle, avec diminution de volume du rein. Cette action se traduit, chez l'homme, par des fourmillements, des maux de tête, des vertiges, de la faiblesse, des crampes dans les mollets ou l'estomac, des troubles visuels, et à plus forte dose, des paralysies. [21]

Vis-à-vis du système nerveux, pelletiérine et isopelletiérine se conduisent, à peu près, comme la nicotine, excitant à petite dose les ganglions autonomes, et les paralysant ensuite.

Sur les centres nerveux, la pelletiérine produit également une exagération de l'excitation réflexe, au point de déclencher des convulsions. [21]

Il a aussi été constaté, chez des patients infestés par un ténia, quelques cas mortels, après administration de pelletiérine à dose médicinale. [21]

L'usage de la pelletiérine et de ses dérivés, montrant un réel danger pour l'homme, est abandonné. Seule l'homéopathie continue d'utiliser l'écorce sèche de la tige et de la racine, sous forme d'une teinture brune, à odeur vineuse agréable, et à saveur amère et très astringente, contre le vers, les nausées, les vomissements et les spasmes de la glotte. [21]

Il a, par la suite, été démontré, que la pelletiérine et ses dérivés peuvent agir comme le curare, puissant poison paralysant. D'après les recherches de Tiffeneau, vers 1920, ces molécules sembleraient, au point de vue cardio-vasculaire, se comporter à la façon de l'adrénaline. [21]

XII. Propriétés thérapeutiques de *Punica granatum*.

A. Propriétés antioxydantes de la grenade.

Un rapport de l'OMS, datant de novembre 2003, sur l'alimentation, la nutrition et la prévention des maladies chroniques, recommande la consommation journalière d'au moins 400g de fruits et de légumes (à l'exclusion des féculents tels que les pommes de terre) pour prévenir les maladies chroniques, et notamment les cardiopathies, les cancers, le diabète de type II et l'obésité. [R]

Les effets bénéfiques sur la santé qui sont attribués à la consommation de fruits et de légumes sont, au moins en partie, liés à leurs activités antioxydantes. En effet, chez les végétaux comestibles, on compte plusieurs centaines de molécules antioxydantes. Parmi les plus connus de ces antioxydants naturels, on trouve la vitamine C et la vitamine E, les caroténoïdes (β -carotène et lycopène), et les polyphénols (tanins, flavonoïdes, anthocyanes).

Pour qu'un composé soit défini comme antioxydant, il doit satisfaire à deux conditions :

- Présent à faible concentration par rapport au substrat oxydé, il doit retarder ou empêcher l'auto-oxydation ou l'oxydation causée par des radicaux libres.
- Les radicaux libres neutralisés par ce composé doivent former une entité stable, afin d'interrompre la chaîne des réactions d'oxydation.

1. Propriétés antioxydantes des différents organes du grenadier.

Des analyses ont été réalisées afin de déterminer la teneur en principes actifs antioxydants au sein des différents organes du grenadier. Des extraits éthanoliques de ces différents organes ont été examinés afin d'extraire les polyphénols. La concentration totale en polyphénols serait la plus importante dans l'écorce du grenadier, un peu plus faible dans la tige et dans le jus de fruits entiers, et la plus faible dans les feuilles.

Afin d'analyser la composition des différentes parties du grenadier ayant des propriétés antioxydantes, plusieurs types de polyphénols ont été isolés. Il semble que les tanins constituent le type de polyphénols ayant la plus puissante activité antioxydante dans les différents organes du grenadier. Ainsi, la concentration en tanins de chacun de ces organes a été mesurée (Figure 23). En concordance avec la composition chimique du grenadier (voir partie « X. Composition chimique des différents organes du grenadier » page 48), les tiges et l'écorce ont été analysés comme étant les organes de cet arbuste les plus riches en tanins. [49]

Tous ces extraits présentent également un fort pouvoir inhibiteur sur la peroxydation des LDL (Low Density Lipoprotein), c'est-à-dire sur l'oxydation des lipides sous l'action des radicaux libres, processus en cause dans le phénomène d'athérosclérose. Ce pouvoir inhibiteur a été mis en évidence par la technique de dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (dosage des TBARS). Cette technique permet de doser le malondialdéhyde, un des produits formé par la décomposition des acides gras sous l'action des radicaux libres. Il apparaît que les extraits de tiges et d'écorces sont les plus efficaces pour limiter l'oxydation des LDL (Figure 24).

Ainsi, toutes les parties du grenadier contiennent des polyphénols, les tiges et l'écorce étant les plus riches en tanins. Parallèlement, ces deux organes démontrent des propriétés antioxydantes plus marquées pour lutter contre l'oxydation des LDL. La capacité de lutte contre la peroxydation du grenadier semble donc être liée, en partie au moins, à la présence de tanins antioxydants. [49]

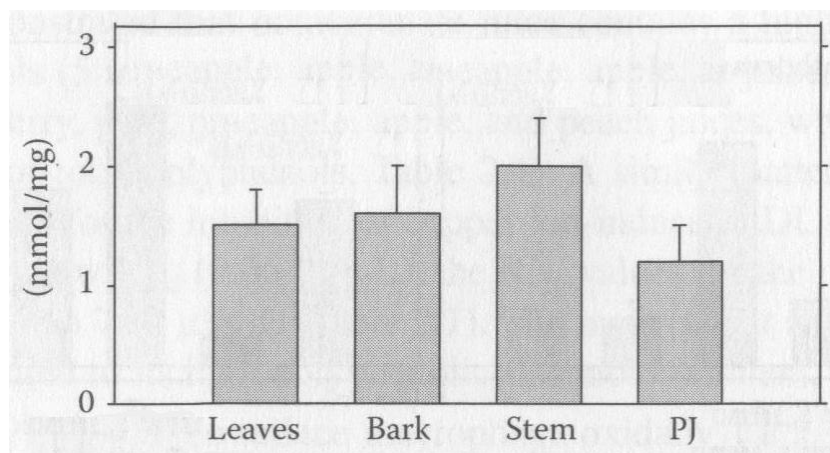


Figure 23 : Concentration totale en tanins (en mmol/mg) d'extraits éthanoliques de feuilles (leaves), écorce (bark), tige (stem) et jus de fruits entiers (PJ = Pomegranate Juice) du grenadier. [49]

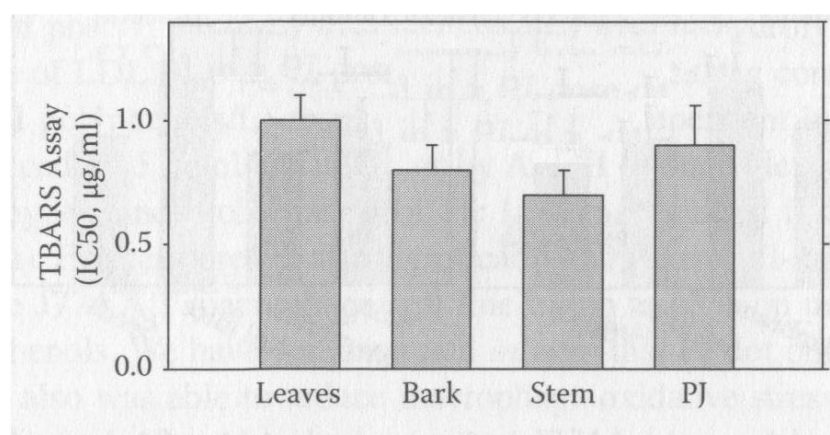


Figure 24 : Concentration en polyphénols (en µg/ml) permettant d'inhiber 50% de peroxydation lipidique au moyen d'extraits éthanoliques de feuilles (leaves), écorce (bark), tige (stem) et jus de fruits entiers (PJ = Pomegranate Juice) du grenadier. [49]

2. Propriétés antioxydantes des différentes parties de la grenade.

Selon les mêmes méthodes, des analyses ont été effectuées sur la grenade afin de déterminer quelle partie de ce fruit est la plus riche en antioxydants. Ainsi des extraits éthanoliques de la peau, des membranes, du jus des arilles et des graines sont constitués. La quantité d'anthocyanes et de tanins présents dans chacun de ces extraits est mesurée et exprimée dans les figures 25 et 26 qui suivent. Il semble que les extraits des membranes soient les plus riches à la fois en anthocyanes et en tanins. [49]

De la même façon que précédemment, la concentration minimale de ces différents extraits permettant d'inhiber de 50% l'oxydation des LDL a été mesurée, en utilisant la technique de dosage des TBARS. D'après les figures 27 et 28, représentant respectivement des concentrés d'anthocyanes et de tanins de la grenade, il apparaît que la partie la plus active du fruit, pour inhiber la peroxydation lipidique, est la membrane. La partie la moins active étant le jus des arilles.

D'après cette étude, il semble donc exister une relation entre la concentration d'un aliment en polyphénols (anthocyanes ou tanins), et sa capacité à inhiber la peroxydation des LDL. Ainsi, plus un aliment est riche en ces composés et plus il présente un fort pouvoir antioxydant. [49]

La teneur des différentes parties de ce fruit en anthocyanes et tanins montre clairement que, pour bénéficier des pouvoirs antioxydants de la grenade, il est nécessaire de consommer le jus de fruits obtenu à partir de l'intégralité du fruit, et non pas celui obtenu à partir du jus des arilles uniquement.

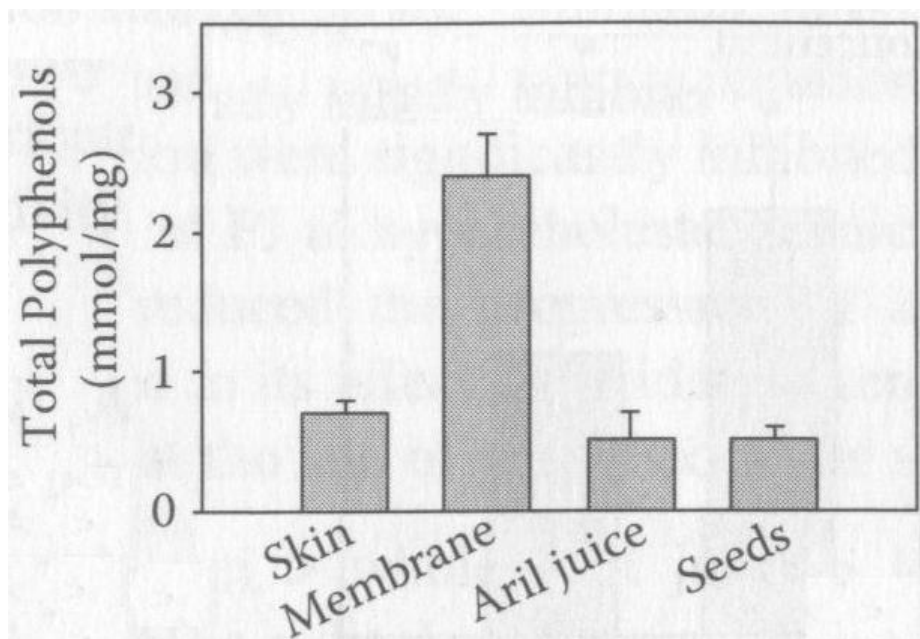


Figure 25 : Concentration en anthocyanes (en mmol/mg) d'extraits éthanoliques de peau (skin), membrane (membrane), jus d'arilles (aril juice) et graines (seeds) de la grenade. [49]

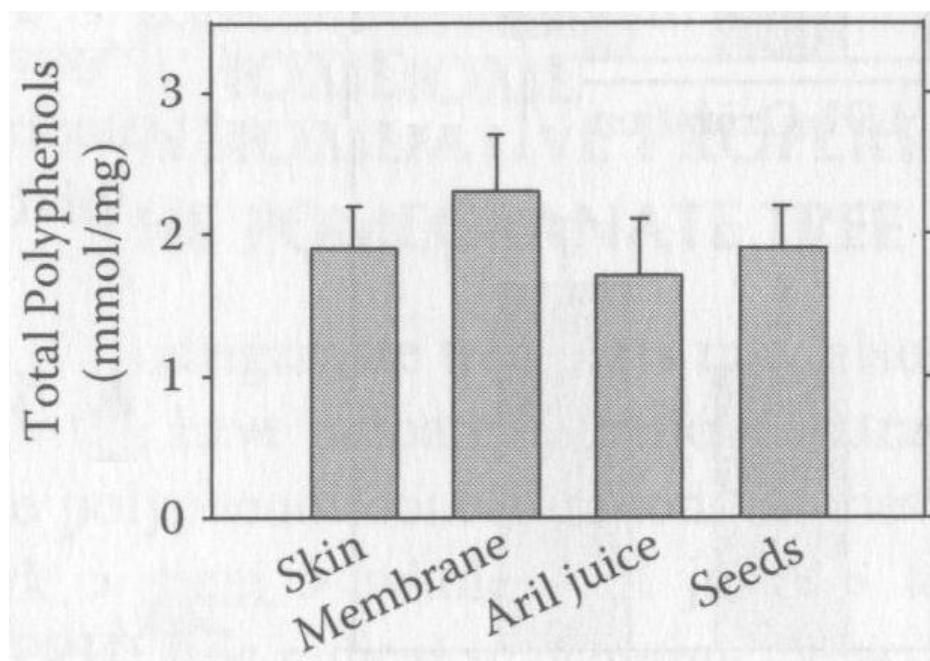


Figure 26 : Concentration en tanins (en mmol/mg) d'extraits éthanoliques de peau (skin), membrane (membrane), jus d'arilles (aril juice) et graines (seeds) de la grenade. [49]

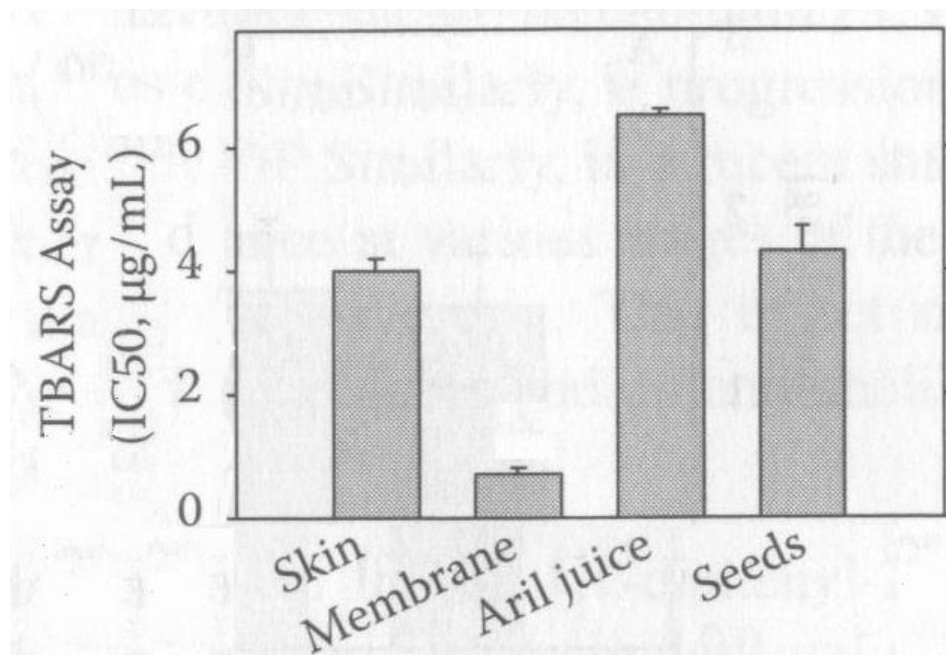


Figure 27 : Concentration en anthocyanes (en µg/ml) permettant d'inhiber 50% de peroxydation lipidique au moyen d'extraits éthanoliques de peau (skin), membrane (membrane), jus d'arilles (aril juice) et graines (seeds) de la grenade. [49]

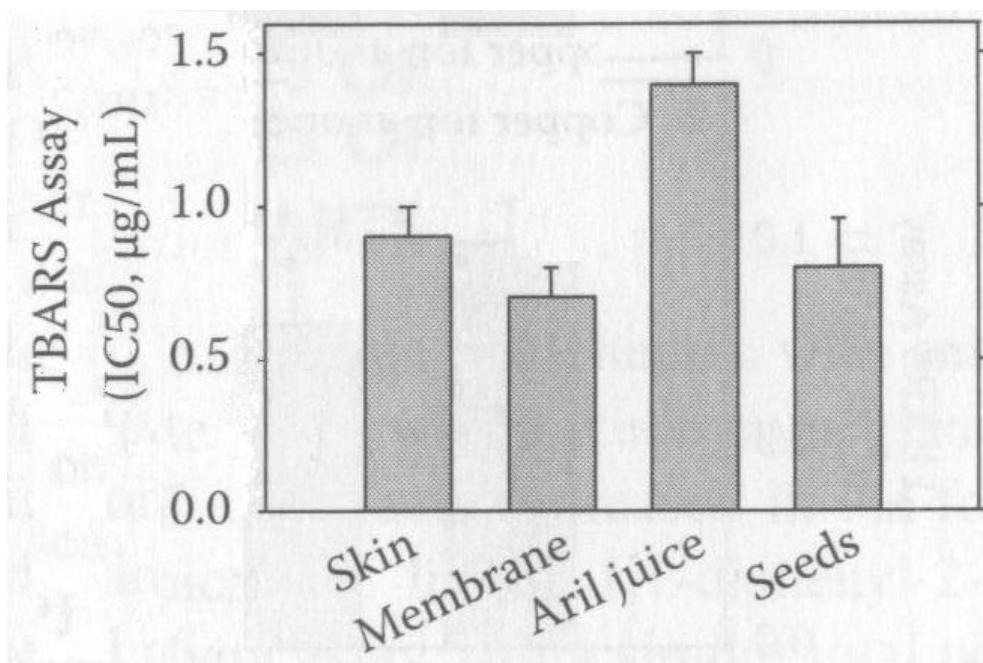


Figure 28 : Concentration en tanins (en µg/ml) permettant d'inhiber 50% de peroxydation lipidique au moyen d'extraits éthanoliques de peau (skin), membrane (membrane), jus d'arilles (aril juice) et graines (seeds) de la grenade. [49]

3. Propriétés antioxydantes du jus de grenade comparé au jus d'autres fruits.

Une étude, menée par Gil *et al.* [24], pour évaluer le pouvoir antioxydant de différents fruits, par la méthode mesurant la capacité antioxydante en équivalent trolox (TEAC), a montré que les jus de grenade du commerce ont une activité antioxydante (18-20 TEAC) trois fois supérieure à celle du vin rouge et du thé vert (6-8 TEAC).

Cette même étude a mis en évidence le fait que l'activité antioxydante est plus élevée dans les jus du commerce élaborés à partir de fruits entiers que dans les jus expérimentaux obtenus uniquement à partir des arilles de grenade (12-14 TEAC). Des analyses par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) montrent que les jus du commerce contiennent de la punicalagine, tanin présent à hauteur de 1500-1900 mg/L, alors que seules des traces de cette molécule sont décelées dans les jus mis au point en laboratoire. Le procédé industriel de fabrication du jus de grenade permet l'extraction de tanins hydrosolubles contenus dans la peau et les membranes du fruit, ce qui explique vraisemblablement la plus forte activité antioxydante des jus du commerce.

Dans une étude [5], basée sur l'analyse spectrophotométrique du jus de grenade, du vin rouge, du jus de myrtille, du jus de canneberge (cranberry), du jus d'orange et du thé vert, on constate que le jus de grenade possède la plus forte capacité de destruction des radicaux libres. Le jus de grenade serait le plus efficace de ces jus de fruits pour diminuer l'oxydation des LDL et inhiber le stress oxydatif cellulaire dans les macrophages.

D'autres expériences ont été menées afin de comparer le pouvoir antioxydant du jus de grenade à celui d'autres jus de fruits. Les résultats de celle-ci sont répertoriés dans le tableau qui suit (Figure 29). Dans ces expériences, d'une part, la teneur en polyphénols des jus de fruits a été mesurée (1).

D'autre part, la concentration minimale de ces différents jus, permettant d'inhiber de 50% l'oxydation des LDL, a été mesurée (2), en utilisant la technique de dosage des TBARS.

Enfin, la capacité de ces jus de fruits à éliminer les radicaux libres a également été analysée (3), utilisant la méthode au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH est connu pour mettre en évidence la capacité des composés à agir en tant qu'« éboueurs » de radicaux libres.

Les résultats de cette expérience conduisent le jus de grenade en tête des onze jus de fruits étudiés. D'une part, le jus de grenade présente la plus forte concentration en polyphénols. D'autre part, il possède le plus fort pouvoir pour inhiber l'oxydation des LDL. Enfin, il montre la plus grande capacité à bloquer les radicaux libres.

Le jus de grenade, réalisé à partir de fruits entiers, semble donc être un très bon antioxydant.

Jus de fruit concentré	Concentration en polyphénols (mmol/L) (1)	Concentration minimale inhibant 50% d'oxydation des LDL (µL/mL) (2)	Capacité à bloquer les radicaux libres (% de réduction) (3)
Grenade (Pomegranate)	5,0	0,06	95
Prune rouge (Red plum)	4,5	0,11	80
Grappe de raisin (Grape)	3,3	0,70	47
Canneberge (Cranberry)	2,5	1,00	47
Kiwi (Kiwi)	2,2	0,33	70
Orange (Orange)	1,6	1,60	11
Pamplemousse (Grapefruit)	1,5	1,40	16
Pomme (Apple)	1,4	1,20	55
Ananas (Pineapple)	1,1	1,00	27
Poire (Pear)	1,1	7,50	5
Pêche (Peach)	1,0	2,25	30

Figure 29 : Comparaison entre le jus de grenade et le jus d'autres fruits : concentration en polyphénols et activité antioxydante. [49]

4. La grenade et les marqueurs de l'oxydation et de la peroxydation.

Une molécule antioxydante est un composé capable de neutraliser les radicaux libres. Ces molécules jouent un rôle important dans la lutte contre le vieillissement de notre organisme et le maintien de son intégrité. Elles sont, par exemple, capables de prévenir et de réduire l'incidence des cancers. Au sein de la vaste famille des molécules antioxydantes, on trouve des enzymes telles que la catalase, la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPO) et la glutathion réductase. Plus l'activité de ces enzymes est forte, plus le composé analysé possède un pouvoir antioxydant marqué.

La peroxydation, c'est-à-dire l'oxydation des graisses par les radicaux libres, est un processus de vieillissement naturel qui conduit à l'altération de nombreux constituants de l'organisme comme, entre autres, les membranes des cellules ou les mitochondries. Ce processus de dégradation libère des produits qui sont généralement utilisés comme marqueurs de la peroxydation. Ces marqueurs sont essentiellement le malondialdéhyde (MDA), les hydroperoxydes et les diènes conjugués. Plus ces marqueurs sont présents et plus l'oxydation des lipides est accrue.

C'est en utilisant ces différents paramètres qu'une équipe de chercheurs indiens a étudié le pouvoir antioxydant d'extraits de grenade [53]. Ces chercheurs ont comparé d'une part l'activité d'enzymes antioxydantes, la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase, et d'autre part, la concentration en marqueurs de la peroxydation, le malondialdéhyde, les hydroperoxydes et les diènes conjugués, sur des populations de rats, complémentées ou non, pendant 45 jours, en extraits de grenade riches en flavonoïdes.

L'étude révèle que la population complémentée en extraits de grenade présente, au niveau de ses organes vitaux, foie, cœur et rein, une concentration beaucoup plus faible en marqueurs de la peroxydation.

Egalement, cette population complémentée en flavonoïdes issus de la grenade, semble présenter, dans ces mêmes organes, des enzymes antioxydantes à l'activité beaucoup plus développée que dans la population non complémentée.

D'après l'ensemble de ces résultats, il a été conclu que les flavonoïdes de grenade possèdent de significantes propriétés antioxydantes et antiperoxydatives.

B. Protection contre les maladies cardiovasculaires.

L'athérosclérose est, de loin, la première cause de mortalité au niveau mondial, et à l'origine de la plupart des maladies cardiovasculaires. Cette maladie, d'évolution lente, ne se manifeste qu'après plusieurs années d'évolution. De ce fait, la prévention et le dépistage de cette pathologie, plus que son traitement, sont aujourd'hui capitaux.

1. L'athérosclérose et ses facteurs de risque.

a. Définition de l'athérosclérose.

Déjà en 1740, le médecin allemand Krell décrivait, pour la première fois, des concrétions calciques au niveau de la paroi artérielle, qu'il appela « plaques osseuses ». C'est près de cent ans plus tard, en 1833, qu'apparaîtra le terme d'athérosclérose, nom donné à ce durcissement de la paroi artérielle, par un médecin strasbourgeois, le docteur Lobstein.

L'OMS, en 1958, définissait l'athérosclérose comme étant « une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre, consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires ; le tout s'accompagnant de modifications de la média. L'athérosclérose est un type d'artériosclérose. »

b. Epidémiologie de l'athérosclérose.

L'athérosclérose est une maladie aux répercussions multiples. Les conséquences de la formation de plaques d'athérome se manifestent à différents niveaux. Elles sont, par exemple, responsables d'affections aiguës telles que :

- Des cardiopathies ischémiques dues à l'athérosclérose des artères coronaires.
- D'accidents vasculaires cérébraux (AVC) dus à l'athérosclérose des artères encéphaliques.
- D'artérites dues, dans 90% des cas, à l'athérosclérose des artères des membres inférieurs.
- D'ischémies aiguës des membres.

L'athérosclérose peut toucher toutes les artères.

Les complications de l'athérosclérose sont responsables des deux premières causes de mortalité dans le monde : les ischémies cardiaques (ou attaques cardiaques ou infarctus du myocarde ou IDM), et les accidents vasculaires cérébraux (ou AVC ou attaques cérébrales).

Outre ces conséquences, ces accidents, lorsqu'ils ne sont pas mortels, sont aussi à l'origine de séquelles fonctionnelles sévères telles que paralysies, troubles sensitifs, troubles du langage dans les AVC, et apparition d'une insuffisance cardiaque, de troubles du rythme dans le cas d'un infarctus du myocarde.

c. Facteurs de risque de l'athérosclérose.

Les facteurs de risques de l'athérosclérose sont très nombreux. Parmi les plus fréquents, on trouve tout d'abord des facteurs non modifiables tels que l'âge, le sexe (les hommes sont plus touchés que les femmes car celles-ci bénéficient d'une protection hormonale jusqu'à la ménopause), un terrain héréditaire (plusieurs membres de la famille décédés de maladies cardiovasculaires).

D'autre part, des facteurs modifiables peuvent accélérer l'évolution de cette pathologie. En effet, les hyperlipidémies, un taux de LDL plasmatiques élevé, l'hypertension artérielle, le tabagisme, l'obésité, le diabète, la sédentarité, les excès alimentaires, la prise de contraceptifs oraux fortement dosés, le stress, sont des facteurs de risque de l'athérosclérose que l'on peut éviter par le respect de certaines règles hygiéno-diététiques ou par la prise de certains médicaments (fibrates, statines).

2. Physiopathologie de l'athérosclérose.

La paroi des artères est constituée de 3 tuniques superposées : la tunique interne, l'intima, composée d'une couche unique de cellules endothéliales. La tunique intermédiaire, la média, constituée de cellules musculaires lisses bien organisées. La tunique externe, l'adventice, est l'enveloppe conjonctive qui entoure l'ensemble.

La création d'une plaque d'athérome, ou athérogénèse, est un processus lent, marqué par différentes étapes, qui sont (voir illustrations Figure 30):

- Pénétration des LDL au niveau de l'intima. (1)
- Oxydation de ces LDL. (2)
- Activation des cellules endothéliales : adhésion des monocytes à l'endothélium et pénétration de ces monocytes au niveau de l'intima. (3) et (4)
- Formation des cellules spumeuses à partir des macrophages et des cellules musculaires lisses (CML). (5)
- Prolifération des cellules musculaires lisses et migration de ces cellules de la média vers l'intima. (6)
- Sécrétion de collagène, de fibres élastiques et de protéoglycanes (PG) par les cellules musculaires lisses. (7)
- Accumulation de tissu conjonctif (TC), de lipides, de cellules musculaires lisses et de cellules spumeuses. (8)
- Formation du noyau lipidique à partir des éléments lipidiques accumulés. (9)
- Ulcération de la paroi vasculaire et mise à nu du sous endothélium. (10)
- Adhésion et activation plaquettaire provoquant une thrombose. (11)

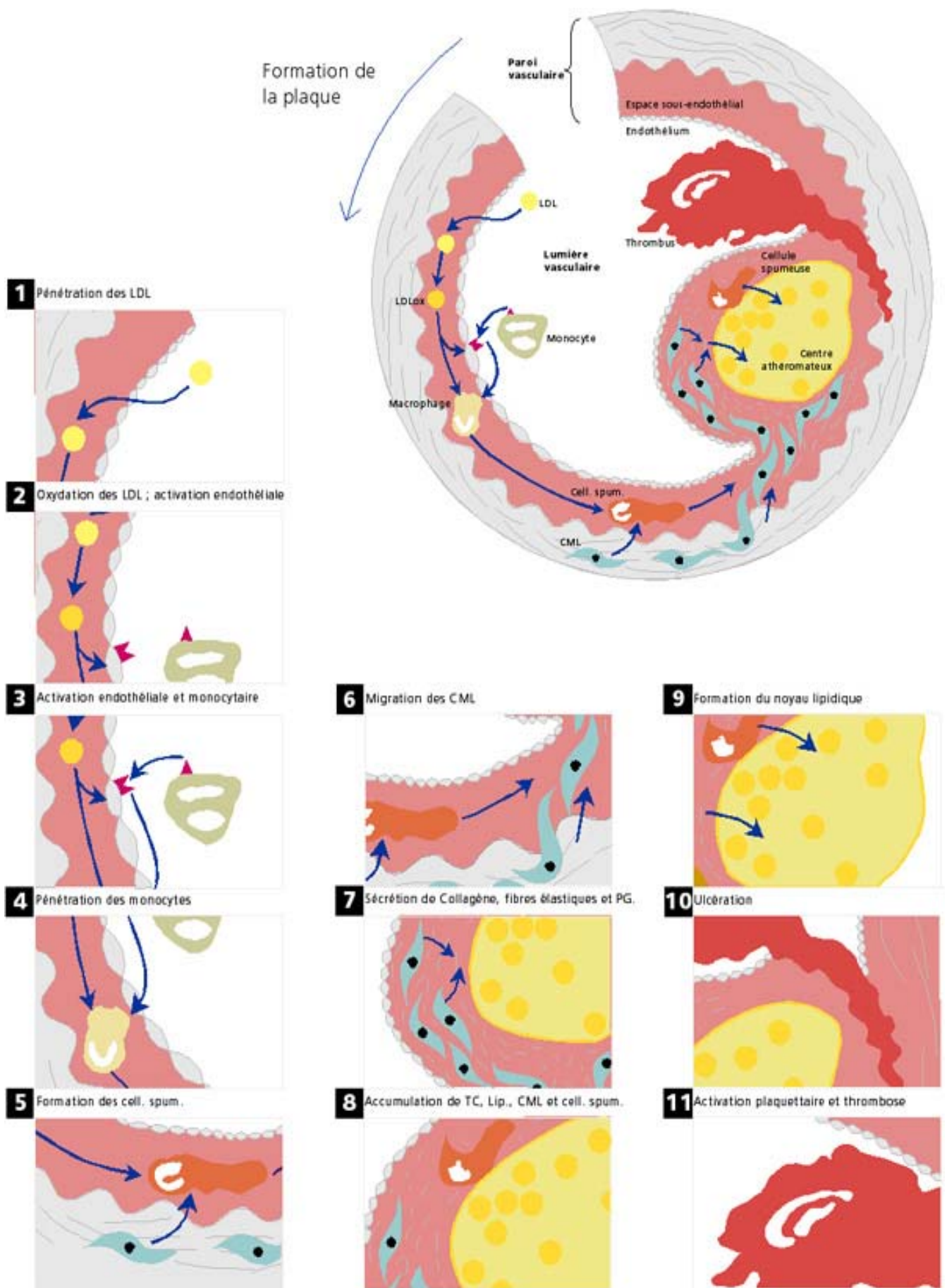


Figure 30 : Formation de la plaque d'athérome : vue générale et détail des étapes. [q]

3. La grenade et l'athérosclérose.

a. Action sur les lipides sanguins.

* HDL et LDL.

Il est admis depuis longtemps que le seul taux sanguin de cholestérol ne donne que peu d'indications sur les risques de développer des maladies cardiovasculaires. Ce qui est déterminant, c'est le rapport entre le HDL cholestérol (High Density Lipoprotein cholestérol), le « bon cholestérol », et le LDL cholestérol (Low Density Lipoprotein cholestérol), le « mauvais cholestérol ». Le HDL-cholestérol est qualifié de facteur vasculoprotecteur. En effet, le HDL absorbe le cholestérol excédentaire dans les vaisseaux sanguins et le ramène vers le foie, où le cholestérol sera excrété, avec les sucs biliaires, dans l'intestin. Ainsi, le cholestérol excédentaire ne se dépose pas sur les parois artérielles. Il a été démontré qu'une augmentation du taux de HDL sérique de 1mg/dL permet de réduire de 2 à 3% le risque de maladie cardiovasculaire.

L'administration de 50 mL par jour de jus de grenade (soit 1,5mmol de polyphénols), chez des patients en bonne santé, durant deux semaines, n'a pas permis de montrer une action significative sur le profil des lipides plasmatiques, que ce soit sur la concentration du cholestérol total, des LDL cholestérol, des VLDL cholestérol, des HDL cholestérol ou des triglycérides. De façon similaire, aucune modification n'a été constatée sur la concentration des lipides plasmatiques chez des souris hypercholestérolémiques, après la consommation de jus de grenade, en comparaison avec les mêmes souris non complémentées. [49]

Les polyphénols du jus de grenade semblent donc n'avoir aucune action sur la répartition et les concentrations des lipides plasmatiques.

* Le stress oxydant.

Le stress oxydant (ou stress oxydatif) est une agression des constituants de la cellule par des espèces réactives oxygénées (ou ROS, Reactive Oxygen Species). La production de ROS est normale pour tous les organismes vivant en aérobie et ne constitue pas, en soit, une situation de stress oxydant. En effet, la cellule dispose d'un système complexe de détoxification contre les ROS comprenant des enzymes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase...) et des petites molécules (vitamines C et E...). Le stress oxydant devient une situation pathologique dès que le système de protection est submergé par les ROS.

Le stress oxydant est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, mais il est aussi considéré comme une des principales causes de cancer et jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer, ainsi que dans plusieurs pathologies courantes telles que les

maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébro-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes.

Lorsque les systèmes de défense sont débordés par l'augmentation de production des espèces réactives oxygénées, il faut fournir à l'organisme des molécules antioxydantes. Les fruits et légumes en sont largement pourvus, et plus particulièrement, comme il le fut précédemment démontré, la grenade en est très riche. Une consommation régulière de grenade ou de jus de grenade pourrait donc permettre de lutter contre le stress oxydant et d'éviter que ce processus s'emballe.

* La paraoxonase.

Hormis le « transport inverse » du cholestérol, les HDL possèdent la capacité de protéger les LDL de l'oxydation par les métaux de transition, tel que le cuivre, et par les radicaux libres. En effet, deux enzymes liées aux HDL, la paraoxonase et la PAF-acétylhydrolase, permettent l'hydrolyse des phospholipides oxydés des LDL.

La consommation de jus de grenade, par des patients ayant une sténose des carotides, permet d'augmenter l'activité de l'enzyme associée aux LDL, la paraoxonase (PON1). En effet, Aviram *et al.* [4] ont montré qu'après une consommation de jus de grenade, pendant deux semaines, chez des sujets en bonne santé, l'activité de la paraoxonase augmente, et ce jusqu'à 18%. Le même examen, réalisé chez des patients ayant une sténose des carotides, montre une augmentation de l'activité de la paraoxonase de 11%, 42%, 49% et 83% après une consommation du même jus pendant respectivement 3, 6, 9, et 12 mois (Figure 31).

Dans la même étude, des résultats similaires à ceux obtenus chez l'homme, sont atteints chez des souris hypercholestérolémiques, avec une augmentation de l'activité de la paraoxonase de 43%, suite à une supplémentation en jus de grenade pendant deux semaines.

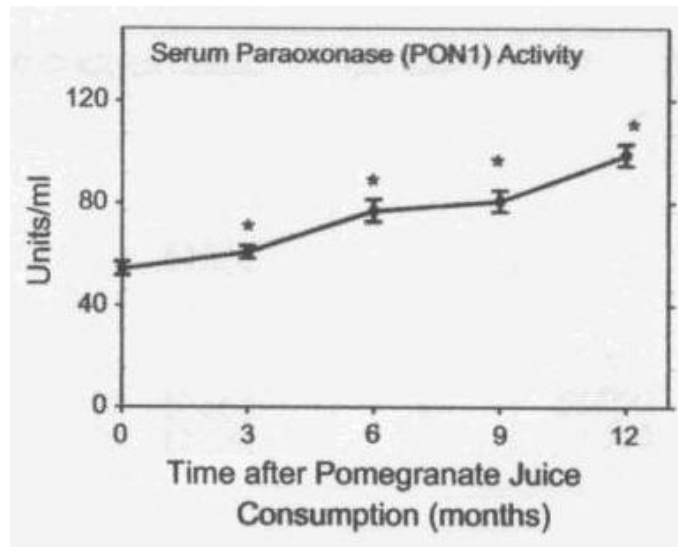


Figure 31 : Activité de la paraoxonase (en unités/mL) chez des patients atteints de sténoses des carotides et supplémentés en jus de grenade durant 12 mois. [4]

b. Action sur l'hypertension artérielle.

* Le système rénine angiotensine.

L'hypertension artérielle constitue l'un des facteurs de risque pour le développement de l'athérosclérose. Ainsi, chez un patient hypertendu et possédant une activité plasmatique élevée du système rénine-angiotensine, il a été démontré que le risque de développer un infarctus du myocarde est cinq fois plus élevé que chez un patient normotendu. [3]

Chez un patient hypertendu, la concentration sérique en angiotensine II, vasoconstricteur produit par le système rénine-angiotensine-aldostérone, est élevée. Il semble que l'angiotensine II soit impliquée dans l'accélération du processus d'athérogénèse, non seulement en causant de l'hypertension, mais également en stimulant la prolifération des cellules musculaires lisses, l'activation des plaquettes, et l'accumulation de cholestérol dans les macrophages artériels, ainsi qu'en augmentant la production d'espèces réactives oxygénées, telles que le peroxyde d'hydrogène et les radicaux libres.

Une étude, menée par Aviram *et al.* [3], montre un intérêt à la consommation de jus de grenade chez les patients hypertendus. En effet, celle-ci consiste, *in vivo*, à suivre l'évolution de la pression artérielle et de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, chez dix patients hypertendus, âgés de 62 à 77 ans, et consommant durant deux semaines 50mL de jus de grenade (correspondant à un apport de 1,5mmol de polyphénols par jour). En parallèle, l'influence *in vitro* de ce même jus de grenade sur l'activité de l'enzyme est mesurée.

Les résultats de cette étude, (voir figures 32 et 33), dévoilent que les polyphénols de grenade permettent de réduire la pression artérielle systolique de 5% et l'activité de l'enzyme de conversion de plus de 30% chez ces patients hypertendus, et ce en seulement deux semaines de traitement.

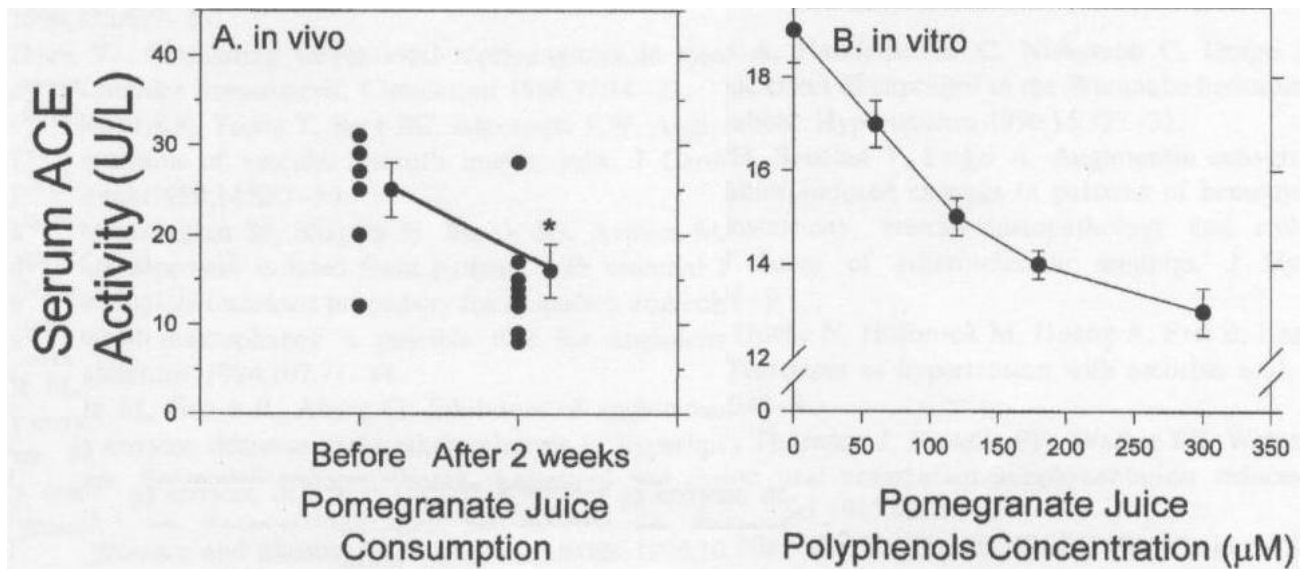


Figure 32 : Effets du jus de grenade sur l'activité de l'enzyme de conversion *in vivo* et *in vitro*. [3]

Patients	Blood pressure (mmHg)	
	Before (0 time)	After pomegranate juice consumption (2 weeks)
1	161/73	153/80
2	162/83	163/80
3	168/75	160/80
4	157/92	143/87
5	150/80	153/85
6	146/80	141/80
7	140/92	140/90
8	153/70	130/70
9	158/90	130/82
10	160/90	150/85
Mean ± S.D.	155 ± 7/83 ± 7	147 ± 10/82 ± 5

Figure 33 : Effets de la consommation de jus de grenade sur la pression artérielle de dix patients hypertendus. [3]

* Le monoxyde d'azote.

Une autre étude, réalisée par l'équipe du professeur de Nigris, [19], a analysé l'action du jus de grenade sur l'activité de la NO-synthase endothéliale dans les artères de souris hypercholestérolémiques *in vitro*, ainsi que *in vivo*, dans les artères d'hommes atteints d'athérosclérose, sur les lieux de forces de cisaillement.

La NO-synthase endothéliale, eNOS, est une enzyme située dans l'endothélium vasculaire et capable de produire du monoxyde d'azote, NO. Dès sa synthèse, le NO diffuse à travers les membranes, sous forme gazeuse, et pénètre dans les fibres vasculaires lisses des cellules voisines de celles qui le libèrent, entraînant le relâchement de celles-ci. Ainsi, il se produit une vasodilatation des vaisseaux, responsable d'une diminution de la pression artérielle.

Une augmentation de l'activité de la NO-synthase endothéliale a été démontrée chez les souris complémentées en jus de grenade par rapport aux souris non complémentées. De même, une augmentation de la synthèse de NO a été observée chez les hommes complémentés en jus de grenade.

Le jus de grenade, riche en polyphénols, paraît donc capable d'induire la synthèse d'un vasodilatateur, le monoxyde d'azote, au niveau de zones de cisaillement induites par la présence de plaques d'athérome. La pression sanguine exercée sur ces plaques d'athérome se voit donc diminuée, réduisant ainsi le risque de décrochement ou d'ulcération de la plaque, première étape d'une thrombose.

c. Action sur le développement des plaques d'athérome.

* Formation des cellules spumeuses.

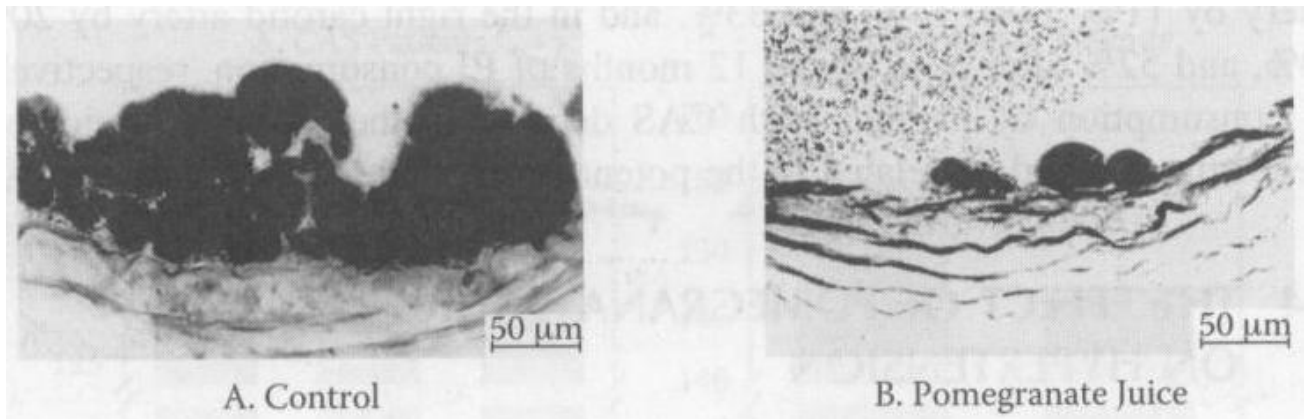
Le stress oxydant, impliqué dans la pathogénicité de l'athérosclérose, favorise également la formation de cellules spumeuses. En effet, à l'état normal, les LDL sont absorbés par des récepteurs spécifiques, afin d'être conduits jusqu'au foie, où ils seront éliminés par voie biliaire. Quand ils sont oxydés, les LDL sont reconnus par d'autres récepteurs, les récepteurs « éboueurs » des macrophages (ou scavenger receptors). Ces récepteurs « scavenger » entraînent les LDL dans un processus athérogène, conduisant à une absorption excessive de cholestérol dans les macrophages, à l'origine de la formation des cellules spumeuses. De plus, cette voie des LDL oxydés ne subit aucun rétrocontrôle métabolique. Elle entraîne ni diminution de la synthèse intracellulaire du cholestérol, ni limitation de l'expression des récepteurs à la surface des cellules.

La formation des LDL oxydés constitue donc un élément initiateur majeur de la formation de la plaque d'athérome, et doit donc être évitée. Un traitement antioxydant pourrait donc judicieusement compléter un régime hypolipémiant dans le cadre de la prévention de la maladie athéromateuse. La consommation quotidienne de jus de grenade, aux propriétés antioxydantes, pourrait tout à fait s'inscrire dans cette prévention.

* Etude chez la souris.

La création par ciblage génique d'une souris déficiente en apolipoprotéine E (apo-E), souris E⁰, fut une véritable percée que l'on doit à des équipes de chercheurs américains, au début des années 1990. Cette souris a fourni un modèle robuste pour l'étude de l'athérogenèse. C'est le seul modèle expérimental chez la souris où l'athérosclérose se développe spontanément, sans que l'on ait à faire appel à un régime alimentaire athérogène. La vitesse de développement et la gravité des lésions, qui ont une similitude avec les lésions de l'humain, s'accroissent par ailleurs considérablement si un tel régime est ajouté.

Une étude a comparé la taille des lésions athéromateuses et le nombre de cellules spumeuses de ces lésions chez des souris E⁰, complémentées ou non en jus de grenade. Ainsi, durant deux mois, des souris déficientes en apolipoprotéine E et âgées de quatre mois, ont été supplémentées avec 31µL de jus de grenade (équivalent à 0,875µmoles de polyphénols par souris et par jour). Durant la même période, un groupe de souris E⁰ contrôle, âgées également de quatre mois, a reçu de l'eau à la place du jus de grenade. Comme le montrent les trois figures 34, 35, et 36, une nette réduction de la taille de la plaque d'athérome est visible chez les souris qui ont bénéficié d'une complémentation en jus de grenade. [49]



Figures 34 et 35 : Photographies comparatives de plaques d'athérome chez des souris E^0 , complémentées en jus de grenade (B. Pomegranate juice) ou non complémentées (A. Control), durant deux mois. [49]

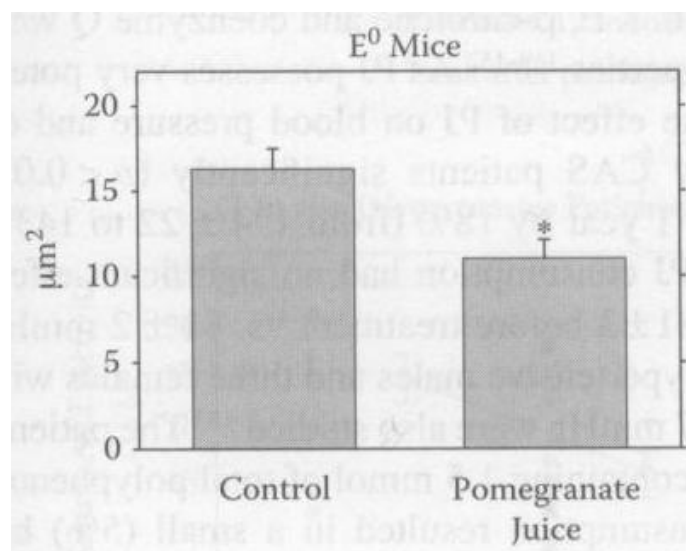


Figure 36 : Comparaison de la taille de plaques d'athérome (en μm^2) chez des souris E^0 , complémentées ou non pendant deux mois en jus de grenade. [49]

* Etude chez l'homme.

Une étude, réalisée par l'équipe du professeur Aviram, [4], a suivi, durant un an, dix neuf patients présentant un début de sténose des artères carotides. Parmi ces patients, dix sont complémentés quotidiennement en jus de grenade, et neuf sont utilisés comme témoins. Régulièrement, l'épaisseur intima-média de ces artères est mesurée et des prélèvements sanguins sont analysés, afin de suivre l'évolution de la pathologie.

Dans le groupe contrôle, non complémenté en jus de grenade, l'épaisseur intima-média des carotides a augmenté de 9% durant l'année d'étude, alors que dans le groupe d'individus complémentés, l'épaisseur intima-média se voit diminuée, et ce jusqu'à 30% (Figure 37). Egalement, les prélèvements sanguins dévoilent, chez les patients complémentés, une augmentation de l'activité de la paraoxonase et une diminution de la quantité d'anticorps anti-LDL oxydés. Enfin, une diminution de la pression artérielle est aussi observée chez ces patients.

Ainsi, le jus de grenade utilisé, composé d'environ 2000mg/L de tannins (1600mg/L de punicalagine et 400mg/L de tannins hydrolysables), 380mg/L d'anthocyanes, 120mg/L d'acide ellagique et dérivés, et 30mg/L de vitamine C, présente des propriétés intéressantes pour lutter contre le développement des plaques d'athérome.

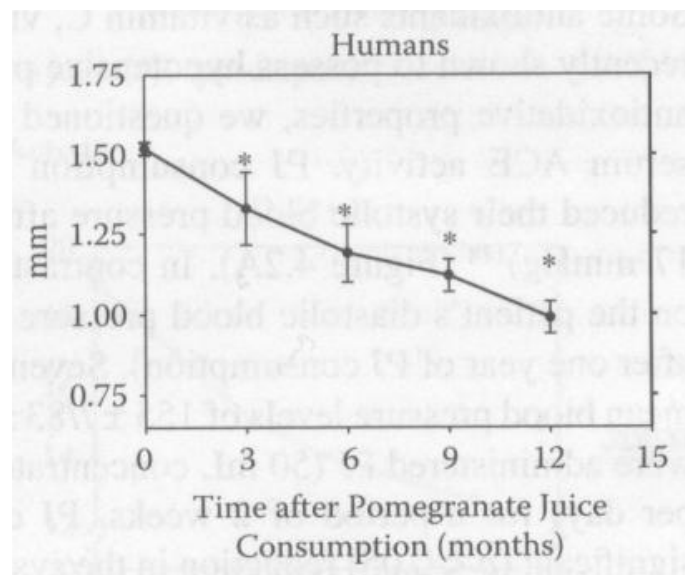


Figure 37 : Evolution de l'épaisseur intima-média de carotides (en mm) chez des patients complémentés en jus de grenade durant douze mois. [49]

C. Propriétés anti-inflammatoires du grenadier.

La plupart des pathologies font intervenir un phénomène inflammatoire, processus mis en place par l'organisme afin de se défendre contre un agresseur.

1. Le processus inflammatoire.

a. Définition et causes de l'inflammation.

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression.

Ce processus comprend :

- des phénomènes généraux : exprimés biologiquement par un syndrome inflammatoire (augmentation de la vitesse de sédimentation, augmentation du taux de protéine C réactive), et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et parfois une altération de l'état général.
- des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète, et donc de se défendre contre des agressions.

Les signes cliniques de l'inflammation sont variables. Néanmoins, lors d'un phénomène inflammatoire, on rencontre généralement les quatre signes cardinaux connus depuis Galien (131-201 après JC) : la rougeur, l'oedème, l'augmentation de la chaleur locale et la douleur (« *rubor, tumor, dolor, calor* »).

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, d'anomalies de régulation du processus inflammatoire, ou d'anomalies quantitatives ou qualitatives des cellules intervenant dans l'inflammation.

b. Les causes de l'inflammation.

Les causes de l'inflammation sont multiples et représentent des agents pathogènes. Les plus courants de ces agents pathogènes sont :

- L'infection : contamination par des micro-organismes tels que bactéries, virus, parasites ou champignons.
- Les agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations.

- Les agents chimiques : caustiques, toxines ou venins.
- Les corps étrangers : exogènes ou endogènes.
- Un défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie.
- Une agression « dysimmunitaire » : anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité.

Notons qu'un même agent pathogène peut entraîner des réactions inflammatoires différentes selon l'hôte concerné, en fonction de l'état de ses défenses immunitaires.

De nombreuses pathologies telles que l'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, les maladies inflammatoires de l'intestin, et même les cancers, font intervenir des processus inflammatoires.

2. Intérêts du grenadier dans les processus inflammatoires.

a. Rôle sur l'activation des NF- κ B.

NF- κ B ou *Nuclear factor kappa B*, est un facteur de transcription qui joue un rôle important en contrôlant l'expression de nombreux gènes impliqués dans la régulation du système immunitaire.

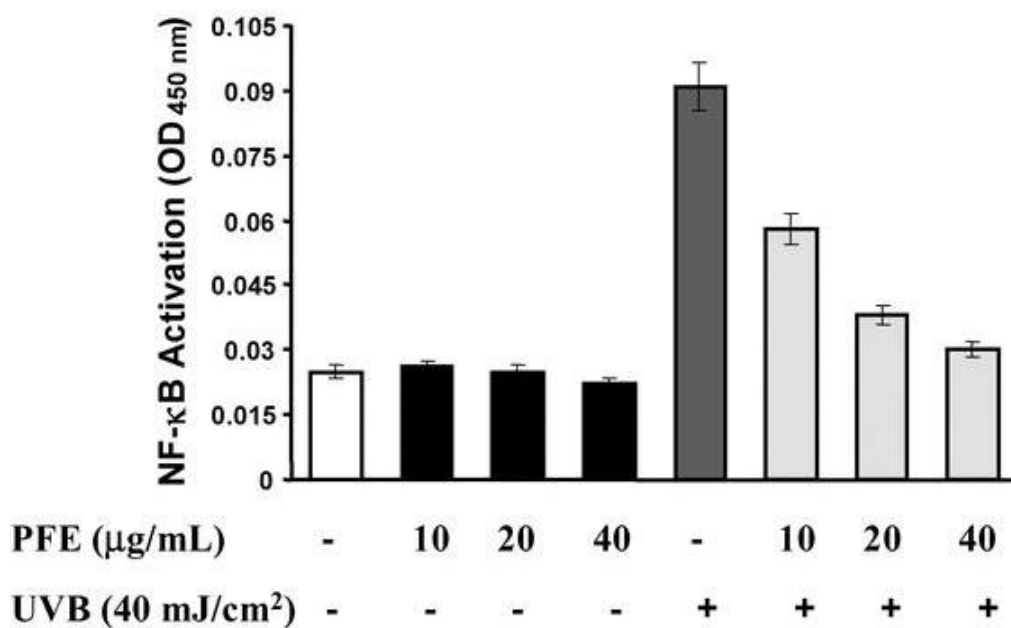
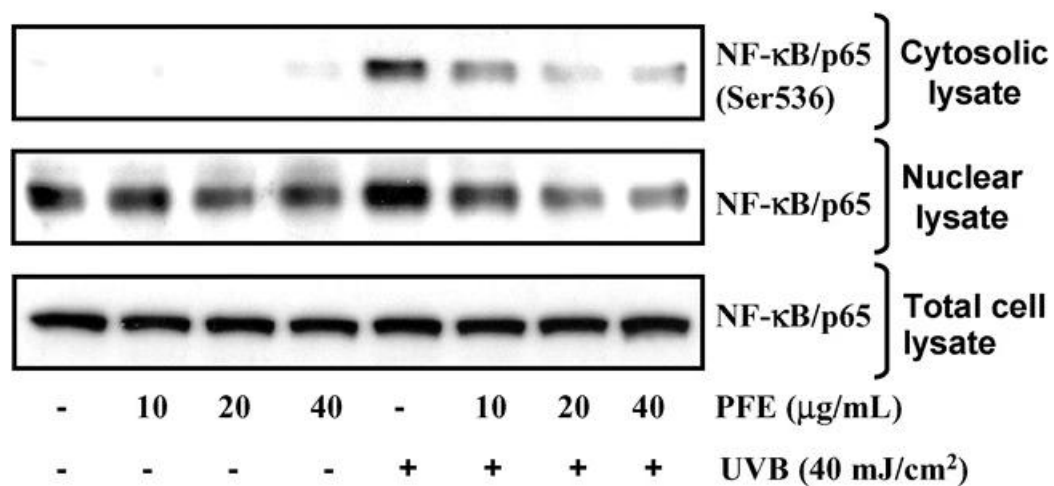
NF- κ B est séquestré dans le cytoplasme des cellules par l'inhibiteur de NF- κ B, I κ B. En présence d'un *stimulus*, après une cascade de réactions, I κ B est phosphorylé, NF- κ B est alors libéré et transloqué dans le noyau cellulaire pour y activer des gènes cibles. Ces gènes cibles peuvent être regroupés en quatre catégories : les gènes immunomodulateurs, les gènes anti-apoptotiques, les gènes de prolifération cellulaire, et les gènes de retro-inhibition.

Dans les phénomènes inflammatoires, l'activation de NF- κ B est généralement intéressante, elle permet à l'organisme de stimuler ses processus de défense. Néanmoins, l'activation de NF- κ B peut être gênante quand les phénomènes inflammatoires durent et entraînent des pathologies. De plus, l'activation de NF- κ B a été récemment mise en cause dans les cancers, empêchant l'apoptose et favorisant le développement des cellules cancéreuses. Ainsi, l'activation de NF- κ B peut se montrer intéressante ou non selon les cas.

Une étude a été réalisée sur des kératinocytes d'un épiderme humain normal, afin d'évaluer les effets d'une exposition excessive aux UV-B, responsable notamment d'érythèmes, d'hyperplasie, d'hyperpigmentation, de vieillissement cutané prématuré voire de cancers de la peau. Des extraits de grenade (type d'extraits non précisé dans l'étude), sont ajoutés dans le milieu de culture des kératinocytes afin d'évaluer, de façon dose-dépendante, les méfaits des UV-B et leurs conséquences sur NF- κ B. [1]

Pour cet essai, les kératinocytes sont pré-traités par des extraits de grenade dosés à 10, 20 ou 40 μ g/ml durant 24h. Ensuite, les cellules sont exposées aux UV-B, à raison de 40mJ/cm². Six heures après l'exposition aux UV-B, les cellules sont lysées. Les lysats des cytoplasmes et des noyaux sont analysés séparément et ensemble, afin de déterminer la quantité de NF- κ B présente dans chacun d'eux. Comme le montrent les figures 38 et 39, de façon dose dépendante, les extraits de grenade permettent de diminuer l'activation de NF- κ B dans les kératinocytes exposés aux UV-B. De plus, on découvre que le taux de NF- κ B est le plus élevé dans les lysats des noyaux cellulaires des kératinocytes, montrant que le NF- κ B a été transloqué dans le noyau, une des étapes du processus inflammatoire.

Ainsi, les extraits de grenade semblent, de manière dose-dépendante, réduire le processus inflammatoire induit par l'exposition aux UV-B.



Figures 38 et 39 : Concentration en NF-κB dans les lysats de cytoplasmes (cytosolic lysate), de noyaux (nuclear lysate), et de la totalité de la cellule (total cell lysate), dans des kératinocytes pré-traités ou non par différentes concentrations d'extraits de grenade (PFE), et exposés ou non à des UV-B. [1]

b. Activité sur les cyclo-oxygénases (COX).

Les cyclo-oxygénases ou COX sont des enzymes qui catalysent la transformation de l'acide arachidonique en prostanoïdes. Les prostanoïdes sont des acides gras cycliques. Ils représentent une grande famille d'environ trente molécules, dont font partie en particulier les prostaglandines (E2, F2, G2,...), les thromboxanes (A2,...) et les prostacyclines. Toutes ces molécules sont des messagers cellulaires. Cette famille de prostanoïdes est représentée dans la totalité de l'organisme sous l'une ou l'autre de ces formes.

Actuellement on connaît trois isoenzymes de cyclo-oxygénases : COX-1, COX-2 et COX-3. La COX-3 semble être un variant de la COX-1.

La cyclo-oxygénase 1 est constitutive, elle est déjà présente dans l'organisme. Contrairement à la cyclo-oxygénase 2 qui est inductible, elle nécessite un *stimulus*, tel que la fixation de NF- κ B, d'interleukines ou de facteurs de croissance, pour être synthétisée.

La COX-1 est liée à la production physiologique de prostaglandines dans de nombreux organes tels que le rein et l'estomac, assurant la protection de ceux-ci et le maintien de leurs fonctions physiologiques. Par contre, la COX-2 est impliquée dans la formation de prostaglandines pro-inflammatoires. Ainsi, en cas d'inflammation, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) inhibent la COX-2 et de ce fait réduisent l'inflammation. Malheureusement, la plupart des AINS inhibent également la COX-1, bloquant ainsi un des systèmes de protection de l'estomac, phénomène responsable des effets secondaires gastriques de presque tous les AINS.

Lors d'un traumatisme, des cellules sont lésées. Celles-ci vont alors produire des prostaglandines, sous l'action catalytique des COX-2. Ces prostaglandines seront libérées hors de leur cellule de production pour aller se fixer au niveau des terminaisons nerveuses, provoquant ainsi la douleur.

Sur le même principe, lors d'une inflammation dans une zone de notre organisme, des cellules de défense, les leucocytes, se mobilisent rapidement. Or, celles-ci présentent à leur surface des cyclo-oxygénases qui vont transformer de l'acide arachidonique en prostaglandines E2, qui elles-mêmes entraîneront une dilatation des vaisseaux sanguins. Cela donne lieu à une amplification de l'inflammation et à un échauffement de la zone enflammée, pouvant se transmettre à tout l'organisme.

Afin de déterminer le pouvoir d'extraits de grenade sur les cyclo-oxygénases, une expérience a été réalisée sur six lapins mâles blancs *New Zealand*, âgés d'un an. [50] Pour ce faire, on administre par voie orale 10mL d'extraits de grenade aux lapins, cette quantité étant équivalente à l'ingestion de 175mL de l'extrait pour un adulte de 65kg. Les extraits utilisés sont obtenus par l'action extractive du méthanol sur de la poudre de grenades entières séchées. Le plasma de ces lapins est prélevé avant et deux heures après l'ingestion de l'extrait de grenade. Des analyses spectrométriques, par chromatographie liquide haute performance, permettent d'identifier de l'acide

ellagique dans le plasma prélevé chez les lapins complémentés par l'extrait de grenade.

Ces plasmas sont ajoutés à des kits d'analyse de l'inhibition des cyclo-oxygénases (*Cayman Chemicals*). On mesure alors l'activité des cyclo-oxygénases 1 et 2 au contact de ces plasmas dilués au dixième. Les résultats obtenus avec le plasma des lapins avant l'ingestion de l'extrait de grenade sont utilisés comme contrôle. En présence du plasma prélevé après la complémentation en extrait de grenade, on observe, comme l'indique a figure 40, une forte diminution de l'activité des COX-2 et un maintien de l'activité des COX-1.

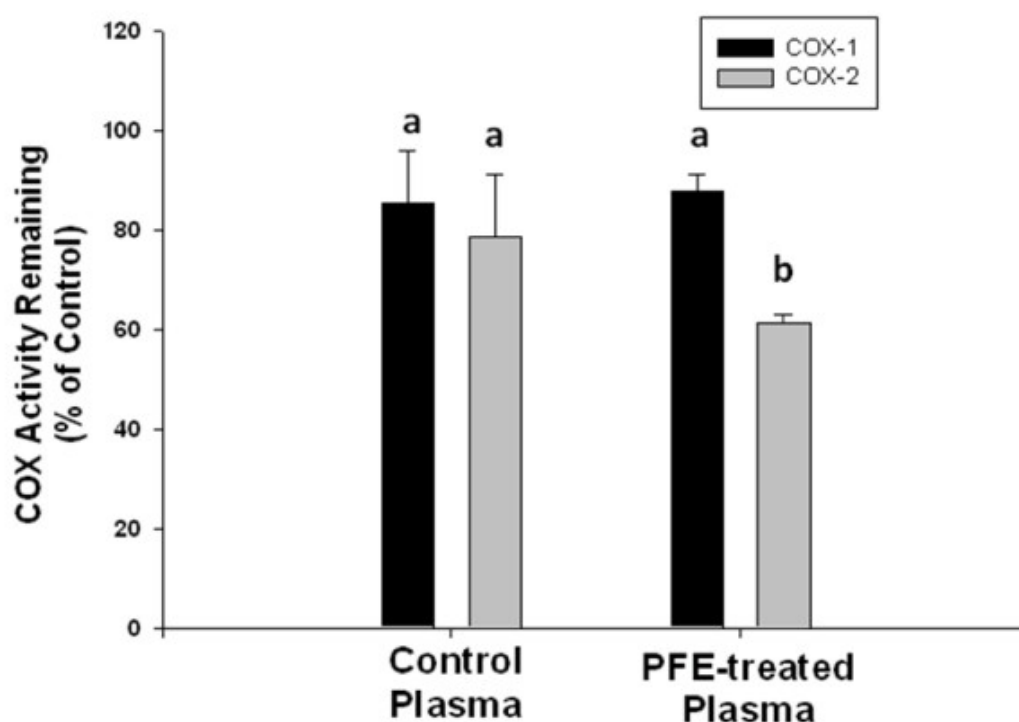


Figure 40 : Activité des cyclo-oxygénases 1 et 2, dans les kits d'analyse de l'inhibition des cyclo-oxygénases (*Cayman Chemicals*), en présence de plasma de lapins prélevé avant (contrôle) ou après complémentation (PFE-treated) par un extrait de grenade. [50]

Ainsi, il semble que l'extrait de grenade, et plus précisément l'acide ellagique, possède des pouvoirs anti-inflammatoires. De plus, l'acide ellagique inhibant les COX-2 mais maintenant l'activité des COX-1 normale, il permet de lutter contre l'inflammation tout en conservant les fonctions physiologiques des organes tels que le rein et l'estomac intacts. De ce fait, il n'y a aucun risque de provoquer ou d'aggraver un ulcère de l'estomac en utilisant des extraits de grenade comme anti-inflammatoire.

Par conséquent, il semble que les principes actifs de la grenade puissent réduire les phénomènes inflammatoires. Si d'autres études s'avèrent concluantes, des extraits de grenade pourraient trouver leur place au sein de la panoplie des médicaments anti-inflammatoires, par exemple pour soulager l'arthrose et les rhumatismes, pour traiter les pathologies auto-immunes ou pour réduire les inflammations chroniques de l'intestin.

D. Intérêt du grenadier dans les cancers.

Le cancer est une maladie de la cellule causée par une dérégulation du programme génétique cellulaire. Cette dérégulation a pour conséquence la prolifération incontrôlée de cellules anormales avec envahissement local ou à distance.

1. Processus de la cancérisation.

Le cycle cellulaire se décompose en 4 phases : G1, S, G2 et M. Il contribue au renouvellement du matériel génétique d'un individu.

Chez les eucaryotes, l'évolution dans ce cycle est sous le contrôle de complexes, associant chacun une kinase cycline-dépendante (CDK ou *cyclin dependant kinase*) et une cycline. Les cyclines D et E sont impliquées dans le passage de la phase G1 à la phase S, phase de doublement du matériel génétique.

La protéine E2F, facteur de transcription essentiel à la progression du cycle cellulaire, induit la phase S. La protéine Rb, (pRb ou protéine du rétinoblastome), sous sa forme non phosphorylée, arrête la multiplication cellulaire en formant un complexe avec E2F. Il s'agit du « point de restriction », moment du cycle où le matériel génétique est contrôlé, constituant le dernier verrou avant l'entrée en multiplication du matériel génétique. En cas de non-conformité du matériel génétique, le cycle cellulaire est arrêté, la cellule est détruite par apoptose.

Les complexes cycline D-CDK et cycline E-CDK agissent sur le complexe pRb-E2F en phosphorylant la protéine Rb. La protéine Rb phosphorylée libère E2F, permettant la progression en phase S. La libération de E2F ne peut se faire qu'après contrôle du bon état du matériel génétique.

Dans la formation de nombreux cancers, la protéine Rb sera hyperphosphorylée, ce qui l'empêche de se fixer à E2F et de jouer son rôle de verrou. Les cellules cancéreuses peuvent alors entrer en division cellulaire et se multiplier. La cancérisation est alors initiée.

De nombreux autres facteurs de transcription interviennent dans le contrôle du cycle cellulaire. L'un des plus connus est la protéine p53. Cette protéine s'exprime dans les cellules soumises à un stress, par exemple lorsque l'ADN est endommagé. Les altérations de l'ADN provoquent une accumulation de cette protéine. Elle stoppe alors le cycle cellulaire en phase G1 pour permettre, soit la réparation de l'ADN avant la phase S, si cela est possible, soit le déclenchement de l'apoptose si les lésions de l'ADN sont jugées irréparables. La protéine p53 est donc une molécule indispensable au maintien de l'intégrité de la cellule et de ses composants.

Or, près de 50% des cancers humains ont une p53 mutée qui a perdu ses capacités antiprolifératives et apoptotiques.

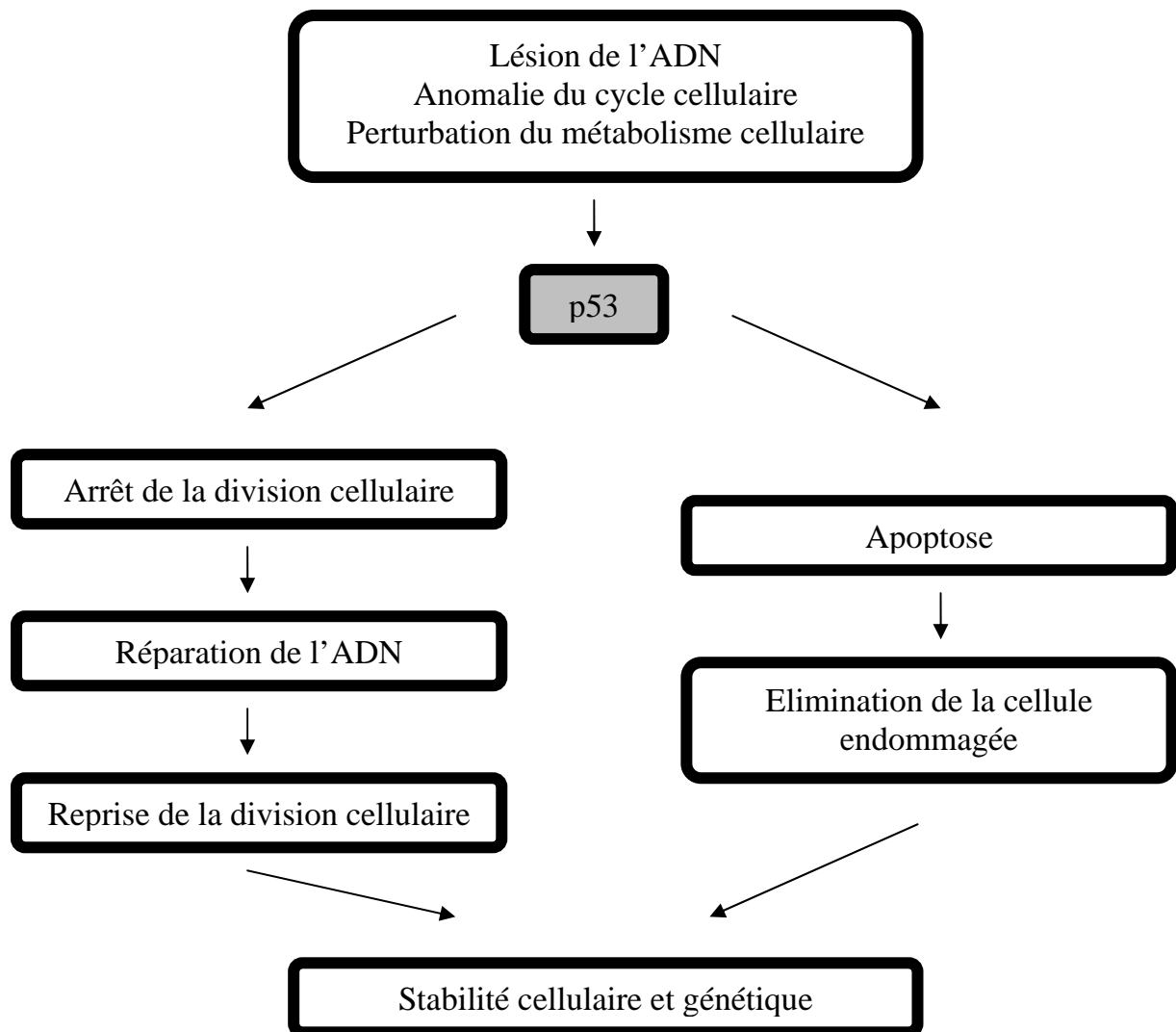


Figure 41 : Rôle de la protéine p53.

D'autres complexes interviennent dans le maintien de l'intégrité du matériel génétique. Entre autres, WAF1/p21 et KIP1/p27, qui sont des inhibiteurs du cycle cellulaire. En effet, WAF1/p21 et KIP1/p27 viennent se lier aux complexes cyclines-CDK, inhibant ainsi leur activité et entraînant alors un arrêt du cycle cellulaire au point de contrôle G1, en réponse à des lésions de l'ADN. De la même façon que dans le cas de la protéine p53, soit les lésions de l'ADN sont réparées et le cycle cellulaire se poursuit, soit les lésions ne peuvent être réparées, et la cellule entre en apoptose afin d'être détruite.

2. La grenade et son implication dans le cancer de la prostate.

a. Incidence et mortalité du cancer de la prostate.

Le cancer de la prostate est devenu, par sa fréquence et la mortalité qui lui est associée, un problème de santé publique en France.

D'après les données de l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS), plus de 62000 nouveaux cas de cancer de la prostate ont été diagnostiqués en France durant l'année 2005. Le cancer de la prostate représente environ 40% de l'ensemble des cancers masculins, ce qui en fait le cancer le plus fréquent chez l'homme. L'incidence du cancer de la prostate est en très forte augmentation, par effet combiné du vieillissement de la population, de l'amélioration des moyens diagnostiques et de l'accroissement du nombre de dépistages réalisés par la technique de dosage des PSA (Prostatic Specific Antigen), devenu systématique pour les hommes de plus de 50 ans. [C]

Avec plus de 9000 décès recensés en 2005 en France, le cancer de la prostate se situe au 2^e rang des décès par cancer chez l'homme, et il est la 4^e cause de décès par cancer dans l'ensemble de la population. Néanmoins, entre 2000 et 2005, la mortalité par cancer de la prostate a subi une baisse. Cette diminution faible mais constante de la mortalité pour ce type de cancer peut être en rapport avec l'amélioration des conditions de prise en charge.

Cependant, il n'a pas encore été prouvé que l'utilisation du PSA comme test de dépistage réduise la mortalité associée au cancer de la prostate. En effet, le PSA est un marqueur spécifique de la prostate et non de son cancer. [D]

b. Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer de la prostate.

* Etudes *in vitro*.

Une étude *in vitro*, réalisée en 2005, [38], démontre que l'incubation de cellules PC3, type de cellules humaines du cancer de la prostate hautement agressives et fréquemment utilisées comme modèle pour l'étude de cette pathologie, dans des extraits de grenade dosés de 10 à 100 µg/ml, pendant 48 heures, conduit à l'apoptose de ces cellules PC3, comme le montre la figure 42. Les extraits de grenade utilisés sont obtenus à partir de fruits frais pelés puis écrasés dans un mélange composé de 70% d'acétone et de 30% d'eau distillée. Les solvants employés permettent d'obtenir un extrait de grenade riche en tanins et anthocyanes (essentiellement pelargonidine, cyanidine et delphinidine). Il semble que l'action de la grenade ait un effet dose-dépendant sur la viabilité et la croissance de ces cellules.

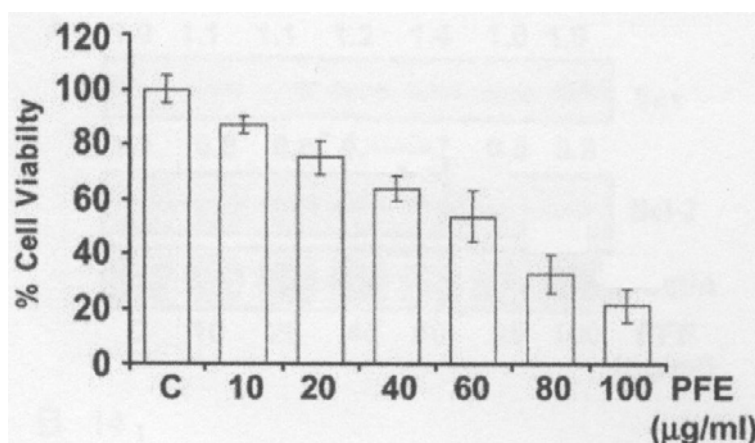


Figure 42 : Effets de différentes concentrations d'extraits de grenade (PFE = Pomegranate Fruit Extract) sur la viabilité de cellules PC3, après un contact de 48h. [38]

Les extraits de grenade paraissant ainsi induire l'apoptose des cellules PC3, des recherches plus approfondies ont été réalisées au cours de la même étude, utilisant l'immunoblot, technique d'électrophorèse permettant l'analyse de la concentration de molécules telles que les protéines. [38]

Comme l'indiquent les électrophorèses suivantes, (figure 43), plus les extraits de grenade sont concentrés et plus les inhibiteurs du cycle cellulaire, WAF1/p21 et

KIP1/p27, sont exprimés. Par contre, plus la concentration en grenade augmente, et plus les quantités de cyclines D1, D2, E, et de kinases cycline-dépendantes cdk2, cdk4, cdk6, diminuent.

Ces marqueurs indiquent que le cycle de division des cellules PC3 reste bloqué en phase G1. Les cellules ne peuvent plus se diviser, la croissance cellulaire est bloquée. Il semble ainsi que la grenade possède des propriétés antiprolifératives sur la multiplication des cellules cancéreuses.

D'autre part, l'électrophorèse de protéines proapoptotiques Bax et Bak, met en évidence le fait que le taux de celles-ci augmente de façon dose-dépendante par rapport à l'extrait de grenade. Au contraire, les quantités de protéines induisant une down-régulation de l'apoptose, les protéines Bcl-X_L et Bcl-2, chutent quand augmente la concentration en grenade. En induisant l'apoptose des cellules PC3, l'extrait de grenade semble donc posséder également des propriétés proapoptotiques. [38]

Une autre étude, réalisée également en 2005, par l'équipe du professeur Lansky, [34], analyse *in vitro* les effets de quatre composants majeurs de la grenade : l'acide ellagique, l'acide caféique, la lutéoline, et l'acide punicique, sur la viabilité de cellules PC3, cellules humaines du cancer de la prostate. Pris séparément, ces composés, appartenant à différentes classes chimiques, sont déjà connus pour posséder des propriétés contre le cancer.

Tous les composés, étudiés seuls, permettent de diminuer la prolifération et l'invasion des cellules PC3. Associés deux à deux, dans les mêmes proportions, ces composés se montrent plus efficaces. Enfin, l'association des quatre produits permet une action encore plus puissante sur l'invasion des cellules PC3.

Ainsi, il semble que l'acide ellagique, l'acide caféique, la lutéoline, et l'acide punicique, utilisés ensemble dans des proportions équivalentes, possèdent une synergie d'action pour lutter contre la prolifération de certaines cellules du cancer de la prostate.

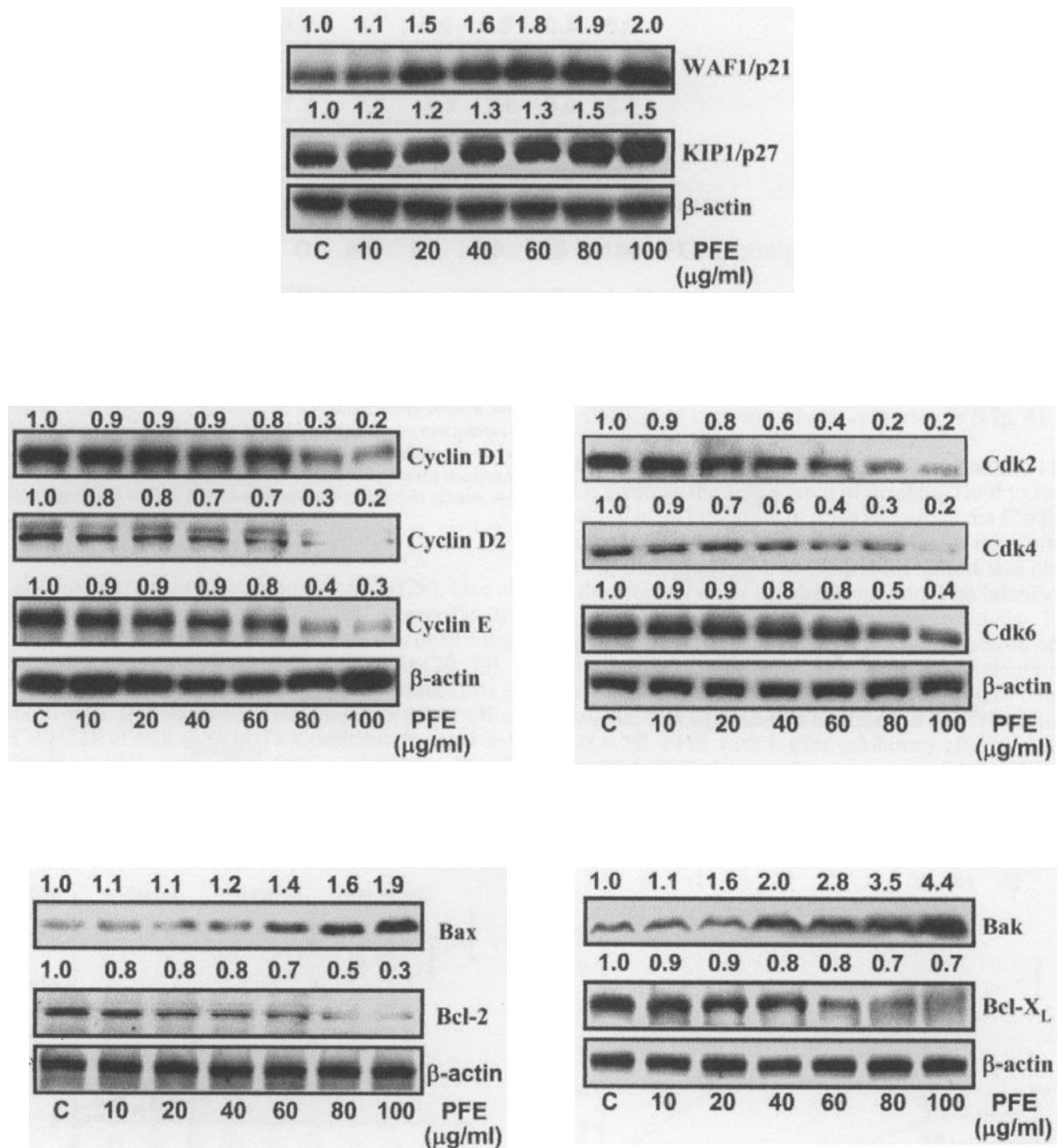


Figure 43 : Profils électrophorétiques d'inhibiteurs du cycle cellulaire WAF1/p21 et KIP1/p27, de cyclines et kinases cycline-dépendantes (Cdk), de protéines proapoptotiques Bax et Bak, et de protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-X_L, en fonction de la concentration en extrait de grenade (PFE). [38]

* Etudes *in vivo*.

Afin de confirmer les résultats obtenus *in vitro*, des cellules CWR22R sont implantées chez des souris mâles *Nude*. [38]

Ces cellules CWR22R sont fréquemment utilisées comme modèle pour l'étude du cancer de la prostate car elles fournissent, de façon rapide et reproductible, des tumeurs prostatiques sensibles aux androgènes et produisant de grandes quantités de PSA, facilement décelables dans le sang de l'hôte.

Une partie de ces souris *Nude* est complémentée quotidiennement par des extraits de grenades dans leur eau de boisson, dans des proportions équivalentes à la consommation quotidienne du jus de deux grenades pour un homme adulte. Les extraits de grenade utilisés sont les mêmes que ceux employés *in vitro* pour l'étude de la viabilité des cellules PC3. Ils sont obtenus à partir de fruits frais pelés puis écrasés dans un mélange de 70% d'acétone et de 30% d'eau distillée. Ces extraits sont donc très concentrés en tanins et anthocyanes.

Chez les souris complémentées, la croissance tumorale est très nettement ralentie, et le taux de PSA est bien inférieur à celui mesuré chez les souris non complémentées dans leur boisson. En effet, les souris non complémentées développent une tumeur dans un délai d'environ 8 jours après l'injection des cellules CWR22R. Chez les souris complémentées, dans les 11 à 14 jours après l'injection, aucune présence de tumeur prostatique n'est détectée.

Quant aux PSA, trente jours après l'inoculation des cellules cancéreuses, leur taux chez les souris complémentées est de 70 à 85% plus faible que chez les souris non complémentées.

Ainsi, les extraits de jus de grenade semblent pouvoir ralentir le développement des cellules cancéreuses et la formation de tumeurs prostatiques.

c. Intérêt de la grenade dans les récurrences du cancer de la prostate.

Une étude, menée par le docteur Pantuck, [43], urologue, montre l'intérêt de la consommation régulière de jus de grenade dans le maintien d'un taux de PSA, (Prostatic Specific Antigen), stable.

En effet, l'équipe du docteur Pantuck a fait consommer quotidiennement du jus de grenade, environ 240mL, à 50 hommes ayant déjà été traités par chirurgie ou radiothérapie pour un cancer de la prostate, et étant en phase de récurrence pour la même pathologie. La présence de cellules cancéreuses chez ces patients est surveillée par la mesure du taux de PSA. Les chercheurs ont mesuré le temps nécessaire au doublement du nombre de PSA. Le temps de doublement moyen, pour les patients non complétés, fut d'environ 15 mois. Par contre, pour les patients qui buvaient régulièrement du jus de grenade, ce temps a été de 54 mois en moyenne. Il semble donc que le jus de grenade permette de diviser par quatre le temps de doublement du taux de PSA.

De plus, quelques patients de cette étude, ayant poursuivi la consommation de ce jus, ont continué à présenter un niveau de PSA très faible, plus de trois ans après leur traitement initial.

Si les résultats de cette étude peuvent se confirmer, ils pourraient avoir des implications importantes pour les patients atteints de récurrences du cancer de la prostate, notamment en retardant le recours à des traitements plus agressifs et aux effets secondaires très marqués. En effet, beaucoup des traitements actuels du cancer de la prostate, tels que l'hormonothérapie, sorte de castration chimique, sont particulièrement contraignants. Ils induisent, par exemple, des bouffées de chaleur, de l'ostéoporose, de la fatigue et des dépressions, une fonte musculaire, une perte de la libido, des dysfonctions érectiles et une gynécomastie.

Toutes ces études suggèrent donc que les extraits de grenade sont capables d'inhiber la croissance de cellules du cancer de la prostate, à la fois dans des situations *in vitro* et *in vivo*. L'ensemble de ces résultats sur les cultures cellulaires et sur les modèles animaux étant très encourageants, il reste aujourd'hui à réaliser des tests chez les patients atteints ou à risque de développer un cancer de la prostate.

3. La grenade et son implication dans le cancer du sein.

a. Incidence et mortalité du cancer du sein.

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers dans les pays occidentaux. Chaque année, dans le monde, plus d'un million de nouveaux cas apparaissent, soit 30% des nouveaux cas de cancers féminins dans les pays industrialisés et 14% dans les pays en voie de développement. En France, il représente 32% des nouveaux cas de cancer. Le cancer du sein est un cancer qui ne concerne presque exclusivement que les femmes puisque seulement 1% des hommes présentent cette pathologie.

En France, en 2000, l'incidence du cancer du sein fut de 138,5 pour 100 000 femmes, ce qui correspond à près de 42000 nouveaux cas de cancer du sein invasifs diagnostiqués, cette année-là, chez les femmes. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Son incidence représenta 35,7% de tous les cancers féminins en 2000. En France, le nombre de nouveaux cas découverts croît d'environ 2,4 % par an et porte sur toutes les classes d'âge. En moyenne, une femme française sur dix développera au cours de sa vie un cancer du sein. [v]

Le taux de mortalité brut du cancer du sein, en France, en 2000, atteint 38,5 pour 100 000 femmes alors que le taux de mortalité standardisé sur la population mondiale est de 19,7 pour 100 000 femmes. La mortalité est restée stable avec 11000 décès par an et amorce une diminution, depuis l'année 2000, du fait des progrès thérapeutiques et du dépistage de masse, entre 50 et 74 ans, par une mammographie tous les 2 ans. Malgré cela, il reste la première cause de mortalité par cancer chez la femme. [v]

b. Histologie et étiologie du cancer du sein.

Il n'existe pas un seul type de cancer du sein mais de nombreux. En fonction du type de cellules cancéreuses, du type de tissu où celui-ci se développe, (les carcinomes, c'est-à-dire les cancers du sein issus de tissus glandulaires sont les plus fréquemment rencontrés), du caractère invasif ou non, montrant la capacité du cancer à envahir les ganglions et à développer des métastases, et de la présence ou non de récepteurs hormonaux, (les oestrogènes pouvant en effet stimuler la croissance de certaines tumeurs du sein), différentes stratégies thérapeutiques seront envisagées.

Les causes du cancer du sein ne sont encore pas bien connues, mais des facteurs de risques ont été démontrés :

- L'âge : l'incidence croît de façon significative après la ménopause.
- Des facteurs génétiques pour 5% des cancers du sein.
- Des facteurs hormonaux : puberté précoce, absence de grossesse ou grossesse tardive, utilisation de contraceptifs oraux, ménopause tardive. En

effet, tous ces facteurs entraînent une exposition prolongée de la femme aux oestrogènes, hormones en cause dans le développement des cancers du sein.

- L'hygiène de vie : consommation de lipides, obésité, consommation d'alcool. Ces facteurs pouvant être en cause dans la plupart des cancers.

Un dépistage précoce permet de détecter des petites tumeurs qui peuvent être traitées rapidement et souvent guéries. C'est pourquoi un dépistage systématique, par mammographie, chez les femmes de plus de 50 ans, est vivement recommandé.

c. Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer du sein.

La grenade est un fruit très particulier en ce qui concerne sa composition chimique. En effet, elle contient une relativement haute concentration en oestrogènes naturels, hormones normalement synthétisées dans le règne animal. Les graines de grenades contiennent la plus forte concentration en oestrone observée dans le règne végétal. Cette concentration pouvant atteindre 17mg/kg de graines séchées. Les graines de grenade contiennent également d'autres hormones stéroïdiennes, présentes à des concentrations plus faibles, telles que la 17 α -oestradiol, l'oestriol et la testostérone.

C'est pourquoi de nombreuses études ont été effectuées, pour évaluer les applications préventives et thérapeutiques de la grenade dans le cancer du sein, cancer sous forte influence hormonale (70% sont hormono-dépendants).

* Etude sur une levure.

Une étude, réalisée par l'équipe du professeur Kim, [33], a été de transférer une levure par deux plasmides, l'un exprimant un récepteur à un oestrogène humain, la 17 β -oestradiol, l'autre exprimant « l'élément de réponse aux oestrogènes » fixé à une luciférase. Sur « l'élément de réponse aux oestrogènes », seuls les récepteurs à la 17 β -oestradiol activés, c'est-à-dire sur lesquels des 17 β -oestradiol se sont liés, peuvent se fixer. Cela entraîne alors une synthèse de la luciférase.

En fait, le gène de la luciférase est utilisé en biologie moléculaire en tant que gène marqueur. Inséré à l'intérieur d'un autre gène, le gène marqueur est transcrit et traduit en même temps que le gène dans lequel il a été inséré. En milieu contenant de la luciférine et de l'ATP, la luciférase ainsi synthétisée est responsable d'une émission lumineuse. Si le gène considéré n'est pas exprimé, il n'y a pas d'émission lumineuse. Cette expérience est réalisée d'une part en présence d'oestradiol seul ou de jus de grenade lyophilisé seul, et d'autre part en présence d'oestradiol associé au jus de grenade lyophilisé.

Comme l'indique la figure 44, le jus de grenade lyophilisé inhibe de 56% l'activité de l'oestradiol. Ainsi, le jus de grenade semble contenir des composés antagonistes de la 17β -oestradiol, se fixant de façon compétitive sur les récepteurs de la 17β -oestradiol. Or, ce sont ces récepteurs de la 17β -oestradiol qui sont en cause dans les cancers du sein hormono-dépendants.

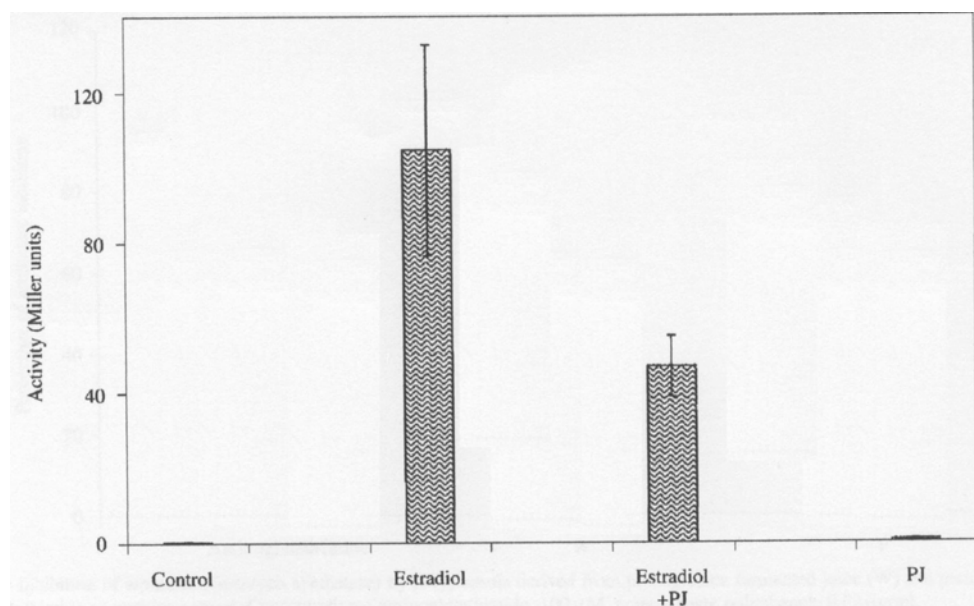


Figure 44 : Activité anti-oestrogénique du jus de grenade lyophilisé (PJ), chez un modèle de levure, en présence de 17β -oestradiol, par comparaison à la présence de 17β -oestradiol seul. [33]

* Etude sur des lignées cellulaires de cancer du sein.

Dans les laboratoires de recherche sur le cancer du sein, différentes lignées de cellules tumorales mammaires sont couramment utilisées *in vitro* comme modèle, afin de mieux comprendre le processus de cancérisation de ces tumeurs et de tester différents principes actifs afin de mettre au point un traitement efficace contre cette pathologie. Les lignées de cellules mammaires les plus fréquemment employées sont : MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-435, et MCF-10A. La lignée MCF-7 est la plus utilisée, elle modélise les cancers du sein hormono-dépendants et peu invasifs, exprimant le récepteur des oestrogènes α (ER α ou ER +). Les lignées MDA-MB-231 et MDA-MB-435 correspondent à des cellules non hormono-dépendantes (ER -) mais très invasives et donc métastatiques. Enfin, la lignée MCF-10A correspond à des cellules de tissu mammaire «normal ».

L'équipe du professeur Kim a testé l'action de différents extraits de grenade sur des lignées cellulaires en lien avec le cancer du sein. [33]

A partir de grenades *Wonderful*, trois extraits riches en polyphénols sont réalisés : un extrait de jus fermenté, un extrait aqueux de péricarpe et un extrait d'huile de graines de grenade.

Les lignées cellulaires MCF-7, MDA-MB-231 et MCF-10A sont mises, durant quatre heures, au contact d'un des extraits de grenade *Wonderful*.

Comme l'indiquent les figures 45(a) et 45(b) suivantes, le jus fermenté et l'extrait de péricarpe accélèrent la mort des cellules des lignées cellulaires MCF-7 et MDA-MB-231. L'inhibition des lignées cellulaires semble plus importante pour les cellules MCF-7, cellules modélisant le cancer du sein hormono-dépendant, que pour les cellules MDA-MB-231. Le jus fermenté montre de meilleurs résultats que l'extrait de péricarpe. En effet, le jus de grenade fermenté, à la concentration d'environ 50 μ g/ml, permet jusqu'à 80% d'inhibition des cellules MCF-7. L'essai réalisé par les différents extraits de grenade sur les cellules MCF-10A, cellules du tissu mammaire «normal », ne semble pas accélérer leur destruction. Ces extraits ne se montrent donc pas toxiques pour les cellules du sein « normales ».

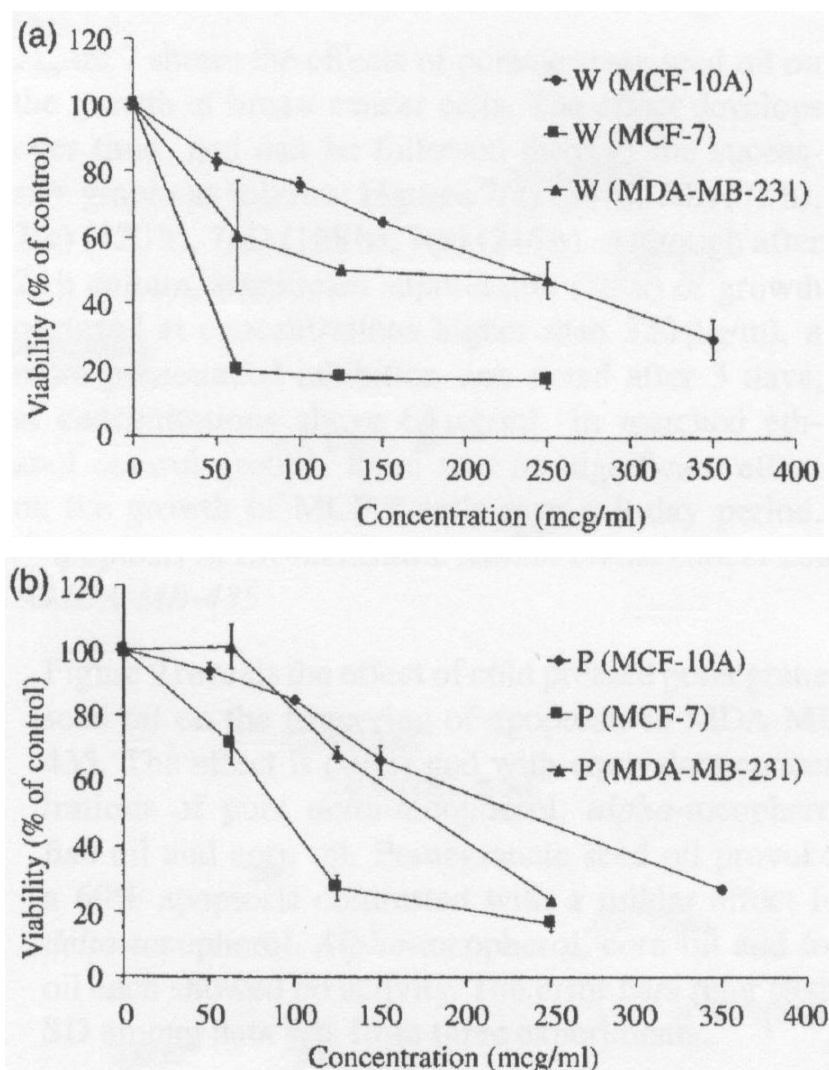


Figure 45 : Inhibition de prolifération des cellules MCF-7 (cancer ER +), MDA-MB-231 (Cancer ER -) et MCF-10A (épithélium normal), sous l'action des polyphénols de grenade. Le graphique (a) permet l'étude d'un extrait de jus fermenté de grenade (W=*wine*) sur ces trois lignées cellulaires. Le graphique (b) permet l'étude d'un extrait aqueux de péricarpe de grenade (P=*pericarp*) sur les mêmes types de cellules. [33]

De plus, il est également démontré que les extraits d'huile de graines de grenade, à la concentration de 100µg/ml, inhibent de 90% la prolifération des cellules MCF-7. Dosée à 10µg/ml, cette huile inhibe 75% de l'invasion des cellules MCF-7 à travers une membrane en Matrigel®, membrane utilisée pour modéliser la formation de métastases et l'invasion à distance de la tumeur.

* Activité sur l'aromatase.

L'aromatase, ou œstrogène synthétase, est une enzyme, présente dans le foie, responsable de la conversion des androgènes, androstènedione et testostérone, en œstrogènes, œstrone et œstradiol. À ce titre, elle occupe une position-clé dans le traitement de cancers hormono-dépendants tel que le cancer du sein. En effet, une classe de médicaments, les inhibiteurs de l'aromatase, sont utilisés pour bloquer cette enzyme et ainsi empêcher la transformation des androgènes en œstrogènes, hormones favorisant le développement de certaines cellules cancéreuses. Le létrozole (FEMARA®), l'anastrozole (ARIMIDEX®) et l'exemestane (AROMASINE®), sont trois molécules possédant des propriétés inhibitrices de l'aromatase et donc prescrites dans les cancers du sein hormono-dépendants.

Afin d'évaluer si des extraits de grenade peuvent posséder des propriétés inhibitrices de l'aromatase, de l'androstènedione marqué est incubé avec de l'aromatase, en présence ou non de jus fermenté ou d'extrait aqueux de péricarpe de grenade. [33] Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme est alors mesuré. De l'aminoglutéthimide (ORIMETENE®), molécule inhibitrice de l'aromatase, est utilisée comme témoin. Comme l'indique la figure 46, le jus fermenté de grenade inhibe de 51% l'activité de l'aromatase, et l'extrait aqueux de péricarpe de 24%. Les extraits de grenade utilisés présentent donc un pouvoir inhibiteur de l'aromatase.

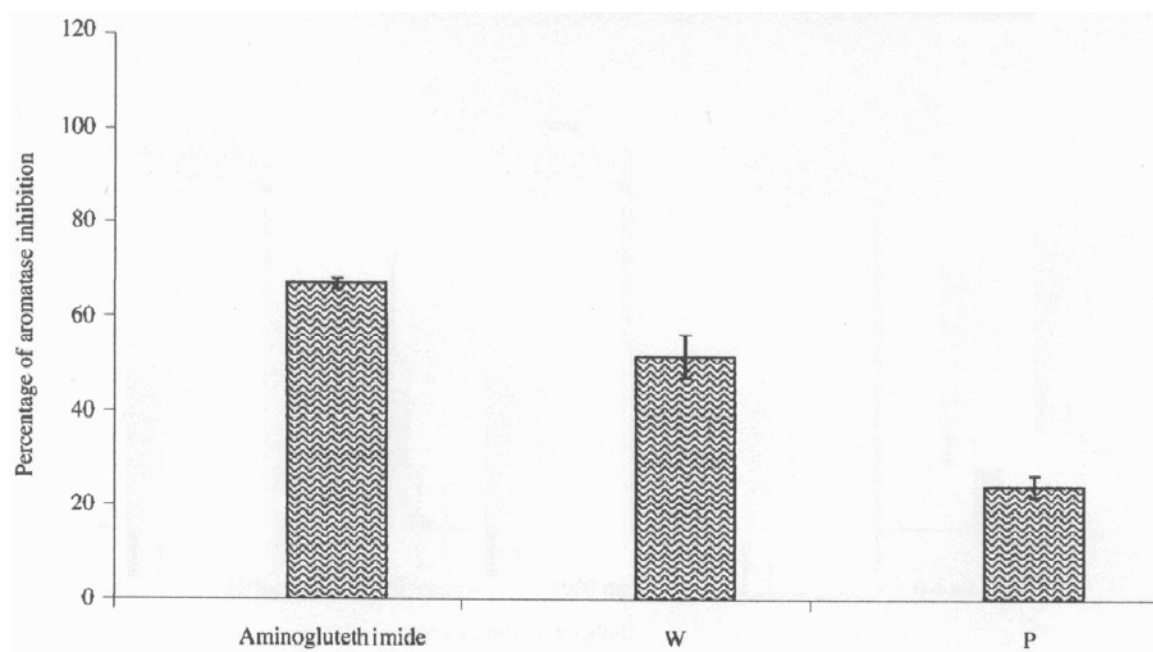


Figure 46 : Pourcentage d'inhibition de l'aromatase (œstrogène synthétase), par les polyphénols de jus fermenté (W) et d'extrait aqueux de péricarpe (P) de grenade, par comparaison à l'action inhibitrice de l'aminoglutéthimide. [33]

* Etude sur des glandes mammaires de souris.

Afin d'évaluer les effets de la grenade sur les cellules mammaires, Metha *et al.*, [40], ont réalisé des cultures de glandes mammaires de souris.

Pendant dix jours, ces cultures sont traitées avec du jus fermenté de grenade, de l'huile de graines de grenade, ou ne sont pas traitées. Ensuite, ces organes sont mis au contact d'un agent chimique cancérigène, le diméthylbenzanthrène ou DMBA. Puis ces glandes mammaires sont mises à nouveau en culture, pendant dix jours, dans le même milieu qu'avant l'exposition à l'agent cancérigène, c'est-à-dire dans un milieu enrichi ou non en extraits de grenade. Les glandes sont ensuite récoltées et le nombre de tumeurs présent dans chacune d'elles est évalué.

Les glandes mammaires mises en culture dans le milieu non enrichi en extraits de grenade sont utilisées comme contrôle. Pour les glandes mises au contact du jus fermenté de grenade, une réduction du nombre de tumeurs de 42% est observée par rapport au contrôle. Dans le cas des glandes mammaires cultivées avec l'huile de graines de grenade, une réduction de 87% du nombre de tumeurs est obtenue.

Ces chiffres dévoilent l'intérêt du jus fermenté de grenade et de l'huile de graines de grenade dans la prévention des tumeurs des glandes mammaires chez la souris. Ces résultats laissent présager d'une possible utilisation de ces extraits de grenade dans la prévention du cancer du sein chez l'Homme.

Par conséquent, la grenade semble présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer du sein, aussi bien dans un but préventif que dans un but thérapeutique. Le fait de pouvoir traiter des cancers avec des produits naturels n'est pas réalisable en l'état actuel des connaissances dans ce domaine. Néanmoins, employer des extraits de grenade en association aux traitements conventionnels du cancer du sein pourrait montrer une synergie d'action.

4. La grenade et son implication dans le cancer de la peau.

a. Incidence et mortalité du cancer de la peau.

Près de 80 à 90000 nouveaux cas de cancer de la peau sont diagnostiqués chaque année. L'Inca, l'Institut national du cancer, et le syndicat des dermatologues, notent la progression croissante en France du nombre de cancers de la peau.

L'incidence du mélanome, forme la plus sévère du cancer de la peau, croît depuis plusieurs décennies et double tous les 10 ans depuis 1945 dans tous les pays du monde. En France, 7 000 nouveaux cas de mélanomes sont diagnostiqués chaque année. [o]

Chaque année, en France, environ 1300 personnes meurent d'un cancer de la peau.

b. Histologie et étiologie du cancer de la peau.

Il existe deux principaux types de cancer de la peau : les mélanomes et les carcinomes. Les carcinomes cutanés représentent 90% des cancers cutanés. Ce sont les plus guérissables des cancers cutanés. Ils se développent sur la peau, aux endroits exposés au soleil. Un simple traitement chirurgical, effectué sous anesthésie locale, est généralement suffisant lorsque le carcinome est dépisté précocement. Une chirurgie plus mutilante est parfois nécessaire lorsqu'il est découvert tardivement.

Les mélanomes représentent environ 1% des cancers de la peau. Ils se développent progressivement, dans la plupart des cas sur une surface de peau saine, sous la forme d'une petite tache pigmentée. Le mélanome se développe, dans 15 à 20% des cas, à partir d'un grain de beauté, encore appelé *naevus*, qui se modifie. Deux tiers des mélanomes sont dus à une exposition excessive au soleil et souvent liés aux coups de soleil de l'enfance. Détecté plus tardivement, le mélanome évolue souvent en métastases, nécessitant des traitements lourds, comme la chimiothérapie.

De nombreux facteurs de risque du cancer de la peau sont bien connus aujourd'hui :

- L'exposition au soleil est le principal facteur de risque. 50 à 70% des cancers de la peau sont ainsi directement liés à une surexposition aux rayons UVA et UVB.
- Le bronzage artificiel sous lampes représente également un facteur de risque majeur.
- L'hérédité est aussi soupçonnée. En effet, 10% des mélanomes malins surviennent dans une famille dont les membres ont été atteints d'au moins 2 mélanomes sur 3 générations.
- Le type de la peau a également son importance, les personnes à peau claire ayant davantage de risques de cancer cutané lors de l'exposition au soleil, en raison de leur absence relative de pigmentation.
- Le nombre de grains de beauté présents sur la totalité du corps d'une personne est souvent pris en compte par les dermatologues. Au-delà de 50

grains de beauté, ils considèrent qu'il s'agit d'un facteur de risque important.

c. Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer de la peau.

Les graines de grenade sont riches en sucres, acides gras polyinsaturés, vitamines, polysaccharides, polyphénols et minéraux. Elles possèdent également une très forte activité antioxydante. Ces graines sont employées afin de produire une huile composée à plus de 80% d'acide gras conjugués, dont l'acide punicoïque, connu pour ses propriétés inhibitrices de la synthèse des prostaglandines et sa toxicité sur les cellules leucémiques de souris. La grenade est l'une des demi-douzaines d'espèces végétales connues à contenir ces acides gras conjugués.

Une étude publiée dans le *Journal of Medicinal Food*, [29], analyse l'activité de cette huile de graines de grenade sur des cancers de la peau chez des souris. Ainsi, deux groupes de trente souris femelles CD₁, âgées de 4 à 5 semaines, sont réalisés. Toutes les souris de ces deux groupes sont d'abord exposées, de façon topique, au 7,12-diméthylbenzanthracène, DMBA, agent chimique utilisé pour induire des cancers de la peau. Cependant cet agent ne permettant pas l'obtention rapide de tumeurs visibles, les souris sont ensuite traitées par un promoteur de tumeur, le 12-O-tétradécanoylphorbol 13-acétate (TPA), employé en topique deux fois par semaine. Une heure avant chaque application de TPA, un prétraitement local par de l'acétone, pour l'un des groupes, et par de l'acétone enrichi de 5% d'huile de grenade, pour l'autre groupe, est effectué. Après 20 semaines d'expérimentations, un ralentissement du développement des tumeurs est obtenu chez les souris traitées par l'huile de grenade, comme le montre la figure 47. Par contre, l'huile de grenade ne semble pas modifier ou retarder l'apparition de ces tumeurs, qui commencent à se développer dans les six semaines après la première application de DMBA, quelque soit le groupe observé. Ainsi, l'huile de grenade semble agir sur la promotion des tumeurs, l'incidence des tumeurs, c'est-à-dire le nombre de souris atteintes d'au moins une tumeur, étant de 93% après 20 semaines pour le groupe traité par l'huile de graines de grenade et de 100% pour les souris non traitées.

D'autre part, chez ces mêmes souris, un décompte du nombre de tumeurs par souris est effectué. Comme on peut le voir sur la figure 48, après 20 semaines d'expériences, le nombre moyen de tumeurs chez les souris non traitées par l'huile de grenade est de 20,8, alors qu'il est de 16,3 chez les souris traitées par l'huile.

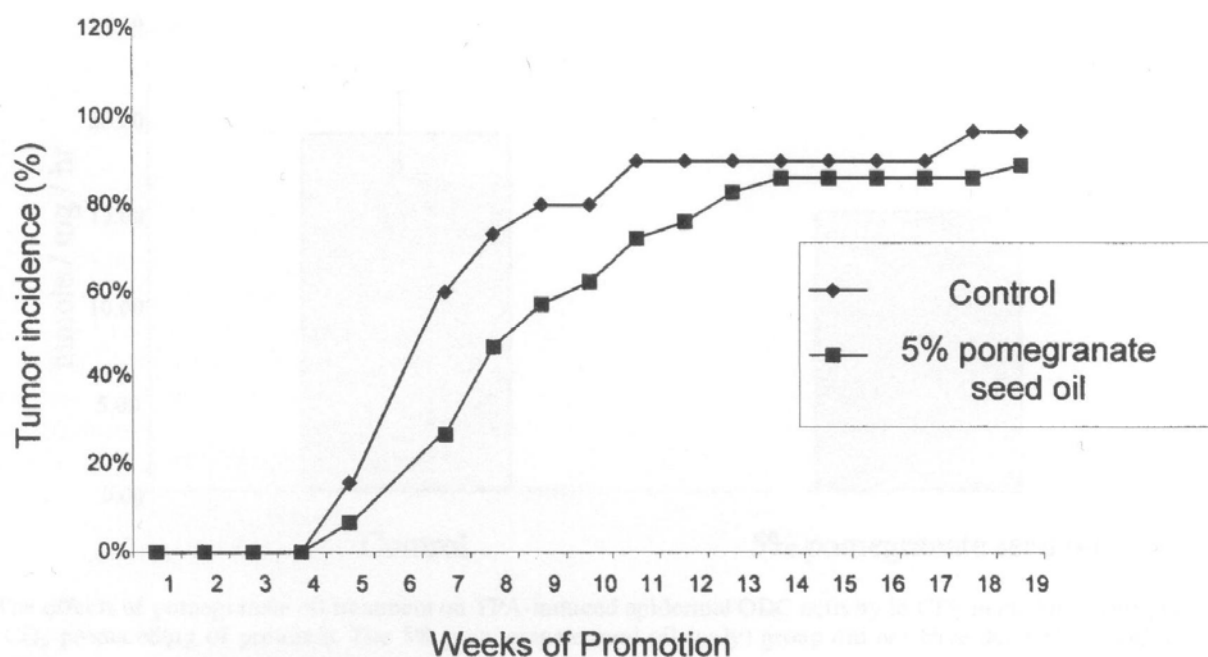


Figure 47 : Comparaison de l'incidence de tumeurs cutanées chez des souris CD₁, traitées ou non localement par de l'huile de graines de grenade, durant 20 semaines. [29]

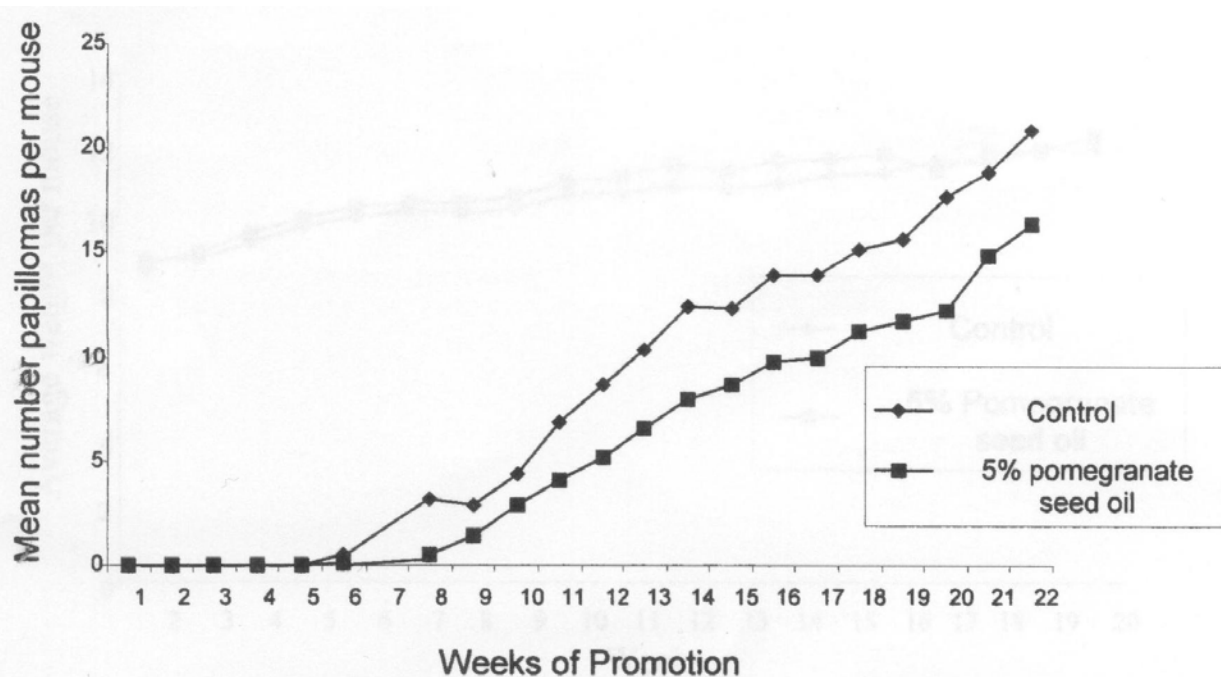


Figure 48 : Nombre moyen de tumeurs cutanées chez des souris CD₁, traitées ou non localement par de l'huile de graines de grenade, durant 20 semaines. [29]

Ainsi, comme on peut le constater sur les figures 47 et 48, l'application topique d'huile de graines de grenade paraît diminuer le développement du cancer de la peau, *in vivo*, chez des souris exposées à un agent cancérogène. En l'état actuel de nos connaissances, des résultats similaires n'ont pas encore été démontrés chez l'homme.

5. La grenade et son implication dans le cancer du poumon.

a. Incidence et mortalité du cancer du poumon.

Le cancer du poumon est l'une des formes les plus fréquentes de cancer. Les cancers du poumon sont les plus répandus dans le monde, avec 900000 nouveaux cas par an chez l'homme et 330000 chez la femme. En France, plus de 27000 nouveaux cas de cancer du poumon ont été diagnostiqués en 2000, dont 83% survenant chez l'homme. La fréquence de ce cancer chez la femme est en augmentation actuellement, elle a été multipliée par 4 en 10 ans chez les femmes de 35 à 45 ans. [L]

Le cancer du poumon est une pathologie particulièrement létale, avec environ 85% de décès dans les cinq années qui suivent le diagnostic, celui-ci étant souvent posé de façon tardive. Il représente la première cause de mortalité chez l'homme, avec près de 27000 décès par an. Il est la troisième cause de mortalité chez la femme après le cancer du sein et le cancer colorectal. [L]

b. Histologie et étiologie du cancer du poumon.

On distingue deux formes de cancer du poumon, qui croissent et se propagent différemment dans le corps. Elles ne se traitent pas de la même manière.

- Le cancer du poumon à petites cellules. Il s'agit de la forme la plus dangereuse de cancer du poumon. Elle représente environ 20% des cas de cancers du poumon. Au moment du diagnostic, le risque que le cancer se soit déjà dispersé ailleurs dans le corps est élevé. Il est presque impossible de le traiter par chirurgie. On emploie généralement la chimiothérapie et la radiothérapie.
- Le cancer du poumon non à petites cellules. Cette forme de cancer du poumon, qui représente environ 80% des cas, se détecte et se traite plus facilement que le cancer à petites cellules.

Le tabagisme est la principale cause de cancer du poumon et de décès par le cancer en général. À lui seul, le tabagisme est responsable de 90 % des cas de cancer du poumon chez les hommes et 78 % chez les femmes. D'autre part, être fréquemment exposé à la fumée secondaire de cigarette ou à des particules cancérogènes présentes dans l'air, comme celles provenant de l'amiante ou du radon, peut aussi causer le cancer du poumon.

c. Intérêt de la grenade dans la prévention du cancer du poumon.

* Etude in vitro.

Une étude, utilisant des cellules A549, cellules issues de carcinomes du poumon humain, souvent utilisées pour modéliser ce type de cancer, a été réalisée par des chercheurs du Wisconsin, afin d'évaluer les effets d'extraits de jus de grenade sur la croissance de ces cellules. [32]

Dans ce but, la viabilité des cellules A549 est comparée à celle de cellules « normales » d'un épithélium bronchique humain (normal human bronchial epithelial cells, NHBE), en présence ou non de différentes concentrations d'extrait de jus de grenade. Les cellules A549 et NHBE sont mises en culture durant 72 heures, en l'absence ou en présence de 50, 100 ou 150 µg/ml d'extrait de jus de grenade.

Comme le montrent les graphiques suivants (Figure 49), le traitement des cellules A549 par les extraits de grenade permet de réduire de, respectivement, 33, 40 et 47% la viabilité de ces cellules en présence de 50, 100 ou 150 µg/ml d'extrait de jus de grenade (PFE). Ces mêmes concentrations d'extraits de grenade n'exercent que peu d'effets sur les cellules NHBE.

Ainsi, les extraits de jus de grenade possèdent des propriétés antiprolifératives sur la croissance des cellules A549, et ce de façon dose dépendante.

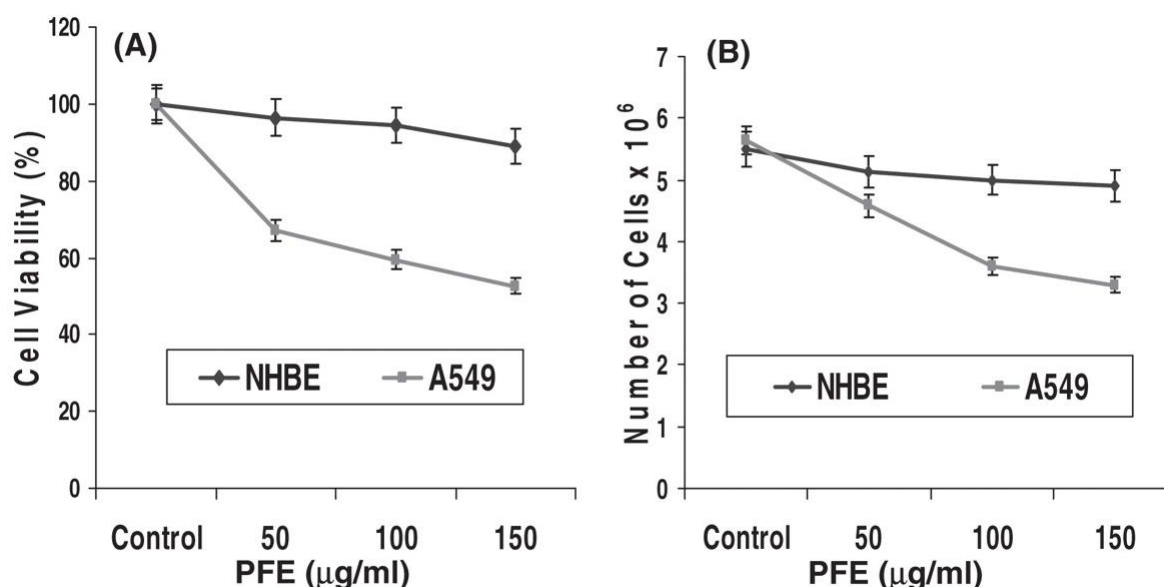


Figure 49 : Comparaison de la viabilité (A) et du nombre de cellules (B) de cultures cellulaires d'épithélium bronchique humain normal NHBE et de carcinome bronchique humain A549, en présence ou non d'extrait de jus de grenade, PFE (pomegranate fruit extract), à différentes concentrations. [32]

Afin de comprendre l'origine de ces propriétés antiprolifératives des extraits de jus de grenade, des examens complémentaires ont été réalisés par la même équipe de chercheurs.

Ainsi, ils ont montré qu'en présence de jus de grenade, un plus grand nombre de cellules se trouvent arrêtées en phase G1 du cycle cellulaire. En effet, sans jus de grenade, 60% environ des cellules analysées sont en phase G1, contre 72% en présence de 150µg/ml d'extrait de jus de grenade. Le jus de grenade semble donc intervenir sur la régulation du cycle cellulaire.

D'autres tests ont permis de montrer que l'arrêt en phase G1 du cycle cellulaire des cellules A549, en présence de jus de grenade, est lié à l'induction des complexes WAF1/p21 et KIP1/p27, complexes connus pour réguler l'entrée des cellules en phase S, après contrôle de l'intégrité du matériel génétique. Egalement, le jus de grenade diminue de façon dose dépendante l'expression des cyclines D1, D2, E et des kinases cycline-dépendantes cdk2, cdk4 et cdk6.

Donc, les extraits de jus de grenade permettent de bloquer les cellules de carcinome bronchique humain A549 en phase G1 du cycle cellulaire, ralentissant ainsi la prolifération de ce tissu cancéreux.

* Etude *in vivo*.

Afin de développer de nouvelles stratégies préventives du cancer du poumon, une équipe de chercheurs du Wisconsin a analysé les effets d'une consommation orale d'extrait de jus de grenade sur le développement, la croissance et l'extension du cancer du poumon chez des souris, en présence de différents agents cancérogènes. [31]

Deux agents cancérogènes sont ainsi utilisés pour induire le cancer du poumon, le benzo(a)pyrène, B(a)P, et la N-nitroso-trichloroéthylurée, NTCU.

Le benzo(a)pyrène est l'un des plus connus hydrocarbures aromatiques polycycliques. Il se forme lors de la combustion incomplète ou de la pyrolyse de matériaux organiques. Ainsi, il est présent dans de nombreuses fumées, dans les gaz d'échappements de moteurs à explosion et dans la fumée de cigarette. Le B(a)P est absorbé par voie orale, pulmonaire ou cutanée. Il est ensuite rapidement métabolisé en une vingtaine de métabolites oxydés et en un grand nombre de composés conjugués qui peuvent, entre autre, causer des modifications de l'ADN, entraîner des cancers et des altérations génétiques héréditaires, altérer la fertilité et être tératogène.

Quarante huit souris femelles, de la variété A/J, âgées d'environ sept semaines, réparties en quatre groupes de douze souris, sont utilisées. Les souris des groupes 1 et 3 reçoivent de l'eau normale, et les souris des groupes 2 et 4 de l'eau enrichie par 0,2% d'extrait de jus de grenade.

Une semaine après le début de l'expérience, les souris des groupes 3 et 4 sont exposées au benzo(a)pyrène. Les souris des groupes 1 et 2 sont utilisées comme contrôle. Non exposées au benzo(a)pyrène, elles ne doivent présenter aucune tumeur. Au 84^{ème} jour après l'exposition au B(a)P, six souris de chaque groupe sont sacrifiées, les autres souris étant sacrifiées au 140^{ème} jour.

Comme le montre la figure 50, la complémentation en jus de grenade permet de réduire le nombre de tumeurs du poumon présentes de, respectivement, 53,9% et 61,6% au 84^{ème} et 140^{ème} jour après l'exposition au benzo(a)pyrène. Les souris des groupes 1 et 2 ne présentent aucune tumeur. Cela permet donc d'affirmer que les cancers du poumon, chez ces souris, sont causés par le benzo(a)pyrène.

La même expérience est réalisée avec un autre agent cancérigène, la N-nitroso-trichloroéthylurée. Les souris sont, cette fois-ci, toutes sacrifiées au 240^{ème} jour après l'exposition à la NTCU. Une réduction de 65,9% du nombre de tumeurs du poumon est observée chez les souris complémentées par le jus de grenade, comme le montre la figure 51.

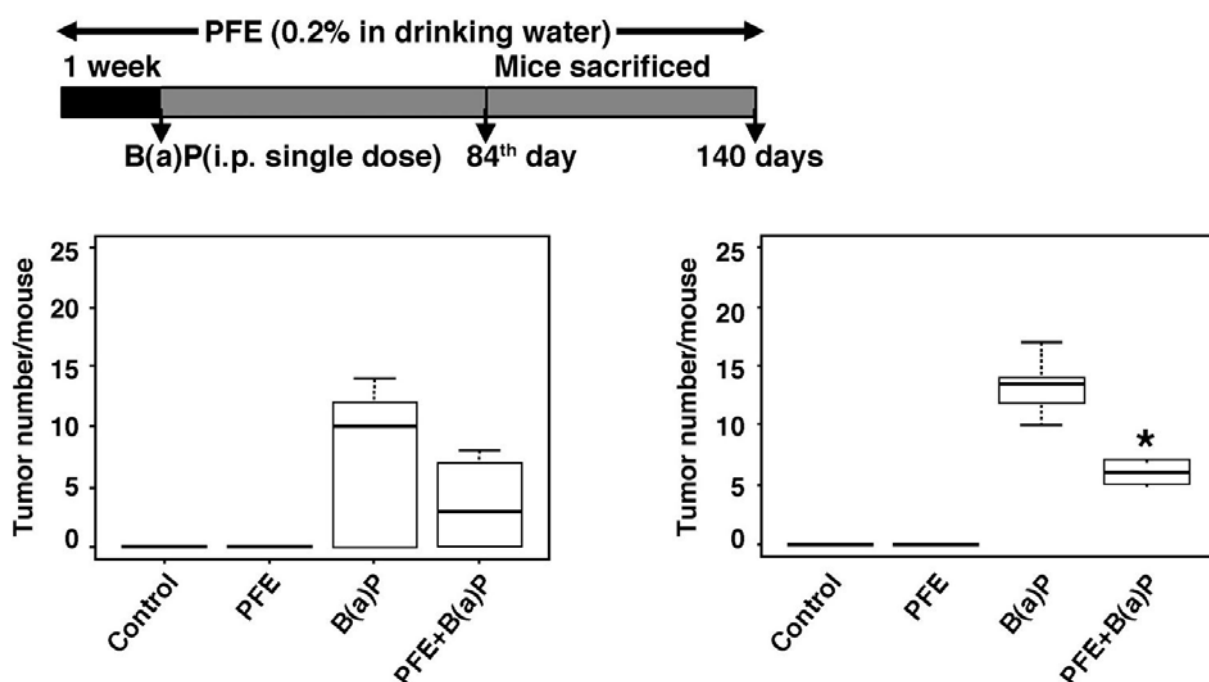


Figure 50 : Comparaison du nombre de tumeurs du poumon, chez des souris compl ment es ou non en extrait de jus de grenade (PFE), et expos es ou non   un agent cancérogène, le benzo(a)pyrène (B(a)P), au 84^{ème} jour et au 140^{ème} jour après contact avec l'agent cancérogène. [31]

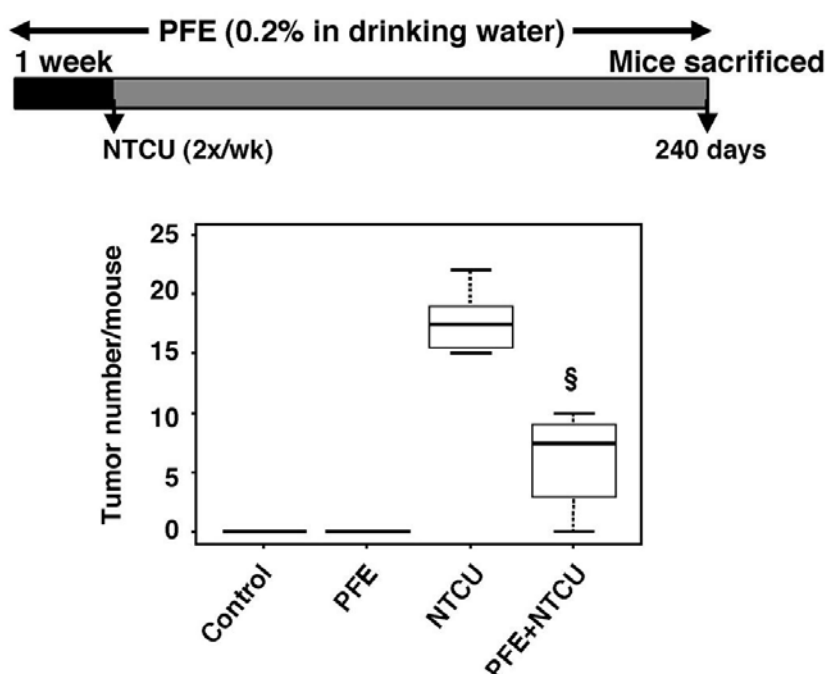


Figure 51 : Comparaison du nombre de tumeurs du poumon, chez des souris compl ment es ou non en extrait de jus de grenade (PFE), et expos es ou non   un agent cancérogène, la N-nitroso-trichloroéthylurée (NTCU), 240 jours après contact avec l'agent cancérogène. [31]

Une autre étude a consisté à inoculer des cellules A549 chez des souris de la variété *nude*, sans thymus, donc sans système immunitaire efficace, afin de déterminer la durée nécessaire pour l'apparition de petites tumeurs solides. [32]

Durant toute la période expérimentale, certaines de ces souris boivent de l'eau enrichie par 0,1 ou 0,2% d'extrait de jus de grenade, les autres souris ne buvant que de l'eau. Lorsque la tumeur d'une souris atteint 1200mm³, l'animal est sacrifié. En moyenne, les souris non complémentées sont sacrifiées 55 jours après l'injection des cellules A549. Les souris complémentées par 0,1 et 0,2% d'extrait de grenade sont sacrifiées plus tardivement, respectivement en moyenne à 67 et 79 jours après inoculation des cellules cancéreuses. (Figure 52)

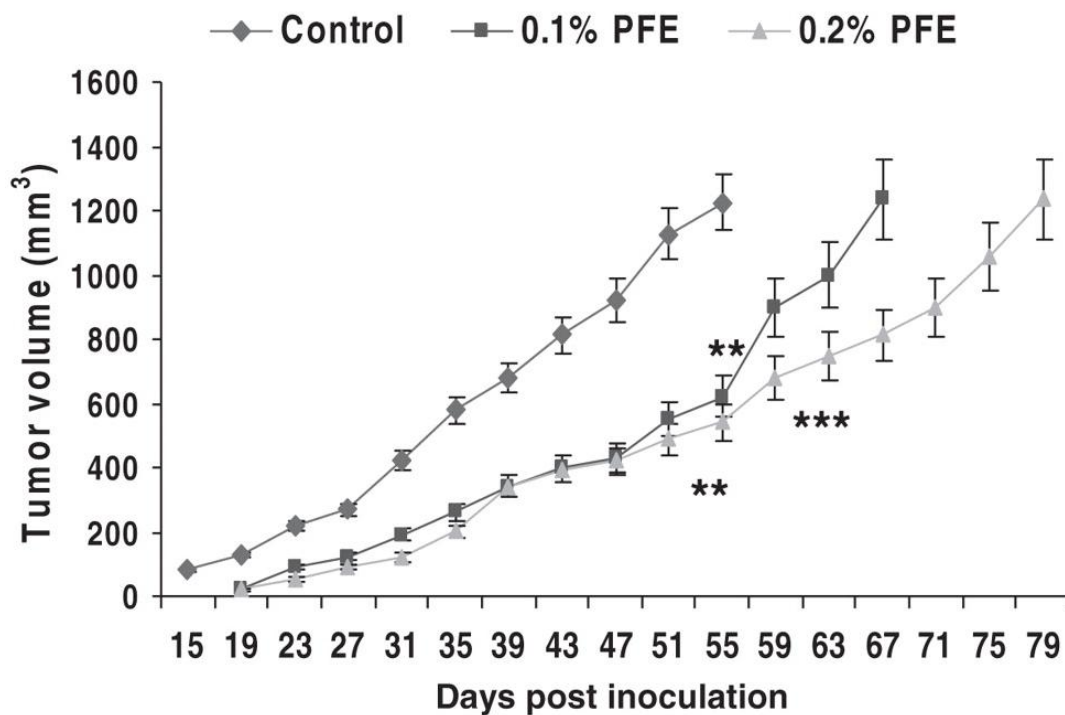


Figure 52 : Effets de l'administration orale de 0,1 et 0,2% d'extrait de grenade (0,1% PFE et 0,2% PFE), sur la croissance de tumeurs du poumon, après inoculation de cellules A549 au jour 0, chez des souris *nude* sans thymus. [32]

Les études suivantes laissent espérer des résultats prometteurs pour l'utilisation d'extraits de jus de grenade comme agent préventif et/ou curatif dans le cancer du poumon. Ce cancer étant très souvent détecté tardivement et évoluant très rapidement, la consommation de jus de grenade pourrait permettre de ralentir son développement et ainsi d'augmenter, au moins de quelques mois, l'espérance de vie de patients atteints par ce type de tumeurs.

E. Propriétés antidiabétiques du grenadier.

Le diabète de type II, auparavant nommé diabète non insulino-dépendant ou diabète sucré, représente une véritable « épidémie » liée à l'accroissement et au vieillissement de la population, ainsi qu'à l'obésité, aux régimes alimentaires malsains et aux modes de vie sédentaires, facteurs étroitement associés à l'urbanisation et à l'industrialisation.

1. Le diabète et ses facteurs de risque.

a. Epidémiologie du diabète.

En Europe, on estime qu'il y a plus de 21 millions de diabétiques de type II, et ce chiffre est en perpétuelle augmentation.

En effet, une étude de l'OMS, Organisation Mondiale de la Santé, comptait en 1998, 143 millions de diabétiques dans le monde, types I et II confondus. Le diabète de type II représentant plus de 90% des diabétiques. Elle prévoit, pour 2025, plus de 300 millions de malades, dont 2,4 millions seulement pour la France.

D'après ces prévisions, le nombre d'adultes affectés par le diabète de type II entre 1995 et 2025, dans les pays développés, se verra augmenté de 170%, passant de 84 à 228 millions de personnes. De même, sur le plan mondial, le nombre de diabétiques passera de 135 à 300 millions, soit une hausse de 122%. [Q]

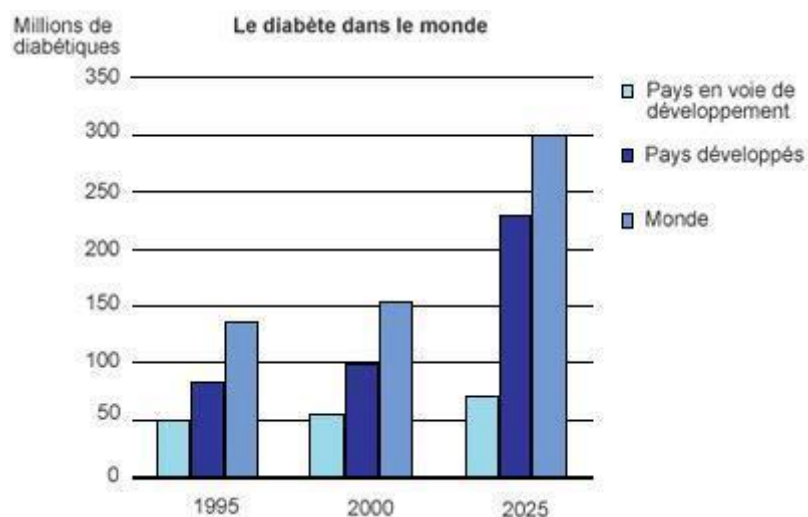


Figure 53 : Prévisions de l'évolution du nombre de diabétiques dans le monde, d'après l'OMS, Organisation Mondiale de la Santé, entre 1995 et 2025. [w]

b. Physiopathologie du diabète de type II.

Le diabète de type II associe quatre anomalies :

- Un déficit relatif de la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques, qui peut être temporairement stimulée par les sulfamides hypoglycémiants.
- Une résistance hépatique à l'action de l'insuline, responsable d'un défaut de régulation de la production hépatique du glucose, provoquant une hyperglycémie à jeun. C'est à ce niveau qu'agit préférentiellement la metformine.
- Une insulino-résistance musculaire qui peut être améliorée par les glitazones.
- Une insulino-pénie en partie responsable du défaut d'écrêtage de l'hyperglycémie postprandiale faute de captation par le foie ou les muscles du glucose libéré en masse par la digestion. Ce phénomène peut être minimisé par l'étalement dans le temps de l'absorption intestinale du glucose grâce aux inhibiteurs des α -glucosidases.

c. Le diabète et ses complications.

Le diabète et ses complications ont d'importantes conséquences économiques pour les malades, leur famille, et les systèmes de santé. Ainsi, à plus ou moins long terme, le diabète peut entraîner des lésions du cœur, des vaisseaux sanguins, des yeux, des reins et des nerfs.

- La rétinopathie diabétique, cause importante de cécité, résulte de l'accumulation de lésions des petits vaisseaux de la rétine. Au bout de 15 ans, environ 2 % des diabétiques perdent la vue et environ 10 % ont un grave handicap visuel.
- Les neuropathies diabétiques sont des lésions nerveuses causées par le diabète, jusqu'à 50 % des diabétiques en souffrent. Elles se manifestent par des fourmillements, des douleurs, un engourdissement ou une faiblesse dans les pieds et les mains.
- Associée à une mauvaise circulation sanguine, la neuropathie augmente le risque d'ulcère du pied pouvant nécessiter l'amputation.
- Le diabète figure parmi les principales causes d'insuffisance rénale. Entre 10 et 20 % des diabétiques décèdent d'une insuffisance rénale.
- Le diabète augmente le risque de cardiopathie et d'accident vasculaire cardiovasculaire.

2. La grenade et le diabète de type II.

Les fleurs de grenadiers sont, depuis longtemps, reconnues par les médecines ayurvédique et unani, médecines vieilles de plus de 5000 ans, pour leur action sur le diabète. C'est pourquoi, depuis quelques années, des études sont réalisées sur ces fleurs, afin de déterminer scientifiquement si elles possèdent de réels pouvoirs hypoglycémiants.

a. Activité inhibitrice des α -glucosidases intestinales.

Une première étude, réalisée par des chercheurs indiens [30], analyse les propriétés thérapeutiques d'extraits éthanoliques de fleurs de grenadiers sur différentes populations de rats : des rats « normaux », des rats « normaux » mis à la diète, et des rats rendus diabétiques de type I par l'alloxane, puissant toxique sélectif des cellules β du pancréas.

L'action des différents extraits de fleurs de grenadier est comparée à celle du tolbutamide, puissant hypoglycémiant qui agit en stimulant la libération d'insuline par le pancréas. Il appartient à la classe thérapeutique des sulfamides hypoglycémiants. Le tolbutamide n'est représenté par aucune spécialité en France, par contre, aux Pays Bas, en Angleterre, en Allemagne et en Italie, cette molécule est commercialisée.

Chez les rats « normaux », suite à l'administration orale de sucres, la glycémie augmente puis diminue progressivement pour revenir à sa valeur de départ, mimant ainsi le pic post-prandial. Comme l'indique la figure 54, le pic est moins marqué chez les rats complémentés en extraits de fleurs de grenadiers, et inexistant chez ceux traités par le tolbutamide. Les résultats obtenus chez les rats complémentés avec 400 ou 500 mg/kg d'extraits éthanoliques de fleurs de grenadiers paraissent presque identiques.

Dans le cas des rats mis à la diète, (figure 55), hormis le fait que les valeurs des glycémies soient plus faibles, les caractéristiques observées pour les rats « normaux » restent vraies. Néanmoins, chez les rats complémentés en extraits de fleurs de grenadier, après le pic post-prandial, il apparaît une forte diminution de la glycémie puis, à nouveau, une augmentation de celle-ci. Cette modification de la glycémie, caractéristique des fleurs de grenadier, n'existe pas avec le tolbutamide. Les extraits de fleurs de grenadier semblent donc agir par un processus différent de celui observé avec le tolbutamide.

De la même façon, chez les rats rendus diabétiques de type I par l'alloxane, (figure 56), et complémentés par les extraits de fleurs de grenade, la glycémie baisse après une heure, puis augmente à nouveau après deux heures. Par contre, le tolbutamide semble être peu efficace chez ces rats, ce qui est normal car, pour être efficace, le tolbutamide requiert une production minimale de 30% d'insuline, impossible ici car les cellules produisant l'insuline ont été détruites par l'alloxane.

Finalement, les extraits éthanoliques de fleurs de grenadiers montrent une réelle aptitude à faire baisser la glycémie. D'après la composition chimique des fleurs de grenadier étudiée précédemment, on peut penser que les principes actifs de ces extraits sont l'acide gallique et/ou l'acide asiatique. Néanmoins, ces extraits ne semblent pas agir sur le pancréas, car les effets observés sont bien différents de ceux trouvés avec le tolbutamide. Enfin, les résultats obtenus avec une complémentation de 400 ou 500 mg/kg étant presque identiques, il semble suffisant de conseiller un apport de 400mg d'extrait par kilogramme de poids de l'individu à traiter.

Effect of oral administration of different doses of *P. granatum* extract and tolbutamide on oral glucose tolerance in normal rats^a

Sampling time (min)	Blood glucose level (mg/dl)				
	Vehicle (10% v/v Tween 80, 10 ml/kg)	Tolbutamide, 500 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 300 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 400 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 500 mg/kg
0	67.36 ± 1.69	63.50 ± 1.95	59.33 ± 1.60	63.66 ± 1.72	64.00 ± 1.06
30	133.00 ± 1.65	56.83 ± 0.86 ^{b,c}	110.00 ± 3.89 ^b	100.66 ± 3.85 ^b	99.33 ± 3.54 ^b
90	100.33 ± 1.65	41.33 ± 1.65 ^{b,c}	90.16 ± 3.32 ^b	81.00 ± 4.28 ^b	80.16 ± 2.94 ^b

^a Values are expressed as mean ± S.E.M (*n* = 6).

^b Statistically significant difference to the vehicle.

^c Statistically significant difference to the corresponding zero time value.

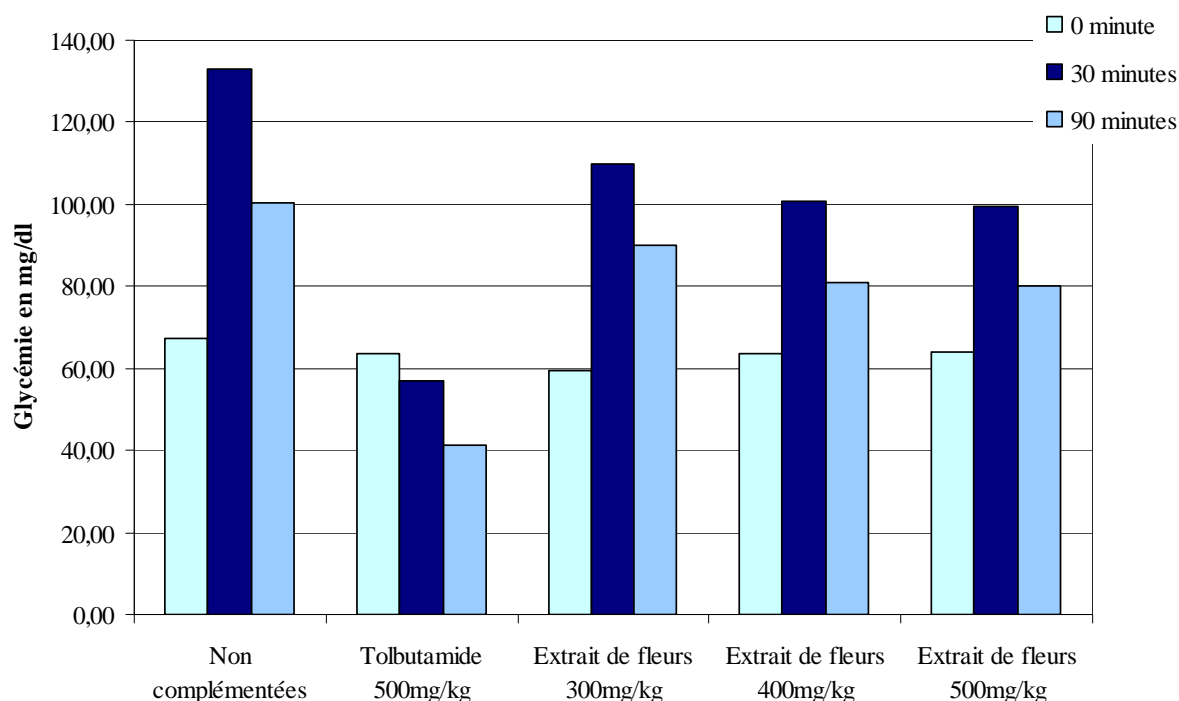


Figure 54 : Tableau et graphique illustrant les effets de l'administration orale de différentes doses d'extrait de fleurs de *Punica granatum* et de tolbutamide sur la glycémie de rats normaux. [30]

Effect of oral administration of different doses of *P. granatum* extract and tolbutamide on the mean blood glucose level in normal fasted rats^a

Sampling time (h)	Blood glucose level (mg/dl)				
	Vehicle (10% v/v Tween 80, 10 ml/kg)	Tolbutamide, 500 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 300 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 400 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 500 mg/kg
0	57.33 ± 1.45	66.33 ± 2.45	63.50 ± 1.96	62.16 ± 1.66	66.83 ± 1.54
1	66.16 ± 1.16	60.68 ± 0.33 ^{b,c}	69.33 ± 0.71	70.83 ± 1.49	72.50 ± 3.20
2	67.50 ± 0.61	46.00 ± 1.24 ^{b,c}	57.50 ± 0.76 ^{b,c}	53.16 ± 1.19 ^{b,c}	52.00 ± 1.39 ^{b,c}
3	64.33 ± 0.84	40.16 ± 1.11 ^{b,c}	68.00 ± 3.60	66.50 ± 3.60	69.00 ± 4.70

^a Values are expressed as mean ± S.E.M (*n* = 6).

^b Statistically significant difference to the vehicle.

^c Statistically significant difference to the corresponding zero time value.

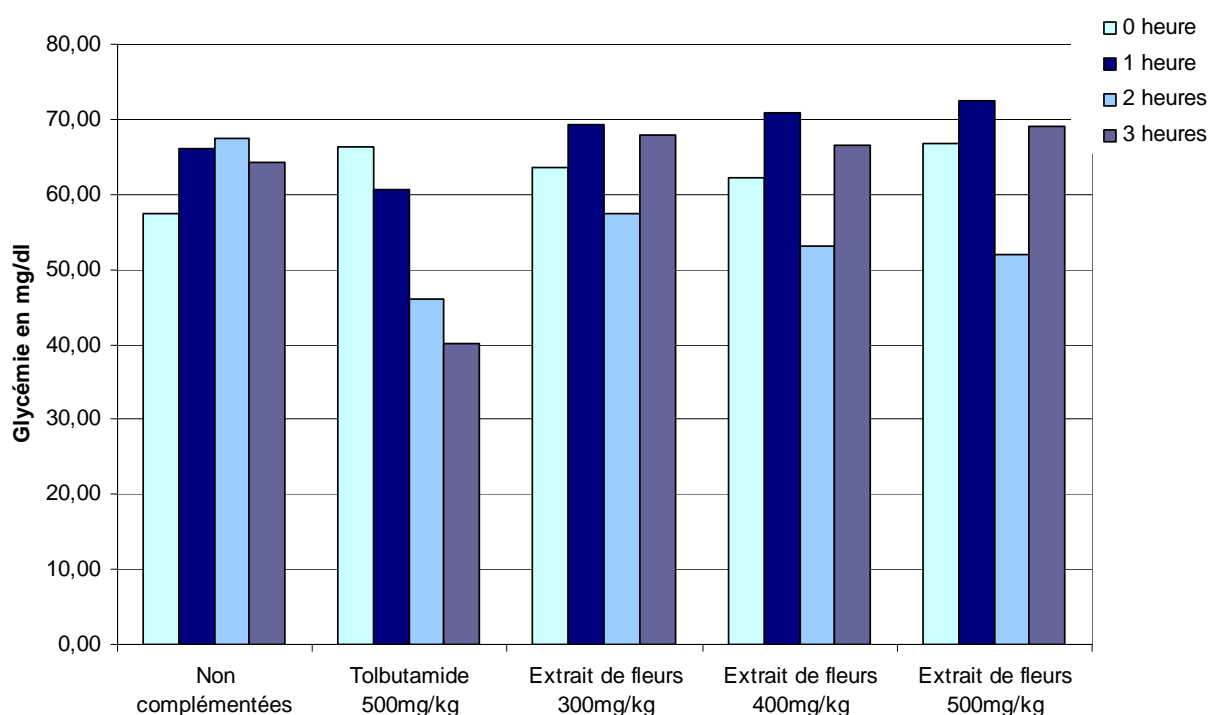


Figure 55 : Tableau et graphique illustrant les effets de l'administration orale de différentes doses d'extrait de fleurs de *Punica granatum* et de tolbutamide sur la glycémie de rats mis à la diète. [30]

Effect of oral administration of different doses of *P. granatum* extract and tolbutamide on the mean blood glucose level in alloxan diabetic rats^a

Sampling time (h)	Blood glucose level (mg/dl)				
	Vehicle (10% v/v Tween 80, 10 ml/kg)	Tolbutamide, 500 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 300 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 400 mg/kg	<i>P. granatum</i> , 500 mg/kg
0	282.83 ± 4.12	267.16 ± 6.60	271.66 ± 4.07	280.40 ± 7.80	274.83 ± 2.82
1	277.40 ± 6.50	255.00 ± 4.95	193.66 ± 3.96 ^{b,c}	193.16 ± 2.15 ^{b,c}	189.20 ± 3.42 ^{b,c}
2	271.83 ± 2.15	240.00 ± 5.65	205.50 ± 2.92 ^{b,c}	200.00 ± 3.04 ^{b,c}	198.83 ± 4.15 ^{b,c}

^a Values are expressed as mean ± S.E.M. (*n* = 6).

^b Statistically significant difference to the vehicle.

^c Statistically significant difference to the corresponding zero time value.

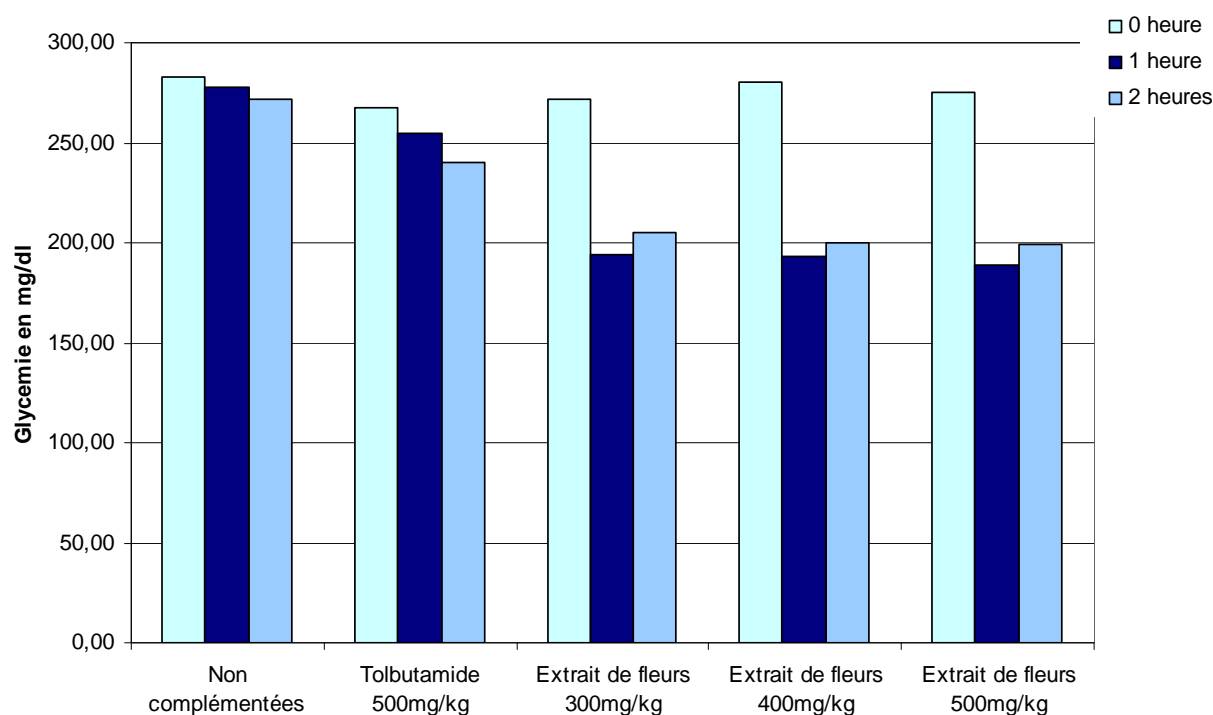


Figure 56 : Tableau et graphique illustrant les effets de l'administration orale de différentes doses d'extrait de fleurs de *Punica granatum* et de tolbutamide sur la glycémie de rats diabétiques. [30]

Une étude plus récente, datant de 2005, et réalisée par une équipe de chercheurs australiens, [57], compare des extraits éthanoliques de fleurs de grenadier à l'action de l'acarbose, chez des souris alimentées en saccharose ou en glucose.

L'acarbose est une molécule utilisée dans le traitement du diabète et commercialisé en France sous la spécialité Glucor®. Il s'agit d'un inhibiteur des α -glucosidases intestinales, enzymes responsables de la dégradation de sucres complexes (amidon, saccharose), en molécules plus petites telles que le glucose, capables de traverser la barrière intestinale pour passer dans le sang. L'acarbose ralentit la dégradation des sucres complexes et donc le passage du glucose dans le sang. Il atténue ainsi l'élévation de la glycémie après le repas, réduisant le pic post-prandial.

Dans le cas de souris alimentées avec du saccharose, disaccharide associant une molécule de glucose et une molécule de fructose, l'administration de différentes concentrations d'extraits de fleurs de grenadier, entraîne une nette diminution, de 14 à 20% du pic post-prandial, en comparaison à des souris non-complémentées. L'administration d'acarbose montre les mêmes effets mais moins marqués, réduisant d'environ 10% seulement la glycémie.

Dans le cas de souris alimentées avec du glucose, monosaccharide ne nécessitant pas de transformation pour être assimilé, la complémentation en extrait de fleurs de grenadier ou en acarbose, ne modifie pas la glycémie post-prandiale.

Il semble donc que les extraits éthanoliques de fleurs de grenadier agissent sur la glycémie post-prandiale par un mécanisme similaire à l'acarbose, inhibiteur des α -glucosidases. Ils permettent ainsi d'écarter le pic post-prandial. Les extraits de fleurs de grenadier paraissent même être plus puissants que l'acarbose. Néanmoins, des études chez l'homme doivent être réalisées avant d'envisager utiliser les extraits de fleurs de grenadier comme traitement du diabète. En effet, ces extraits doivent démontrer leur efficacité sur les α -glucosidases humaines.

b. Activité agoniste des PPAR- γ .

Les PPAR- γ , (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors), appartiennent à une superfamille de récepteurs nucléaires, les PPAR, qui comprend plusieurs isoformes, dont les PPAR- α , localisés principalement dans le foie, et les PPAR- γ , surtout présents dans le tissu adipeux. Les récepteurs PPAR- γ ont fait l'objet des recherches importantes ces dernières années, depuis la démonstration de leur activation par les thiazolidinediones ou glitazones, une nouvelle classe d'antidiabétiques oraux, comprenant la pioglitazone, Actos® et la rosiglitazone, Avandia®. Outre leurs effets sur la sensibilité à l'insuline, les glitazones exercent des effets pléiotropes susceptibles d'exercer une protection cardio-vasculaire chez les sujets à haut risque.

Une étude, réalisée par des chercheurs australiens, [54], démontre que l'administration orale d'extraits méthanoliques de fleurs de *Punica granatum* durant six semaines, à raison d'un apport quotidien de 500mg d'extrait par kilogramme de poids, diminue la glycémie de souris atteintes d'un diabète de type II.

Par ailleurs, l'utilisation de la RT-PCR, technique très sensible pour la détection d'ARN messagers, chez ces souris traitées par les fleurs de grenade, met en évidence l'augmentation de la quantité d'ARNm de PPAR- γ cardiaques ainsi qu'une restauration de la down-régulation des ARNm de transporteurs cardiaques du glucose, les GLUT-4. Ces résultats suggèrent que l'activité anti-diabétique des extraits de fleurs de grenade provient d'une amélioration de la sensibilité des récepteurs à l'insuline, avec entre autre une activité agoniste des récepteurs PPAR- γ . Ainsi, l'activation des récepteurs PPAR- γ , en améliorant la sensibilité des récepteurs à l'insuline, assure la régulation de la glycémie.

Il semblerait, d'après cette même étude, que l'activité agoniste des récepteurs PPAR- γ des extraits de fleurs de grenadiers, soit essentiellement due à la présence d'acide gallique dans ces fleurs.

Les fleurs de grenadiers semblent donc posséder de réelles propriétés hypoglycémiantes. Néanmoins, le mode d'action exacte de cette fleur ne paraît pas encore être totalement élucidé. Il reste, en l'état actuel de nos connaissances, un important travail de recherche à effectuer avant de pouvoir, éventuellement, voir un jour apparaître sur le marché des médicaments, un produit à base de fleurs de grenade, pour traiter le diabète de type II.

F. Propriétés antimicrobiennes de la grenade.

L'émergence, de plus en plus fréquente, de microorganismes résistants aux actuels traitements antibactériens, antifongiques et antiviraux, contraint les chercheurs à découvrir de nouveaux principes actifs. C'est au sein du monde végétal, grand réservoir de molécules, que l'on espère trouver aujourd'hui la solution à ces nombreuses résistances.

1. Activités antibactériennes.

a. Spectre d'action de *Punica granatum*.

Malgré les progrès de la médecine, les maladies infectieuses constituent aujourd'hui la première cause de mortalité dans le monde. Les scientifiques sont perpétuellement à la recherche de nouvelles molécules.

Prashanth *et al.* [48] ont étudiés, *in vitro*, l'action de différents extraits d'écorce de grenade (péricarpe) sur six espèces bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*. Les extraits d'écorce de grenade employés sont obtenus à partir de solvants différents, permettant d'isoler les divers principes actifs de ce fruit. Ainsi, en utilisant comme solvant l'eau, on isole les tanins, avec le méthanol, les tanins et les alcaloïdes, avec le chloroforme, les alcaloïdes et enfin avec l'éther de pétrole, les stérols. On mesure alors la concentration minimale inhibitrice de ces extraits sur des cultures bactériennes réalisées sur gélose.

Tous les extraits testés montrent une activité antibactérienne, quelle que soit l'espèce bactérienne cultivée. Néanmoins, l'extrait méthanolique semble posséder une activité antibactérienne plus importante que les autres extraits, essentiellement sur *S. aureus*, *P. vulgaris* et *B. subtilis*.

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède donc, *in vitro*, une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, explique probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes.

b. Action sur *Staphylococcus aureus* méthicillino-sensible et méthicillino-résistant.

De nombreux progrès ont été réalisés dans tous les domaines de la médecine, depuis le début du XX^{ème} siècle, grâce à la découverte et à l'utilisation des antibiotiques.

Cependant, leur emploi abusif est responsable de l'émergence de bactéries résistantes à ces traitements. Ainsi, le nombre d'infections, causées par des *Staphylococcus aureus* méthicillino-résistants, au sein des hôpitaux, a nettement augmenté ces dix dernières années.

Pour ces raisons, Braga *et al.* [12] ont tenté de montrer l'intérêt de l'association de substances végétales aux traitements antibiotiques afin de réduire ces résistances. Ainsi, ils évaluèrent l'action d'un extrait méthanolique de *Punica granatum*, réalisé à partir de fruits entiers séchés, sur 30 souches de *Staphylococcus aureus*, parmi lesquels 7 méthicillino-résistants, en présence d'un antibiotique : l'ampicilline, l'oxacilline, la gentamicine, le chloramphénicol ou une tétracycline. Afin de pouvoir évaluer l'action de l'association extrait de grenade/antibiotique sur la croissance de ces bactéries, les mêmes souches bactériennes sont traitées par une quantité identique d'extrait de grenade seul ou d'antibiotique seul.

Tout d'abord, les résultats de cette étude n'indiquent aucun effet antagoniste entre l'extrait de grenade et les 5 antibiotiques employés sur la croissance des différentes souches de *Staphylococcus aureus*. Il semble que l'extrait de grenade n'améliore pas l'action de la gentamicine et des tétracyclines. Par contre, cet extrait ralentit nettement le développement des bactéries lorsqu'il est associé à l'oxacilline, au chloramphénicol et à l'ampicilline. De plus, cette synergie d'action est d'autant plus visible sur les souches méthicillino-résistantes.

Les résultats de cette étude montrent clairement que des extraits végétaux, comme ici l'extrait de grenade, peuvent permettre d'améliorer l'action antibactérienne de certains antibiotiques, et de lutter contre l'apparition de souches bactériennes résistantes aux traitements.

Une autre étude, effectuée par une équipe brésilienne, [37], démontre l'efficacité d'un extrait, obtenu par action d'une solution d'acétate d'éthyle sur des épicarpes de grenade, sur des souches de *Staphylococcus aureus* méthicillino-résistantes. Des examens chromatographiques ont permis d'isoler le principe actif responsable de cette activité antibactérienne. Ce principe actif est un ellagitannin, la punicalagine.

2. Activités antivirales.

a. Action sur le VIH-1.

Le SIDA (Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise), maladie causée par un virus, le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), se classe parmi les maladies les plus dévastatrices au monde. On estime à 33 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde. 25 millions de malades sont déjà morts du SIDA et, chaque jour, environ 7000 individus sont contaminés par le virus. (Report on the global AIDS epidemic 2008, [O])

En 1996, l'apparition de la thérapie antirétrovirale fut un progrès décisif dans le traitement de l'infection à VIH. Elle a permis de réduire considérablement la morbidité et la mortalité des sujets atteints dans les pays développés. Malheureusement, l'accès à ces thérapies très coûteuses reste impossible aux malades des pays en voie de développement.

La réalisation d'un vaccin anti-VIH est toujours en cours de développement. Dans l'attente de celui-ci, de nombreuses études sont réalisées sur d'autres types de traitements. Entre autres, les microbicides, produits vaginaux visant à réduire le risque de transmission du VIH pendant les rapports sexuels. A la différence de la thérapie antirétrovirale, qui traite l'infection par le VIH à travers l'ensemble de l'organisme et l'infection une fois survenue, les microbicides sont conçus pour être utilisés à l'intérieur du vagin avant un rapport sexuel, afin d'empêcher l'installation de l'infection.

C'est dans cet objectif que Neurath *et al.* [42] ont analysés l'action de différents jus de fruits, et plus particulièrement celle du jus de grenade, sur la reconnaissance et l'entrée dans la cellule hôte, de différents sous-types de VIH-1.

Le virus du SIDA, présent dans le sang, est capable de se fixer à des cellules particulières du système immunitaire : les lymphocytes T4. Ces lymphocytes sont ainsi nommés, car porteurs de la protéine transmembranaire CD4. La fixation du virus à ces cellules fait intervenir la protéine CD4, reconnue par la protéine gp120 du virus, ainsi que d'autres protéines membranaires, les co-récepteurs. A partir de cette fixation, le matériel génétique du VIH peut pénétrer dans le lymphocyte où il se multiplie, donnant ainsi naissance à de nombreux autres virus qui iront infester de nouveaux lymphocytes.

Les résultats de cette étude montrent que, *in vitro*, du jus de grenade adsorbé sur de l'amidon de maïs permet de bloquer la fixation du virus sur ses cellules cibles. En effet, il semble que le complexe jus de grenade/amidon de maïs, se fixe sur la protéine gp120 du virus, empêchant ainsi l'adhésion aux lymphocytes et aux co-récepteurs. De ce fait, le virus ne pouvant pas pénétrer dans le lymphocyte, il ne devient pas pathogène.

En l'absence de vaccin contre le SIDA, les microbicides topiques susceptibles de bloquer la transmission du virus pourraient s'avérer très utiles. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée du VIH-1 qui peuvent être isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires. L'extrait de grenade pourrait être utilisé pour la production d'un microbicide efficace. De plus, ce produit à base de grenade et d'amidon de maïs serait relativement bon marché, et donc accessible aux pays en voie de développement, où ce virus fait des ravages.

b. Action sur d'autres virus.

Le spectre d'action de la grenade contre les virus ne semble pas se limiter au virus du SIDA. En effet, plusieurs études ont montré des résultats encourageants sur certains virus.

Ainsi, des extraits de péricarpe de grenade se montrent actifs contre les trois variants du virus de l'herpes simplex de type 1, HSV 1, responsable de l'herpès buccal, neuro-méningé, ophtalmique, et dans quelques cas génital (l'herpès génital étant plus généralement causé par le HSV de type 2).

Le virus respiratoire syncytial humain, VRS ou RSV, est la cause la plus fréquente, dans le monde, d'infections respiratoires des jeunes enfants. Ce virus semble également sensible aux extraits de grenade.

Enfin, des extraits alcooliques de grenades entières, présentent une forte activité antivirale contre le virus de l'*influenza*, en cause dans tous les types de grippes, notamment dans la grippe aviaire. [49]

3. Activités antifongiques.

a. Action sur les infections bucco-dentaires.

La bouche n'est pas un milieu stérile. Des millions de microorganismes y résident, en suspension dans la salive ou au contact des dents et des muqueuses au sein du biofilm dentaire. Cette flore commensale assure la santé bucco-dentaire de son hôte. Les infections bucco-dentaires apparaissent en cas de détérioration de ce biofilm, laissant la possibilité de se développer à des microorganismes pathogènes. Les plus fréquentes pathologies, les caries, mettent en cause la prolifération de deux bactéries en présence de saccharose : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus casei*. D'autre part, le développement de levures comme *Candida albicans*, est responsable de candidoses buccales.

Une étude, réalisée par Vasconcelos *et al.* [56], compare l'utilisation d'un gel à base de miconazole (Daktarin®), antifongique imidazolé, à celle d'un gel contenant de la poudre de péricarpe de grenades, sur l'adhésion de microorganismes responsables d'infections bucco-dentaires, telles que caries, parodontites ou stomatites. Trois types de bactéries, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* et *Streptococcus mitis*, ainsi qu'un type de levure, *Candida albicans*, sont soumis, seuls ou en associations, à l'action de ces gels. On mesure alors la concentration minimum en principe actif qui permet d'inhiber l'adhésion de ces microorganismes à un support en verre, en présence de 5% de saccharose.

Le gel à base de péricarpe de grenade se montre plus efficace que celui à base de miconazole sur chacun de ces microorganismes analysé séparément ainsi que sur les associations *S. mutans* + *S. mitis* + *S. sanguis* et *S. mutans* + *S. mitis* + *S. sanguis* + *C. albicans*.

Il apparaît donc qu'un gel à base de péricarpe de grenade puisse éviter, *in vitro*, l'adhésion de bactéries et de levures responsables d'infections bucco-dentaires telles que caries, infections parodontales, stomatites ou candidoses.

b. Autres propriétés antifongiques.

La peau de grenade possède une activité fongistatique. En effet, elle est capable de bloquer la croissance, durant des périodes variées, de divers organismes fongiques telle que celle de *Penicillium citrinum* durant 8 jours, *Penicillium patulum* durant 4 jours, *Penicillium roquefortii* et *Aspergillus ochraceus* durant 3 jours.

Grâce à la présence de punicalagine, la peau de grenade se montre très efficace contre *Candida albicans*.

Enfin, les cloisons du fruit, partie blanche et spongieuse de la grenade, semblent pouvoir lutter contre *Candida mycoderma*. [6]

4. Activités anthelminthiques et molluscicides.

Les propriétés de l'écorce et de la racine du grenadier sur le ver solitaire sont déjà connues et utilisées depuis des milliers d'années. Des recherches ont été effectuées afin de découvrir si le grenadier peut combattre d'autres vers.

Ainsi, une étude, réalisée par K. C. Singhal, [51], a testé des extraits d'écorce de tige et de racines de grenadier, obtenus par extraction dans du chloroforme, sur différents helminthes : *Syphacia obvelata*, *Nippostrongylus brasiliensis* et *Hymenolepis nana*.

Syphacia obvelata est un type d'oxyure, appartenant à la classe des nématodes ou vers ronds, qui parasite les rongeurs. *Nippostrongylus brasiliensis* fait également partie des nématodes et parasite les rongeurs, et plus spécifiquement les rats. Enfin, *Hymenolepis nana*, le plus petit des ténias humains, appartient à la classe des cestodes ou vers plats. Il peut parasiter différentes espèces animales ainsi que l'Homme.

Différentes concentrations d'extraits d'écorce de grenadier sont administrées à des souris préalablement contaminées par un des types d'helminthes. Après administration, deux fois par jour, durant trois jours, chez les souris infestées par *Hymenolepis nana*, d'extrait d'écorce de grenadier à 250 mg/kg, plus aucune souris ne semble parasitée. D'autres souris, infestées par *Hymenolepis nana*, et traitées par seulement 100 mg/kg extrait d'écorce de grenadier, présentent un taux de réussite du traitement de 40%. En ce qui concerne les souris infestées par les autres vers, *Syphacia obvelata* et *Nippostrongylus brasiliensis*, aucune propriété vermifuge n'est observée.

Ainsi, il semble que l'écorce de tige et de racines de *Punica granatum* ne soit pas en mesure de détruire tous les vers. Des propriétés vermifuges ont été démontrées sur les vers de l'espèce *Hymenolepis nana*, le plus petit ténia connu. Le pouvoir du grenadier sur le ver solitaire, un autre type de ténia, étant déjà reconnu depuis des milliers d'années, on peut supposer que le grenadier soit efficace contre tous les ténias, voire même contre tous les cestodes, c'est-à-dire les vers plats.

D'autre part, une étude a montré l'intérêt de l'utilisation de l'écorce du grenadier comme molluscicide. [55]

En effet, des extraits d'écorce de grenadier ont permis de détruire une variété de lymnée, *Lymnaea acuminata*, type d'escargot vecteur d'un parasite, *Fasciola hepatica*, responsable de la douve du foie chez le mouton. Ainsi, plutôt que de traiter les animaux une fois malade, il semble qu'éradiquer la lymnée vecteur du parasite soit une méthode de choix pour protéger les ovins de la fasciolose.

Actuellement, les propriétés antimicrobiennes des plantes sont étudiées par un grand nombre de chercheurs à travers le monde. Il a été observé que des extraits ou des composés purifiés, issus de diverses parties du grenadier, possèdent des propriétés

antibactériennes, antifongiques, antivirales et anthelminthiques. Il semble que les principes actifs de *Punica granatum* soient ses tanins et ses alcaloïdes. D'autres études sont nécessaires afin de déterminer les activités spécifiques de chacun de ces composés. Les résultats actuels sont néanmoins encourageants.

Des perspectives peuvent être envisagées quant à l'utilisation du grenadier dans la lutte contre l'émergence de bactéries résistantes, ou, pourquoi pas, dans l'utilisation du grenadier comme conservateur naturel dans l'industrie alimentaire et cosmétique.

G. Utilisation du grenadier dans les produits cosmétiques.

La cosmétique est un secteur dynamique, théâtre d'innovations et de croissance constante. Le marché mondial de la cosmétique parfumerie était estimé à 140 milliards d'euros en 2007. A l'échelle française, ce marché enregistre une croissance durable depuis plus de dix ans. Il s'agit d'un marché dynamique, porté par la découverte constante de nouveaux besoins et l'amélioration continue de la qualité.

D'après l'article L.5131-1 du code de la Santé Publique, *«On entend par produit cosmétique toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles »*. [F]

Une polémique, concernant la cosmétique conventionnelle, est apparue dans les années 1970. Largement renforcée aujourd'hui par l'accès à l'information du grand public à travers les médias, elle dénonce l'utilisation intensive de produits chimiques, toxiques, allergisants, dont les impacts sur l'Homme et l'environnement à long terme sont flous. Les formulations d'un certain nombre de cosmétiques traditionnels sont donc potentiellement dangereuses pour la santé et l'environnement. A long terme, on ne connaît pas les effets de certaines substances chimiques. Plus alarmant, certains produits soupçonnés d'être nocifs sont néanmoins toujours employés : les parabènes, par exemple, pourraient être impliqués dans le cancer du sein, le propylène glycol et ses dérivés sont très irritants et allergisants... La liste est longue et ces substances dangereuses sont utilisées dans la grande majorité des produits d'usage quotidien tels que gel douche, crème, shampoing, produits pour bébé...

Face à ces incertitudes, de plus en plus de consommateurs perdent peu à peu la confiance aveugle qu'ils accordaient aux cosmétiques conventionnels. On voit alors apparaître sur le marché la cosmétique naturelle et/ou bio. Son principe de base est simple, proposer un produit sain, dont l'origine des composants est naturelle et autant que possible bio, dans une démarche globale de respect. Respect de l'Homme en lui offrant un produit sûr et de qualité, respect de l'environnement et respect des animaux. Les cosmétiques naturels ont le vent en poupe et suscitent l'intérêt croissant des consommateurs. Depuis ces quinze dernières années, on observe une hausse continue de leur chiffre d'affaire. En 2005, année de la controverse médiatique autour des ingrédients utilisés en cosmétique conventionnelle, il connaît un très fort développement avec une croissance de 40 % des ventes. Le marché des cosmétiques naturels et/ou bio est en plein développement, il oblige les laboratoires à rechercher de nouveaux principes actifs issus du milieu naturel.

1. Intérêt de l'acide ellagique comme agent cosmétique « anti-pollution ».

Plusieurs tests démontrent la capacité de l'acide ellagique et de ses dérivés, composés présents dans le jus et la peau des grenades, à lutter contre la pollution urbaine.

En effet, différentes catégories de polluants peuvent exercer des effets délétères sur la peau et le cheveu : les gaz, les métaux lourds et certaines particules sur lesquelles sont adsorbés de très nombreux composés organiques. De plus, de nombreux oxydants environnementaux tels que l'oxygène, l'irradiation solaire UV, l'ozone, viennent agresser les tissus les plus externes de notre corps, et principalement le *stratum corneum* de la peau. Cette barrière protectrice de la peau peut être attaquées par les oxydants, favorisant les phénomènes de desquamation et d'inflammation. L'oxydation et la dégradation des lipides du *stratum corneum* sont mises en cause dans de nombreuses dermatoses telles que le psoriasis et la dermatite atopique.

D'autre part, le cheveu est un absorbant fort pour les métaux. La fixation est tellement forte qu'une fois ces métaux fixés, capturés par les sites anioniques de la fibre, ils sont difficiles à extraire. Les métaux comme le cuivre, le plomb et le fer peuvent alors interférer avec des traitements chimiques tels que les permanentes ou les colorations.

Il a ainsi été démontré que l'acide ellagique et ses dérivés, utilisés en application topique, protègent la peau et les matières kératinisées de façon à prévenir, atténuer et/ou supprimer les effets délétères des gaz toxiques tels que l'ozone, des métaux et des composés organiques présents dans la pollution urbaine. C'est pourquoi le groupe cosmétique l'Oréal a demandé le dépôt d'un brevet afin de développer une gamme cosmétique, contenant entre autre de l'acide ellagique, afin de réaliser des agents cosmétiques « anti-pollution ». [y]

2. Intérêt du grenadier pour les cheveux colorés.

Le maintien de la coloration des cheveux fait partie des problèmes rencontrés par les personnes aux cheveux colorés. En effet, au bout de plusieurs lavages, la couleur des cheveux colorés tend à s'affadir et à s'estomper, ce qui nécessite des colorations plus fréquentes. Or, les colorants utilisés, malgré les progrès des dernières années, ont toujours des effets secondaires indésirables sur les cheveux et le cuir chevelu, ayant tendance à abîmer l'un et irriter l'autre. De plus, les colorations successives modifient l'état de surface de la fibre capillaire. Les écailles, qui ont été soulevées lors de la coloration, se recouvrent moins bien les unes les autres, et laissent la fibre capillaire plus sensible aux agressions extérieures. C'est pourquoi il reste nécessaire de trouver de nouveaux actifs permettant de maintenir la coloration capillaire et ainsi d'éviter l'usage trop fréquent de colorants sur les cheveux.

Des essais ont été effectués par le laboratoire Klorane, sur des fibres capillaires, afin de déterminer si un extrait d'écorce de fruits du grenadier pourrait améliorer le maintien des colorations capillaires.

Pour ce faire, une coloration de dix mèches de cheveux châains est réalisée, *in vivo*, à l'aide d'un gel colorant doux, sans oxydant et sans ammoniaque, de couleur rouge. Après la pose du colorant, les mèches sont rincées, séchées, et les couleurs sont mesurées par méthode colorimétrique, à l'aide d'un chromamètre. L'extrait d'écorce de grenade est appliqué par trempage sur cinq mèches sur dix, les mèches sont ensuite séchées. On réalise cinq lavages successifs sur toutes les mèches traitées ou non par l'extrait avec un shampoing doux suivi d'un rinçage et d'un séchage. Après chaque série de lavage, des mesures colorimétriques sont réalisées.

Dès le premier lavage, les mèches non traitées perdent leur caractère rouge de façon plus importante que les mèches traitées. Au cinquième lavage, l'intensité rouge des mèches non traitées a diminué d'environ 10 %, alors que celle des mèches traitées n'a diminué que de 5 %, c'est-à-dire que la perte de coloration au bout de cinq lavages est deux fois moins importante après traitement des mèches par l'extrait de grenade.

Ainsi, cette étude permet de montrer que l'application d'un extrait d'écorce de grenade, suite à une coloration capillaire, tend à optimiser son maintien au cours de lavages successifs. Il semble que la richesse de l'écorce de grenade en tanins, environ 60% de l'extrait, soit responsable de cette capacité à préserver les couleurs.

Suite à cette étude, toute une gamme de produits capillaires pour les cheveux colorés, (shampoing, après-shampoing et masque), à base d'écorce de grenade, a été commercialisée par le laboratoire Klorane. [z]

3. Propriétés cicatrisantes de la grenade.

Une étude, réalisée par une équipe de chercheurs indiens, [41], a étudié les effets d'extraits méthanoliques de peau de grenades sur la cicatrisation de plaies cutanées chez des rats de la variété *Wistar*.

Pour cela, des gels aqueux contenant 2,5 et 5% d'extraits méthanoliques de peau de grenades sont réalisés. Des examens observant l'évolution de la lésion, mesurant le taux d'hydroxyproline des tissus lésés, et analysant les changements microscopiques par un suivi histopathologique sont effectués.

Ainsi, le groupe de rats recevant le gel de grenade dosé à 5% présente une cicatrisation de la blessure sous dix jours. Dans le groupe de rats traités par le gel à 2,5%, la cicatrisation est obtenue en douze jours. Enfin, dans le groupe témoin traité par le gel seul, non enrichi par un extrait de grenade, la guérison de la plaie nécessite entre seize et dix-huit jours. De plus, au sein du groupe traité par le gel à 5%, la quantité d'hydroxyproline, acide aminé fortement présent dans le collagène des tissus conjonctifs, est multipliée par deux par rapport au groupe témoin, non traité par un extrait de peau de grenade.

Par conséquent, il semble que la peau de grenade permette d'aider à la cicatrisation de blessures cutanées. Des examens plus complets, utilisant la technique de chromatographie liquide haute performance, CLHP, ont montré que ces extraits de grenade, aux propriétés cicatrisantes, sont riches en catéchine et acide gallique, molécules qui pourraient donc avoir un intérêt dermatologique.

XIII. Propriétés thérapeutiques historiques du grenadier et connaissances scientifiques actuelles.

Le grenadier, originaire d'Iran et d'Afghanistan, est connu des Hommes depuis plus de 4000 ans. Son fruit, la grenade, a fasciné de nombreuses civilisations. En effet, le grenadier et la grenade sont maintes fois cités dans des récits mythologiques datant de temps très anciens, ainsi que dans les textes sacrés de diverses religions tels que la Bible ou le Coran. De plus, le grenadier et ses différents organes sont, depuis très longtemps, employés dans les médecines traditionnelles.

Depuis une dizaine d'années, les scientifiques ont montré un regain d'intérêt envers cet arbuste. Les nombreux moyens techniques disponibles ont permis d'attribuer au grenadier de nombreuses propriétés thérapeutiques, justifiant ou non les usages empiriques qui en étaient fait.

Dans les récits mythologiques et religieux, la grenade est souvent associée à la femme. Symbole de fécondité et de fertilité, elle est offerte aux jeunes mariés pour leur souhaiter une nombreuse descendance. La grenade est également recommandée par Hippocrate, considéré comme le père de la médecine, dans la partie de son oeuvre *Des maladies des femmes*, pour soulager des maux féminins.

Or, depuis quelques années, on connaît avec précision la composition chimique de la grenade. Ce fruit contient une relativement haute concentration en oestrogènes naturels, hormones sexuelles femelles. Les graines de la grenade contiennent la plus forte concentration en oestrone observée dans le règne végétal.

La grenade, symbole de la femme depuis plusieurs milliers d'années, voit aujourd'hui cette attribution confirmée par les résultats scientifiques.

L'une des premières utilisations du grenadier, dans la médecine traditionnelle, a été l'emploi des écorces du tronc et des racines de cet arbre pour lutter contre le ténia. En effet, déjà au VIII^{ème} siècle avant JC, les Egyptiens connaissaient les propriétés vermifuges du grenadier. Plus tard, la médecine chinoise, puis Caton et Dioscoride, et enfin, aux XVIII^{ème} et XIX^{ème} siècles, les pharmacopées de plusieurs pays tels que la France ou l'Espagne, recommandent les décoctions de ces écorces afin d'éliminer les vers.

A la fin du XIX^{ème} siècle, un pharmacien français, Charles Tanret, isole le principe actif de ces écorces, qu'il nomme pelletiérine. Ce pharmacien démontre scientifiquement l'efficacité du principe actif en tant qu'anthelminthique, cependant il semble que la pelletiérine soit toxique pour l'homme. Les nouvelles technologies permettent aujourd'hui de confirmer les recherches de monsieur Tanret.

En principe, les écorces du tronc et des racines du grenadier ne sont plus employées dans la médecine depuis la fin du XIX^{ème} siècle, principalement en raison de leur toxicité. Néanmoins, dans certaines civilisations isolées, les « guérisseurs » restent attachés à leur médecine traditionnelle et continuent à administrer ces écorces pour lutter contre le ténia.

Selon Paracelse, père de la théorie des signatures, les graines de la grenade font penser à des dents par leur aspect et leur disposition dans la pulpe du fruit. Ainsi, d'après sa théorie, la grenade se doit d'être un bon remède pour les problèmes dentaires. De même, en raison de la couleur rouge sang du jus de la grenade, Paracelse attribue à ce fruit des capacités à lutter contre les troubles de la circulation et à arrêter les hémorragies.

D'après de récentes études *in vitro*, il est en effet démontré qu'un gel à base de péricarpe de grenade peut limiter l'adhésion, dans la cavité buccale, des bactéries et des levures responsables d'infections bucco-dentaires telles que caries, infections parodontales, stomatites ou candidoses. Par contre, aucune étude scientifique ne permet, en l'état actuel des connaissances, d'attribuer à la grenade un quelconque effet bénéfique sur les troubles de la circulation sanguine ou sur la coagulation.

Issue d'une tradition ancestrale, la médecine ayurvédique est utilisée en Inde depuis plus de 5 000 ans. Il s'agit de la médecine traditionnelle la plus ancienne et la plus connue. En sanskrit, le mot « Ayurveda » signifie « science de la vie ». Cette médecine est basée sur une approche de la santé au sens large, tant sur le plan de la prévention, du diagnostic que du traitement des maladies, incluant ainsi l'hygiène de vie, le corps mais également l'esprit.

Depuis longtemps, le grenadier et ses différents organes font partie des remèdes ayurvédiques. Le « gulnar » ou « gulnar farsi », fleur mâle abortive de *Punica granatum*, est employé dans la médecine ayurvédique, depuis des milliers d'années, comme remède du diabète sucré, c'est-à-dire du diabète de type II.

Or, des études récentes ont permis de démontrer que des extraits de fleurs de grenadier sont capables d'inhiber les α -glucosidases intestinales et de jouer le rôle d'agoniste des récepteurs PPAR- γ , permettant ainsi de réduire la glycémie.

On recense, dans les récits mythologiques et les recueils de médecine traditionnelle, de nombreux autres usages médicaux du grenadier, tels que l'emploi comme antivomitif, ou l'utilisation en cas de toux, otite ou problème oculaire.

Les connaissances scientifiques actuelles n'ont pas encore permis de démontrer ces données.

Cependant, les nombreuses recherches scientifiques qui ont été effectuées sur le grenadier ces dix dernières années, ont permis, d'une part, de mettre en évidence l'exceptionnelle composition chimique de cet arbuste et de ces organes, et d'autre part, d'envisager, par ceux-ci, le traitement de pathologies de « l'homme moderne » comme l'athérosclérose, l'hypertension, le SIDA ou certains cancers.

De nombreux compléments alimentaires et produits cosmétiques contenant des extraits de *Punica granatum* sont déjà commercialisés. Néanmoins, actuellement, aucun médicament contenant ces extraits n'a été mis sur le marché.

L'avenir permettra peut-être de savoir si la grenade, ce « fruit des dieux », est une véritable panacée.

Conclusion.

Le grenadier, *Punica granatum*, est employé, par de nombreuses civilisations, depuis plus de 4000 ans. Cet « arbre de vie » est, à maintes reprises, venu enrichir les récits mythologiques et les croyances religieuses, par son mystère et de sa beauté. L'allure de cet arbre majestueux, aux fruits succulents, lui assura une place dans les plus beaux jardins du monde, comme les Jardins suspendus de Babylone.

Le grenadier, riche en tanins, a longtemps été employé pour donner aux tapis orientaux leurs inimitables couleurs et pour tanner les peaux. Les écorces du tronc et des racines, riches en pelletierine, ont été fréquemment utilisées par les médecines traditionnelles pour leurs propriétés vermifuges.

Depuis une dizaine d'années, de nombreuses études ont été réalisées sur le grenadier, ses fleurs et ses fruits. En effet, la découverte, dans le grenadier, de précieuses molécules, telles que les ellagitannins, l'acide gallique et l'acide ellagique, les hormones stéroïdiennes, les anthocyanes et les flavones, nécessite des recherches plus approfondies afin de pouvoir, peut-être, un jour, ajouter la grenade à notre arsenal thérapeutique.

D'une grande richesse en vitamines C et E, en caroténoïdes et polyphénols, la grenade est l'un des fruits les plus riches en antioxydants, devançant le vin rouge et le thé vert. Le jus de grenade réalisé à partir de fruits entiers, beaucoup plus riches en molécules antioxydantes que le jus obtenu à partir des arilles, s'est même vu déclaré « jus de l'année 2007 » par de nombreux magazines américains.

La composition chimique unique de la grenade lui assure un fort pouvoir de protection contre les maladies cardio-vasculaires, principalement en luttant contre la peroxydation lipidique. Des découvertes intéressantes sur le grenadier ont été réalisées dans des domaines variés comme la cancérologie, la diabétologie, la cosmétologie et l'infectiologie.

Malgré les découvertes intéressantes sur les nombreuses vertus du grenadier, aucun médicament à base de grenade n'a, à l'heure actuelle, été mis sur le marché. En effet, de nouvelles expérimentations s'avèrent nécessaires pour compléter les résultats obtenus et éventuellement développer un médicament. Seuls quelques compléments alimentaires sont déjà commercialisés, essentiellement à visée antioxydante.

Le grenadier reste donc toujours une plante fascinante et mystérieuse qui n'a sûrement pas encore livré tous ses secrets...

Bibliographie.

- 1 - AFAQ F., MALIK A., *et al.* - Pomegranate fruit extract modulates UV-B-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and activation of nuclear factor kappa B in normal human epidermal keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*. 2005. N°81. Pages 38-45.
- 2 - AMOURETTI M.C., COMET G. - Cahier d'histoire des techniques - Des hommes et des plantes : plantes méditerranéennes, vocabulaire et usages anciens. Publications de l'université de Provence. 1992. 174 pages. Page 81.
- 3 - AVIRAM M., DORNFELD L. - Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*. 2001. N°158. Pages 195-198.
- 4 - AVIRAM M., ROSENBLAT M., *et al.* - Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical nutrition*. 2004. N°23. Pages 423-433.
- 5 - AZADZOI K., SCHULMAN R., *et al.* - Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction : prophylactic role of antioxidants. *The journal of urology*. Mars 2006. N°175. Pages 1175-1176.
- 6 - AZZOUZ M. A., BULLERMAN L. B. - Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *Journal of food protection*. 1982. N°45. Pages 1248-1301.
- 7 - BÄRTELS A. - Guide des plantes du bassin méditerranéen. Editions Ulmer. 1998. 400 pages. Page 352.
- 8 - BENZI F. - L'histoire des plantes en Méditerranée : art et botanique. Editions Actes Sud. 1999. 175 pages. Pages 80-81.
- 9 - BEZANGER-BEAUQUESNE L., PINKAS M., *et al.* - Les plantes dans la thérapeutique moderne. Editions Maloine. 1986. 469 pages. Pages 353-354.

- 10 - BEZANGER-BEAUQUESNE L., PINKAS M., *et al.* - Plantes médicinales des régions tempérées. Editions Maloine. 1990. 395 pages. Page 193.

- 11 - BOULLARD B. - Plantes médicinales du monde. Réalités et croyances. Editions Estem. 2001. 636 pages. Pages 437-438.

- 12 - BRAGA L.C., LEITE A.A.M., *et al.* - Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Canadian journal of microbiology*. 2005. N°51. Pages 541-547.

- 13 - BRUNETON J. - Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales. Editions Tec Doc. 1999. 1120 pages. Page 860.

- 14 - CARDON D. - Guide des teintures naturelles. Editions Delachaux et Niestlé. 1990. 399 pages. Pages 232, 279 à 280, et 298.

- 15 - CARDON D. - Le monde des teintures naturelles. Editions Belin. 2003. 586 pages. Pages 368 à 370.

- 16 - CAZIN F.J. - Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées. Editions de l'envol. 1868. 1189 pages. Pages 497-501.

- 17 - CHADEFAUD M, EMBERGER L. - Traité de botanique systématique - Les végétaux vasculaires. Editions Masson. 1960. Tome II. Fascicule 2. Pages 1419-1420 et 1426-1427.

- 18 - COURCHET L.D.J. - Traité de botanique : comprenant l'anatomie et la physiologie végétales et les familles naturelles, à l'usage des candidats au certificat d'études physiques, chimiques et naturelles des étudiants en médecine et en pharmacie. Editions Baillière. 1897. 1320 pages. Pages 1019-1023.

- 19 - DE NIGRIS F., WILLIAMS-IGNARRO S., *et al.* - Beneficial effects of pomegranate juice on oxidation-sensitive genes and endothelial nitric oxide synthase activity at sites of perturbed shear stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Mars 2005. Vol. 102. N°13. Pages 4896-4901.

- 20 - DUCOURTHIAL G. - Flore magique et astrologique de l'Antiquité. Editions Belin. 2003. 655 pages. Pages 69, 187-188 et 513.
- 21 - FOURNIER P. - Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Editeur Paul Lechevalier. 1948. Tome II. 504 pages. Pages 286 à 291.
- 22 - GARNIER G., BEZANGER-BEAUQUESNE L., *et al.* - Ressources médicinales de la flore française. Editions Vigot Frères. 1961. Tome II. 1511 pages. Pages 838-842.
- 23 - GIGNOUX E., JACOBSON A. - L'ABCdaire des fruits. Editions Flammarion. 1997. 119 pages. Page 107.
- 24 - GIL M., TOMAS-BARBERAN F., *et al.* - Antioxydant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of agricultural and food chemistry*. Oct. 2000. N°48. Pages 4581-4589.
- 25 - GODET J.D. - Arbres et arbustes aux quatre saisons. Les guides pratiques du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé. 1991. 215 pages. Pages 96 et 170.
- 26 - GUBERNATIS A. de - La mythologie des plantes ou des légendes du règne végétal. Editeur C. Reinwald Paris. 1882. Tome II. Pages 166-169.
- 27 - GUIBOURT N.J.B.G. - Histoires naturelles des drogues simples ou cours d'histoire naturelle professé à l'école de pharmacie de Paris. Editions J.B. Baillière, Paris. 1850. Tome III. Pages 257-259.
- 28 - GUILLAUME G., MACH-CHIEU - Pharmacopée et médecine traditionnelle chinoise - Plantes chinoises, plantes occidentales. Edition Présence. 1987. 701 pages. Pages 617 et 618.
- 29 - HORA J. J., MAYDEW E. R., *et al.* - Chemopreventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice. *Journal of medicinal food*. 2003. N°6. Pages 157-161.

- 30 - JAFRI M.A., ASLAM M., *et al.* - Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2000. N°70. Pages 309-314.
- 31 - KHAN N., AFAQ F., *et al.* - Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. *Cancer research*. 2007. N°67. Pages 3475-3482.
- 32 - KHAN N., HADI N., *et al.* - Pomegranate fruit extract inhibits prosurvival pathways in human A549 lung carcinoma cells and tumor growth in athymic nude mice. *Carcinogenesis*. 2007. Vol. 28. N°1. Pages 163-173.
- 33 - KIM N. D., MEHTA R., *et al.* - Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2002. N°71. Pages 203-217.
- 34 - LANSKY E. P., HARRISON G., *et al.* - Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel®. *Investigational new drugs*. 2005. N°23. Pages 121-122.
- 35 - LANSKY E. P., NEWMAN R. A. - *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*. 2007. N°109. Pages 177-206.
- 36 - LEMOINE E. - Guide des fruits du monde - Les fruits de nos régions, les variétés exotiques. Collection les compagnons du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé. 1998. 192 pages. Page 151.
- 37 - MACHADO T., LEAL I., *et al.* - Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. *Journal of brazilian chemical society*. 2002. Vol. 13. N°5. Pages 606-610.
- 38 - MALIK A., AFAQ F., *et al.* - Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Octobre 2005. N°41. Vol. 102. Pages 14813-14818.

- 39 - MARS M. - La culture du grenadier (*Punica granatum* L.) et du figuier (*Ficus carica* L.) en Tunisie. CIHEAM. Options Méditerranéennes. Pages 85 à 95.
- 40 - MEHTA R., LANSKY E. - Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in a mouse mammary organ culture. *European journal of cancer prevention*. Août 2004. N°13. Pages 345-348.
- 41 - MURTHY K. N. C., VITTA K. R., *et al.* - Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. *Journal of medicinal food*. 2004. Vol. 7. N°2. Pages 256-259.
- 42 - NEURATH R., STRICK N., *et al.* - *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BioMed Central infectious diseases*. 2004. Vol. 4. N°41. 12 pages.
- 43 - PANTUCK A.J., LEPPERT J.T., *et al.* - Phase II study of pomegranate juice for men with rising Prostate-Specific Antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clinical cancer research*. Juillet 2006. N°12. Pages 4018-4026.
- 44 - PARIS R.R., MOYSE H. - Matière médicale. Collection de précis de pharmacie. Editions Masson. 2° édition. Tome II. 1981. 518 pages. Pages 448 à 450.
- 45 - PLANCHON G., COLLIN E. - Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. 1875. Tome I. Pages 235-236 et 307-308.
- 46 - PLANCHON G., COLLIN E. - Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. 1875. Tome II. Pages 28-31.
- 47 - POLUNIN O., HUXLEY A. - Fleurs du bassin méditerranéen. Editions Nathan. 1978. 325 pages. Page 173.
- 48 - PRASHANTH D., ASHA M.K., *et al.* - Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*. 2001. N°72. Pages 171-173.

- 49 - SEERAM N., SCHULMAN R., *et al.* - Pomegranates. Ancient roots to modern medicine. Editions Taylor & Francis. 2006. 244 pages.
- 50 - SHUKLA M., GUPTA K., *et al.* - Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum* L.) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. *Journal of inflammation*. 2008. Vol. 5. N°9. Pages 1 à 10.
- 51 - SINGHAL K. C. - Anthelmintic activity of *Punica granatum* and *Artemisia siversinia* against experimental infections in mice. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. N°15. Pages 119-122.
- 52 - SPICHIGER R.-E., SAVOLAINEN V., *et al.* - Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes. Troisième édition. 2004. 413 pages.
- 53 - SUDHEESH S., VIJAYALAKSHMI N.R. - Flavonoids from *Punica granatum* - potential antiperoxidative agents. *Fitoterapia*. 2005. N°76. Pages 181-186.
- 54 - TOM H.W. H., GANG P., *et al.* - Anti-diabetic action of *Punica granatum* flower extract : activation of PPAR- γ and identification of an active component. *Toxicology and applied pharmacology*. 2005. N°207. Pages 160-169.
- 55 - TRIPATHI S. M., SINGH D. K., *et al.* - Molluscicidal activity of *Punica granatum* bark and *Canna indica* Linn. root. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2000. Vol. 33. N°11. Pages 1351-1355.
- 56 - VASCONCELOS L., SAMPAIO F., *et al.* - Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Brazilian dental journal*. 2006. Vol. 17. N°3. Pages 223-227.
- 57 - YUHAO L., SUPING W., *et al.* - *Punica granatum* flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2005. N°99. Pages 239-244.

Webographie.

- a - http://artbonsa.free.fr/abcorpus/_abcorpus_01.pdf
- b - <http://artbonsai.free.fr/forum/grenadier/DSC117.jpg>
- c - <http://bible.archeologie.free.fr/templejerusalem.html>
- d - http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Punica_granatum_flowerdiagram.png
- e - <http://cpe0013211b4c6d-cm0014e88ee7a4.cpe.net.cable.rogers.com/cnf/servingSizeDispatch.do>
- f - [http://fr.wikipedia.org/wiki/Grenade_\(fruit\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Grenade_(fruit))
- g - http://fr.wikipedia.org/wiki/Guerre_de_Troie
- h - http://fr.wikipedia.org/wiki/Punica_granatum
- i - <http://leschretiens.free.fr/bible/cantique.php>
- j - <http://mythologica.fr/grec/persephone.htm#gene>
- k - <http://objectief.be/Granaatappel-Punica-granatum.html>
- l - <http://pagesperso-orange.fr/association.fruits.oublies/contrib/grenades/grenade1.html>
- m - http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PUGR2&photoID=pugr2_002_ahp.tif
- n - <http://remacle.org/bloodwolf/erudits/Hippocrate/table.htm>
- o - http://sante-medecine.commentcamarche.net/contents/cancer/10_le-cancer-de-la-peau.php3
- p - http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/44/Grain_grenade.jpg/300px-Grain_grenade.jpg
- q - <http://www.123bio.net/revues/jleoni/intro.html>
- r - http://www.biblegateway.com/passage/?book_id=2&chapter=28&version=32

- s - http://www.boitearecettes.com/fruits_legumes/liste/grenade/grenade.htm
- t - <http://www.bonsai-ka.com/Grenadier+punica+granatum+bonsai+50cm>
- u - http://www.boston.com/business/articles/2006/12/10/pomegranate_sows_seeds_of_popularity/?page=1
- v - http://www.caducee.net/Communiqués/22102004/2210200428_cancer_sein.asp
- w - <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/diabete/articles/901-diabete-chiffres-faits.htm>
- x - <http://www.floridata.com/wallpaper/jpg/PomegranateFlwrs800.jpg>
- y - <http://www.freepatentsonline.com/EP1282395.pdf>
- z - <http://www.freepatentsonline.com/EP1348419.pdf>
- A - <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/pomegranate.html>
- B - <http://www.insecula.com/salle/MS03861.html>
- C - http://www.invs.sante.fr/presse/2008/communiqués/cancer_evolution/DPCancer21FEV08bd.pdf
- D - <http://www.invs.sante.fr/recherche/index2.asp?txtQuery=cancer+prostate>
- E - <http://www.jus-grenade.com>
- F - http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=248354BEECC53625AF83B932A4BD2271.tpdjo05v_2?idSectionTA=LEGISCTA000006171374&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20090226
- G - http://www.marche.fr/petite_annonce_jardin-nature-plantes-punica-granatum-grenadier-ref1231576-dep74.html#
- H - <http://www.medisite.fr/medisite/Grenade,3974.html>
- I - http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=grenade_nu
- J - http://www.plantasol.com/nederlands/overige_planten/images/punica_granatum.jpg
- K - <http://www.pommiers.com/grenadier/grenade.htm>

- L - http://www.prevention-tabac.com/organisme-tabac_cancer.php
- M - <http://www.tela-botanica.org/eflore/BDAFN/0/nn/148716/chorologie>
- N - <http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/54104/chorologie>
- O - http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp
- P - <http://www.veille.gov.ma/filinfo/index.php/2006/11/07/3999-tunisie-deux-mille-tonnes-de-grenades-a-lexportation-n604>
- Q - <http://www.who.int/inf-pr-1998/fr/cp98-63.html>
- R - <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr84/fr/>

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : le 02 juillet 2009

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIEprésenté par M^{elle} Elodie WALDSujet : Le grenadier (*Punica granatum*) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes.Jury :

Président : M. Max HENRY, Professeur de botanique et mycologie

Juges : M. François MORTIER, ancien Professeur de pharmacognosie

M. Jean-Claude SONNTAG, Docteur en pharmacie à Nancy

Vu,

Nancy, le 2 juin 2009

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse

M. HENRY



M. MORTIER



Vu et approuvé,

Nancy, le 1.1 JUIN 2009

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,
Chantal FINANCE

Vu,

Nancy, le 16.06.09.

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Pour le Président
et par délégation,
Le Vice-Président du Conseil
des Etudes et de la Vie Universitaire,
Jean-Pierre FINANCE
CORDEVILLE-ARSON

N° d'enregistrement : 3320

N° d'identification :

TITRE

LE GRENADIER (*PUNICA GRANATUM*) :
Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes.

Thèse soutenue le 2 juillet 2009

Par Elodie WALD

RESUME :

Ce mémoire fait le point des connaissances actuelles sur le grenadier, *Punica granatum*.

Riche d'une histoire de plus de 4000 ans, la grenade, ce fruit majestueux, ne cesse de nous étonner. Très apprécié de la mythologie, des récits religieux ou de l'art, c'est aujourd'hui la science et plus particulièrement la médecine qui s'intéresse à ce fruit aux vertus étonnantes.

Il sera, dans un premier temps, rappelé l'histoire et la botanique de *Punica granatum*. Dans un second temps, la composition chimique et les usages empiriques du grenadier seront envisagés. Enfin, il sera détaillé les principales propriétés thérapeutiques de cet arbre, découvertes ces dix dernières années.

MOTS CLES :

Punica granatum - grenadier - grenade - pelletière - acide gallique - antioxydant - cancer - prostate - diabète

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
M. François MORTIER,	Laboratoire de pharmacognosie	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>