

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée



Réf :.....

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

Thème

**Etude, *in vitro*, de l'effet anti-ulcère de
l'extrait de *Clematis flammula***

Présenté par :

ZENNAD Louiza et ZEMMOURI Lydia

Soutenu le : **Jeudi 03 juillet 2025**

Devant le jury composé de :

| | | |
|--------------------------|------|--------------|
| Mme RAHMANI-BERBOUCHA. M | MAA | Présidente |
| Mme BAHLOUL-CHERAFT. N | MCB | Examinatrice |
| Mme ATMANI-KILANI. D | Prof | Promotrice |

Année universitaire : 2024 / 2025

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui ont cru en moi et m'ont soutenue tout au long de ce parcours.

À mes parents et mes sœurs, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leurs encouragements constants.

À mes ami(e)s, pour leurs mots rassurants et leur soutien moral.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci du fond du cœur.

ZENNAD L.

Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui ont cru en moi et m'ont soutenue tout au long de ce parcours.
À mes parents, mes sœurs et mon frère, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leurs encouragements constants.*

À mes ami(e)s, pour leurs mots rassurants et leur soutien moral.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci du fond du cœur.

ZEMMOURI L.

Remerciements

*Notre respectueuse gratitude et nos sincères remerciements vont tout d'abord à notre promotrice **Mme Atmani- Kilani. D**, pour avoir accepté de nous encadrer, de nous avoir transmis tout son savoir et ses compétences et de nous avoir prodigué un enseignement de qualité. Ce fut un plaisir de travailler avec elle. Un grand merci pour son dévouement.*

*Nous remercions **Mme Rahmani-Berboucha. M**, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider ce jury. Nos vifs remerciements s'adressent également à **Mme Bahloul-Cheraft. N**, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons aussi à remercier la doctorante **Karou Lydia** et **Hanifi Lamia** ainsi que toute l'équipe du laboratoire de génétique pour nous avoir apportés leur aide.*

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

| | |
|---|-----------|
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre I : Revue bibliographique | |
| I.1. Estomac : anatomie, physiologie et régénération..... | 3 |
| I.1.1. Anatomie et fonctions..... | 3 |
| I.1.2. Structure histologique et types cellulaires..... | 3 |
| I.1.3. Régulation de l'acidité gastrique et du mucus protecteur..... | 5 |
| I.2. Ulcère gastrique : physiopathologie et facteurs de risque..... | 5 |
| I.2.1. Déséquilibre entre facteurs agressifs et défensifs..... | 5 |
| I.2.2. Mécanismes moléculaires de destruction de la muqueuse..... | 6 |
| a. Liés aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... | 6 |
| b. Liés à <i>Helicobacter pylori</i> | 7 |
| I.2.3. Voies de signalisation perturbée..... | 7 |
| a. Voies des métalloprotéinases (MMPs)..... | 7 |
| b. Voies vascular endothelial growth factor (VEGF) et angiogenèse compromise..... | 8 |
| I.3. Approches thérapeutiques : conventionnelles et naturelles..... | 8 |
| I.3.1. Traitements conventionnels..... | 8 |
| a. Inhibiteurs de la pompe à protons et régulation de MUC1..... | 8 |
| I.3.2. Traitements naturels..... | 9 |
| A. Plantes médicinales..... | 9 |
| B. Polyphénols : rôles et mécanismes..... | 9 |
| a. Activités anti-inflammatoire..... | 10 |
| b. Activités antioxydante..... | 11 |
| c. Effets gastroprotecteurs et régénératif..... | 12 |
| C. <i>Clematis flammula</i> | 13 |
| I.4. Digestion <i>in vitro</i> et la biodisponibilité des polyphénols..... | 13 |
| I.4.1. Principes et intérêt de la digestion simulée..... | 13 |
| I.4.2. Étapes de la digestion simulée : orale, gastrique, intestinale..... | 13 |
| Chapitre II : Matériel et méthodes | |
| II.1. Matériel..... | 15 |
| II.1.1. Matériel végétal..... | 15 |
| II.2. Méthodes | 15 |

| | |
|---|----|
| II.2.1. Préparation de l'extrait de <i>Clematis flammula</i> | 15 |
| II.2.2. Dosage des polyphénols, flavonoïdes et sucres..... | 16 |
| II.2.3. Effet de l'extrait sur le pH des milieux digestifs simulés..... | 18 |
| II.2.4. Simulation de la digestion gastro-intestinale <i>in vitro</i> | 18 |
| II.2.5. Évaluation de l'activité antioxydante (test DPPH°)..... | 19 |
| II.2.6. Analyse statistique..... | 19 |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | |
|--|-----------|
| III.1. Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et sucres dans l'extrait de <i>Clematis flammula</i> | 20 |
| III.1.1 Teneur en composés phénoliques totaux..... | 20 |
| III.1.2 Teneur en flavonoïdes..... | 21 |
| III.1.3 Teneur en sucres..... | 22 |
| III.2. Évolution de la composition chimique avant et après digestion <i>in vitro</i> | 23 |
| III.2.1. Teneur en polyphénols totaux..... | 24 |
| III.2.2. Teneur en flavonoïdes totaux..... | 27 |
| III.2.3. Teneur en sucres totaux..... | 31 |
| III.3. Évaluation de l'activité antioxydant (test DPPH)..... | 34 |
| III.4. Discussion..... | 38 |
| Conclusion et perspective..... | 40 |

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tableau I | Volumes des solutions mères d'électrolytes des fluides digestifs pour un volume de 400 mL dilué avec de l'eau ($1,25 \times$ Concentrations)..... | 16 |
| Tableau II | Taux de polyphénols, flavonoides et sucres de l'extrait de <i>C. flammula</i> | 20 |
| Tableau III | Variation du pH induite par l'extrait selon les compartiments digestifs..... | 23 |

Liste des figures

| | | |
|-------------------|---|----|
| • Figure01 | Anatomie gastrique..... | 3 |
| • Figure02 | Mécanisme anti-inflammatoire des polyphénols liés du son de millet impliquant la voie ROS | 11 |
| • Figure03 | Effets antioxydants des polyphénols : régulation de l'activité des enzymes antioxydantes..... | 12 |
| • Figure04 | Photographie des feuilles de la plante <i>Clematis flammula</i> (photographie originale)..... | 15 |
| • Figure05 | Taux des polyphénols totaux dans la phase orale..... | 24 |
| • Figure06 | Taux des polyphénols totaux dans la phase gastrique..... | 25 |
| • Figure07 | Taux des polyphénols totaux dans la phase intestinale..... | 26 |
| • Figure08 | Taux des flavonoïdes totaux dans la phase orale..... | 28 |
| • Figure09 | Taux des flavonoïdes totaux dans la phase gastrique..... | 29 |
| • Figure10 | Taux des flavonoïdes totaux dans la phase intestinale..... | 30 |
| • Figure11 | Taux des sucres totaux dans la phase orale..... | 31 |
| • Figure12 | Taux des sucres totaux dans la phase gastrique..... | 32 |
| • Figure13 | Taux des sucres totaux dans la phase intestinale..... | 33 |
| • Figure14 | Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase orale. | 35 |
| • Figure15 | Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase gastrique..... | 36 |
| • Figure16 | Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase intestinale..... | 37 |

Liste des abréviations

| | |
|-------------------------|--|
| Akt | Protein Kinase B |
| α -SMA | Alpha Smooth Muscle Actin |
| AINS | Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) |
| ANOVA | Analysis of Variance |
| ARE | Antioxidant Response Element |
| CAT | Catalase |
| CD31 | Cluster of Differentiation 31 |
| CF | <i>Clematis flammula</i> |
| cIAP2 | Cellular Inhibitor of Apoptosis Protein 2 |
| COL1A1 / COL3A1 | Type I / III Collagen |
| COX / COX- 1 / COX-2 | Cyclooxygenase / Cyclooxygenase-1 / Cyclooxygenase-2 |
| DEGs | Differentially Expressed Genes |
| DPPH | 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl |
| GE | Glucose Equivalent |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor |
| GAE | Gallic Acid Equivalent |
| RE | Rutin Equivalent |
| QE | Quercetin Equivalent |
| ENOS | Endothelial Nitric Oxide Synthase |
| GSH | Reduced Glutathione |
| GPx | Glutathione Peroxidase |
| GR | Glutathione Reductase |
| GST | Glutathione S-Transferase |
| <i>H. pylori</i> | <i>Helicobacter pylori</i> |
| HCl | Hydrochloric Acid |
| HO-1 | Heme Oxygenase-1 |
| HPLC-DAD | High Performance Liquid Ch |
| ROS | Reactive oxygen species |

Introduction

générale

Introduction

L'ulcère gastrique, caractérisé par des lésions de la muqueuse de l'estomac ou de la partie supérieure de l'estomac, constitue un problème de santé fréquent dans le monde, touchant environ 5 à 10 % de la population au cours de leur vie (**Liu et al., 2025**). Il se manifeste généralement par des douleurs épigastriques, soulagées par la nourriture ou l'ingestion de substances alcalines.

Le développement d'un ulcère gastrique résulte d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs (pepsine, acide, infection à *H. pylori*) et défensifs (prostaglandines, mucine, oxyde nitrique, bicarbonate et facteurs de croissance). La consommation d'alcool, le tabac, le stress, l'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (**Ahmad et al., 2019**), par exemple les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) exercent leur effet délétère en inhibant la synthèse des prostaglandines, molécules indispensables à la sécrétion de mucus et de bicarbonate. Cette inhibition affaiblit la barrière protectrice de la muqueuse gastrique, la rendant plus vulnérable aux agressions acides (**Laine et al., 2008**). Par ailleurs, *H. pylori* constitue un facteur majeur dans la pathogénie de l'ulcère gastrique. Il induit une inflammation chronique, stimule la sécrétion d'acide chlorhydrique et altère l'intégrité des cellules épithéliales (**Suerbaum & Michetti, 2002**). Ces perturbations convergent vers une déstabilisation de l'équilibre muqueux, favorisant ainsi l'érosion progressive de la paroi gastrique et la formation de lésions ulcéreuses.

Les gènes différentiellement exprimés (DEGs) jouent un rôle essentiel dans la pathophysiologie et la réparation des lésions. Des études ont mis en évidence des gènes impliqués dans des voies de signalisation telles que TNF, IL-17 et NF- κ B, ainsi que dans des processus inflammatoires, apoptotiques et de stress oxydatif (**Huang et al., 2020 ; El-Shitany et al., 2024**).

Le traitement conventionnel repose sur l'utilisation d'une combinaison de plusieurs agents antimicrobiens, d'inhibiteurs de la pompe à protons (IPP). Toutefois, ces traitements sont limités en raison de leur toxicité et la résistance croissante de *H. pylori* aux antibiotiques (**Gupta et al., 2023**).

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de l'ulcère gastrique a suscité un intérêt croissant, en raison de leurs propriétés antioxydantes attribuées à leur richesse en polyphénols, tanins, vitamines et minéraux. Ces composés sont associés à une augmentation des niveaux d'enzymes antioxydantes (SOD, GSH, CAT), à une diminution du taux de MDA, ainsi qu'à l'inhibition de la voie ROS/NF- κ B. Cette voie, activée par le stress oxydatif, stimule la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6) et d'enzymes comme COX-2 et iNOS, contribuant aux lésions muqueuses (**Morgan and Liu, 2011**). Les antioxydants

Introduction

d'origine végétale permettent donc de moduler cette voie, réduisant l'inflammation et favorisant la cicatrisation des ulcères. (Altaf et al., 2023).

Clematis flammula (*Ranunculaceae*) est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen, largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, en particulier les ulcères gastriques (Yous et al., 2018). Elle est traditionnellement utilisée sous forme de décoction ou de macération de feuilles séchées afin de soulager les douleurs gastriques et favoriser la cicatrisation.

Ce travail a pour objectif d'évaluer *in vitro* l'effet anti-ulcère de l'extrait hydro-éthanoïque des feuilles de *C. flammula* en mettant l'accent sur la caractérisation de leur teneur en composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les sucres. Pour cela, une simulation de la digestion gastro-intestinale selon le protocole INFOGEST a été réalisée afin d'examiner l'impact de cette digestion sur la biodisponibilité des composés et leur activité antioxydante, dans une perspective d'alternative naturelle aux traitements conventionnels des ulcères gastriques.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I.1. Estomac : anatomie, physiologie et régénération

I.1.1. Anatomie et fonction

L'estomac est un organe essentiel qui joue un rôle dans le processus de digestion et participe aussi à la régulation de la nutrition (Vora et al., 2021).

L'estomac, en forme de J (Figure 01), se divise en plusieurs régions distinctes : Le **cardia** est la zone où l'œsophage débouche dans l'estomac, comportant un mécanisme sphinctérien physiologique qui prévient le reflux. Le **fundus**, en forme de dôme, se situe au-dessus et à gauche du cardia. Le **corps** de l'estomac s'étend du cardia jusqu'à l'incisura angularis, qui marque la transition vers l'**antre pylorique**, s'étendant de cette incisure jusqu'à l'orifice pylorique. Enfin, le **pylore**, portion tubulaire terminale, est doté d'une paroi musculaire épaisse formant le sphincter pylorique, chargé de réguler l'évacuation du contenu gastrique vers le duodénum (Wilson and Stevenson, 2019).

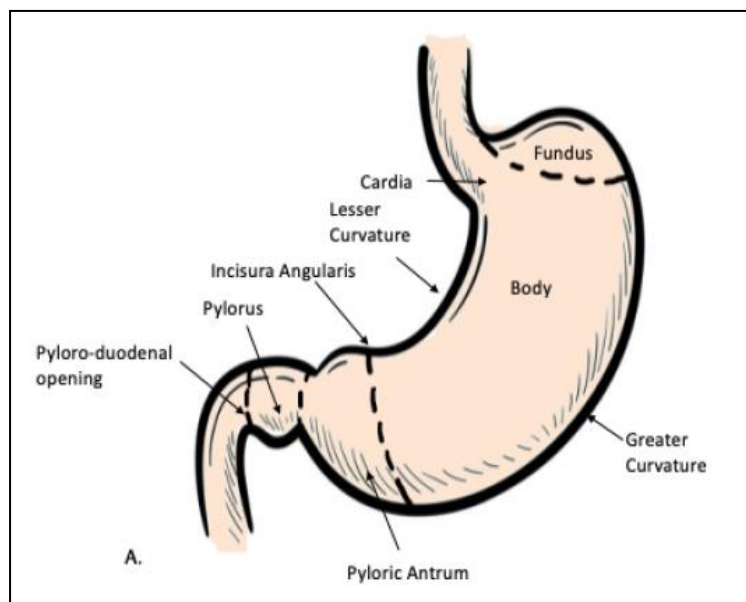


Figure01 : Anatomie gastrique (Vora et al., 2021).

I.1.2. Histologie de l'estomac

La paroi gastrique est composée de quatre couches principales :

- **Muqueuse** : est formée d'un épithélium vascularisé et formé de plis longitudinaux appelés *rugae*, facilitant l'expansion de l'estomac. Elle abrite les glandes gastriques responsables de la sécrétion digestive.

Synthèse bibliographique

- **Sous-muqueuse** : est un tissu conjonctif contenant vaisseaux et nerfs, jouant un rôle dans la régulation des sécrétions et de la motricité.
- **Musculeuse** : est constituée de trois couches de muscle lisse oblique interne, circulaire moyenne, et longitudinale externe responsables du brassage et de la progression du chyme.
- **Séreuse** : est une couche externe correspondant au feuillet viscéral du péritoine, assurant protection et mobilité de l'organe (Soybel, 2005).

-Types de cellules gastriques et leurs rôles :

- **Cellules pariétales** : sécrètent l'acide chlorhydrique (HCl), essentiel à la digestion des protéines, et le facteur intrinsèque, nécessaire à l'absorption de la vitamine B12.
- **Cellules principales** : produisent le pepsinogène, précurseur de la pepsine, et la lipase gastrique, contribuant à la digestion des protéines et des lipides.
- **Cellules à mucus** : sécrètent un mucus alcalin riche en bicarbonate, formant une barrière protectrice contre l'acidité et les enzymes digestives.
- **Cellules entéroendocrines** : libèrent des hormones, principalement la gastrine, qui régule la sécrétion d'acide gastrique.
- **Cellules souches** : assurent le renouvellement et la régénération de l'épithélium gastrique (Wilson and Stevenson, 2019).

-Les enzymes gastriques :

Durant la phase gastrique de la digestion, la muqueuse gastrique sécrète plusieurs enzymes essentielles qui amorcent l'hydrolyse des macronutriments. La plus importante d'entre elles est la pepsine, une endoprotéase issue de l'activation acide du pepsinogène, un zymogène synthétisé par les cellules principales. Cette conversion nécessite un pH acide (~2), maintenu par la sécrétion d'HCl par les cellules pariétales. Une fois activée, la pepsine hydrolyse sélectivement les liaisons peptidiques internes des protéines, générant des oligopeptides qui seront dégradés ultérieurement dans l'intestin grêle (Sachs et al., 2007 ; Helander & Fändriks, 2011).

Par ailleurs, la lipase gastrique, également sécrétée par les cellules principales, participe à la digestion précoce des lipides. Elle agit en milieu acide et catalyse l'hydrolyse des triglycérides en acides gras libres et en monoacylglycérols. Bien que son activité soit inférieure à celle de la lipase pancréatique, elle joue un rôle particulièrement important chez le nouveau-né et chez les sujets présentant une hypofonction pancréatique (Favé et al., 2007).

Synthèse bibliographique

I.1.3. Régulation de l'acidité gastrique et du mucus protecteur

La régulation de l'acidité gastrique et de la production du mucus protecteur est essentielle pour préserver l'intégrité de la muqueuse gastrique. Cette dernière sécrète un mucus riche en bicarbonates, composé d'eau, de glycoprotéines et de phospholipides de surface, qui forme une barrière protectrice contre l'acidité. L'équilibre entre la sécrétion acide et la production de mucus repose sur des signaux moléculaires spécifiques :

- **Histamine** : Sécrétée par les cellules entérochromaffines-like (ECL), l'histamine agit sur les récepteurs H₂ des cellules pariétales, stimulant ainsi la sécrétion d'acide chlorhydrique (HCl) (**Bazin and Lamarque, 2018**).
- **Gastrine** : Cette hormone, produite par les cellules G de l'antrum gastrique après un repas, circule dans le sang et exerce plusieurs effets physiologiques. Elle stimule directement les cellules pariétales à sécréter du HCl et active les cellules ECL pour renforcer la libération d'histamine. Par ailleurs, la gastrine favorise la production de mucus, contribuant ainsi à la protection de la muqueuse gastrique. Elle joue également un rôle clé dans la régulation de la digestion et le maintien de la barrière protectrice de l'estomac (**Soybel, 2005**).
- **Potentiel hydrogène acide (pH acide)** : Une baisse du pH gastrique déclenche une réponse locale qui stimule les cellules épithéliales et les cellules à mucus à augmenter la sécrétion d'un mucus riche en bicarbonate. Ce mucus agit comme une barrière chimique et physique contre l'agression acide et les enzymes digestives telles que la pepsine (**Di Natale et al., 2023**).
- **Acétylcholine (ACh)** : Neurotransmetteur du système nerveux parasympathique, l'ACh stimule les cellules pariétales à sécréter du HCl. Elle agit également sur les cellules ECL et G, renforçant ainsi la stimulation acide. L'ACh intervient principalement lors de la phase gastrique de la digestion (**Soybel, 2005**).
- **Prostaglandine E2 (PGE2)** : Cette molécule favorise la sécrétion de bicarbonate et de mucus, tout en maintenant une perfusion sanguine adéquate au niveau de la muqueuse gastrique. Elle joue un rôle clé dans la protection contre l'acidité gastrique (**Di Natale et al., 2023**).

I.2. L'ulcère gastrique : physiopathologie et facteurs de risque

1.2.1. Déséquilibre entre facteurs agressifs et défensifs

L'ulcère gastrique est une érosion de la muqueuse de l'estomac. Il résulte d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs (acide chlorhydrique, pepsine, AINS, etc.) et les mécanismes de

Synthèse bibliographique

défense de la muqueuse gastrique (mucus, bicarbonate, renouvellement cellulaire, etc). Normalement, les cellules de la muqueuse gastrique sécrètent du mucus et du bicarbonate (HCO_3), formant une barrière protectrice contre l'agression acide. Toutefois, une sécrétion excessive d'acide et de pepsine ou une altération de cette barrière protectrice peut entraîner la formation d'un ulcère (Kumar et al., 2023).

Parmi les principales causes identifiées, *Helicobacter pylori* et l'usage chronique d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont les facteurs étiologiques les plus courants (Kim, 2023).

I.2.2. Mécanismes moléculaires de destruction de la muqueuse :

L'inflammation prolongée endommage directement les cellules épithéliales qui tapissent l'estomac et altère la production et la qualité du mucus protecteur qui recouvre la muqueuse. La perte de cette barrière rend la muqueuse plus vulnérable à l'action corrosive de l'acide gastrique et de la pepsine (Slomiany and Slomiany, 2019). En parallèle, le stress oxydatif dans l'estomac, souvent provoqué par les facteurs agressifs, cause des dommages aux cellules de la muqueuse gastrique, entraînant une inflammation chronique. Ces dommages peuvent conduire à une augmentation de la perméabilité de la muqueuse, permettant aux acides gastriques de pénétrer plus profondément et de causer des lésions. De plus, la libération des espèces réactives de l'oxygène (ERO), comme l'anion superoxyde (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), active plusieurs voies de signalisation, aggravant ainsi la dégradation de la barrière muqueuse et contribuant à la formation des ulcères gastriques (Rezvani, 2024).

a- liés aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Les AINS sont largement utilisés pour leurs propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Leur mécanisme principal repose sur l'inhibition des cyclo-oxygénases COX-1 et COX-2, enzymes responsables de la biosynthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Cette inhibition, bien que thérapeutique, entraîne plusieurs effets délétères au niveau de la muqueuse gastrique (Ermiş et al., 2023).

- **Altération de la barrière protectrice** : La baisse de la synthèse de la prostaglandine E (PGE) diminue la sécrétion de mucus et de bicarbonate, réduit la prolifération des cellules épithéliales, et compromet le maintien du flux sanguin local. Cela rend la muqueuse plus vulnérable aux agressions acides.

Synthèse bibliographique

- **Ischémie locale** : La réduction du flux sanguin gastrique limite l'apport d'oxygène et de nutriments essentiels à la réparation tissulaire. Cette hypoxie fonctionnelle aggrave les lésions existantes et empêche la régénération efficace de l'épithélium.
- **Altération de la régénération cellulaire** : En plus de perturber la prolifération épithéliale, certains AINS peuvent avoir des effets cytotoxiques directs sur les membranes cellulaires, favorisant la formation d'ulcères gastriques.

b- liés à l'infection par *Helicobacter pylori* :

H. pylori colonise la muqueuse gastrique grâce à plusieurs facteurs de virulence. L'uréase neutralise l'acidité gastrique, créant un environnement favorable à la survie bactérienne. Les cytotoxines CagA et VacA libérés par la bactérie perturbent les voies de signalisation cellulaires (MAPK, PI3K), altèrent la structure cellulaire, induisent l'apoptose et affaiblissent la réponse immunitaire, contribuant à la persistance de l'infection et à la formation des ulcères (Ali & AlHussaini, 2024).

I.2.3. Voies de signalisation impliquées dans l'inflammation gastrique et la cicatrisation perturbée

Les altérations des voies de signalisation intracellulaire induites par *Helicobacter pylori* et certains traitements médicamenteux (notamment les AINS) perturbent profondément l'homéostasie gastrique, entraînant inflammation chronique et cicatrisation inefficace (Lazzaroni and Bianchi Porro, 2001) Ces perturbations sont essentielles sont résumées ci-dessous :

a-Voie des métalloprotéinases (MMPs) :

Les MMPs, notamment MMP-1, -3, -7, -9 et -10, sont surexprimées dans un contexte inflammatoire. Leur régulation est assurée par la voie MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) et les cytokines pro-inflammatoires. Les AINS influencent leur expression par deux mécanismes :

- Par un mécanisme dépendant des prostaglandines, l'inhibition de COX-2 diminue la production de PGE₂ et de VEGF, ce qui réduit l'expression de MMP-2.
- Par un mécanisme indépendant des prostaglandines, les AINS augmentent la production de ROS, ce qui active NF- κ B et entraîne l'expression accrue de MMP-1, MMP-9 et d'autres MMPs. Par ailleurs, l'augmentation des cytokines TNF- α et IL-1 stimule

Synthèse bibliographique

davantage MMP-1 et MMP-9. Le peroxyde d'hydrogène généré inhibe l'activité des MMP-2 et MMP-14, compromettant le remodelage tissulaire (**Majumder et al., 2021**).

b-Voie Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) et angiogenèse compromise :

Le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) joue un rôle central dans l'angiogenèse gastrique en activant les récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2, ce qui stimule la voie Ras–Raf–MEK–ERK (MAPK) et favorise la prolifération cellulaire, la migration et la néovascularisation. Toutefois, *H. pylori* et les AINS interfèrent avec cette signalisation en inhibant la phosphorylation de MEK et ERK, ce qui limite la cicatrisation (**Tarnawski & Ahluwalia, 2021**). Par ailleurs, les AINS inhibent l'activité de COX-2, réduisant la production de PGE₂, impliquée dans la régénération de l'épithélium via la transactivation d'EGFR par TGF α . Cette inhibition simultanée des voies VEGF et EGFR compromet la réparation tissulaire (**Mizushima, 2010**).

I.3. Approches thérapeutiques : conventionnelles et alternatives

I.3.1. Traitements conventionnels

-Inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) et régulation des gènes protecteurs :

L'estomac produit une quantité d'acide qui est réduite par les inhibiteurs de la pompe à proton (IPP). On les utilise pour le traitement du reflux acide et les ulcères de l'estomac ainsi que du duodénum. La plupart des patients qui consomment un inhibiteur de la pompe à protons ne présentent pas de risques d'effets secondaires (**Khan and Howden, 2018**).

Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP), comme l'oméprazole ou l'ésoméprazole, sont au cœur du traitement de nombreuses affections gastro-intestinales. Les IPP constituent une classe de médicaments qui diminuent la production d'acide gastrique en agissant sur les cellules tapissant la paroi de l'estomac. Leur mode d'action consiste en une inhibition irréversible de la pompe à protons H⁺/K⁺-ATPase au sein des cellules pariétales gastriques, ce qui entraîne une diminution marquée de la sécrétion d'acide (**Begg et al., 2023**).

Les IPP ne se limitent pas à une simple réduction de l'acidité gastrique, ils participent aussi à la modulation de l'expression de gènes protecteurs comme (MUC1) :

-MUC1 (Mucin1) :

MUC1 est une glycoprotéine transmembranaire impliquée dans la protection et la réparation de l'épithélium gastrique. Elle contribue à :

Synthèse bibliographique

- la formation d'une barrière protectrice à la surface des cellules épithéliales,
- la régulation de la réponse inflammatoire via des voies de signalisation intracellulaires,
- la défense contre *Helicobacter pylori*, en limitant son adhésion et son effet pathogène (Sheng et al., 2020).

I.3.2. Traitements naturels

A-Plantes médicinales

Les plantes médicinales constituent une alternative potentielle aux traitements conventionnels qui présentent des effets toxiques et des effets secondaires indésirables (Fierascu et al., 2021). Elles représentent une source précieuse de composés bioactifs utilisés traditionnellement dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux. Plusieurs études expérimentales ont mis en évidence leur efficacité anti-ulcéreuse, notamment grâce à la présence de flavonoïdes, saponines, tanins et alcaloïdes. Ces substances jouent un rôle essentiel dans la protection de la muqueuse gastrique en renforçant les mécanismes de défense endogène, en inhibant la sécrétion acide et en exerçant une activité antioxydante significative.

On a cité quelques exemples sur les plantes médicinales et leurs effets anti-ulcère (Tableau I annexe) (Cherrada et al., 2024).

B-Polyphénols : rôles et mécanismes

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement présents dans les plantes médicinales. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes, mais aussi des animaux, notamment grâce à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et gastroprotectrices (Chiu et al., 2021). Ces effets leur confèrent un intérêt particulier dans la prévention et l'atténuation des ulcères gastro-intestinaux, en réduisant le stress oxydatif, en modulant l'inflammation locale et en protégeant la muqueuse digestive (Farzaei et al., 2015). Les flavonoïdes, par exemple, stimuleraient le contenu en prostaglandines de la muqueuse, inhiberaient la prolifération d'*Helicobacter pylori*, et limiteraient la production de radicaux libres (Serafim et al., 2020). Quant aux tanins, ils forment une couche protectrice sur la muqueuse gastrique, réduisant ainsi l'irritation causée par les agents agressifs (Mustefa et al., 2023).

Synthèse bibliographique

Ces effets sont médiés par diverses voies de signalisation cellulaires, impliquées dans les réponses antioxydantes, anti-inflammatoires, la cicatrisation et l'angiogenèse (Zulkefli et al., 2023).

a-Activité anti-inflammatoire :

L'ulcère gastrique est avant tout une pathologie inflammatoire résultant de lésions de la muqueuse gastrique. Les polyphénols jouent un rôle clé dans la régulation de la réponse inflammatoire en agissant sur plusieurs voies de signalisation intracellulaire. Ils exercent notamment leurs effets par l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B (nuclear factor-kappa B), une voie centrale dans l'activation des gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6.

Les polyphénols, notamment la catéchine et l'épigallocatechine gallate, possèdent des propriétés anti-inflammatoires marquées, principalement par l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B/I κ B α . Cette modulation entraîne une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α , tout en favorisant l'expression de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire essentielle à la réparation (Nani et al., 2021).

Un exemple mécanistique détaillé a été mis en évidence par (Shi et al., 2017) dans une étude sur les polyphénols liés extraits du son de millet *Setaria italica*. Dans ce modèle, les polyphénols induisent une accumulation modérée de ROS, qui stimule l'expression du microARN miR-149. Ce dernier cible directement la protéine Akt, empêchant ainsi sa phosphorylation. L'inhibition d'Akt bloque la translocation nucléaire du facteur NF- κ B, limitant l'activation des gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-8) et favorisant l'expression de l'IL-10. Ce mécanisme montre comment les polyphénols peuvent rétablir un équilibre inflammatoire favorable à la réparation tissulaire.

La voie de signalisation impliquée dans l'effet anti-inflammatoire des polyphénols est illustrée dans la figure 02 ci-dessous, à titre d'exemple basé sur les polyphénols extraits du son de millet (*Setaria italica*).

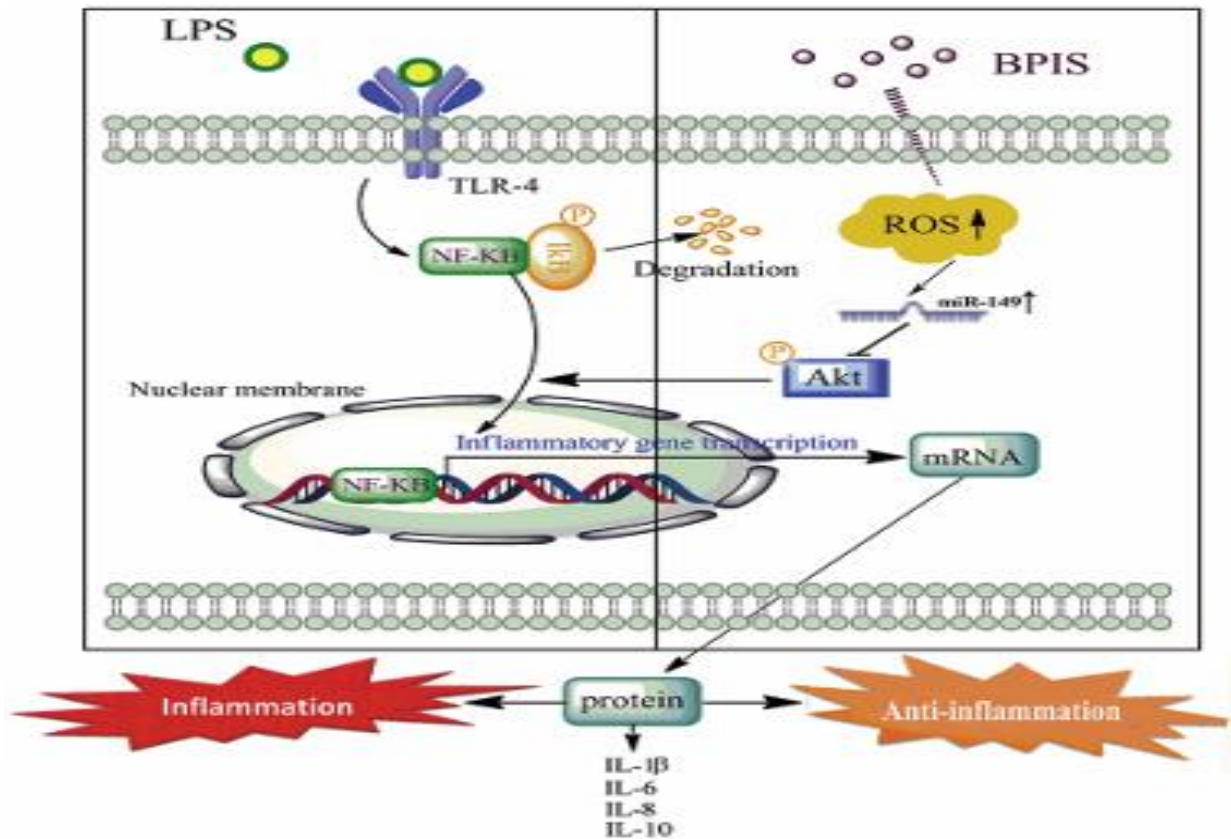


Figure02: Mécanisme anti-inflammatoire des polyphénols liés du son de millet impliquant la voie ROS :Reactive Oxygen Species ,miR-149 :microRNA-149 , Akt :Protein Kinase B,NF-κB :Nuclear Factor kappa B (Shi et al., 2017).

b-Activité antioxydante :

Le stress oxydatif, provoqué par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), joue un rôle crucial dans l'aggravation des ulcères gastro-duodénaux. Les flavonoïdes, grâce à leur fort potentiel antioxydant, activent la voie de signalisation Nrf2/ARE (Figure03), un mécanisme cellulaire clé de défense contre le stress oxydatif. Normalement, le facteur de transcription Nrf2 est séquestré dans le cytoplasme par la protéine Keap1. Sous l'effet des flavonoïdes, Keap1 subit une modification conformationnelle qui libère Nrf2. Celui-ci migre alors vers le noyau, où il se lie à l'élément de réponse antioxydant (ARE) de l'ADN et stimule l'expression de gènes cytoprotecteurs tels que HO-1, NQO1, GST et GR. Ces gènes codent pour des enzymes de détoxification et de protection cellulaire, qui réduisent les dommages oxydatifs en neutralisant les ERO et en maintenant l'intégrité de la muqueuse gastrique (Zhang et al., 2020).

De plus, les flavonoïdes renforcent l'activité des enzymes antioxydantes endogènes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et

Synthèse bibliographique

augmentent les niveaux de glutathion réduit (GSH) (Ji et al., 2020), contribuant ainsi à la réduction de la peroxydation lipidique et à la protection des tissus gastriques contre les lésions induites par le stress oxydatif.

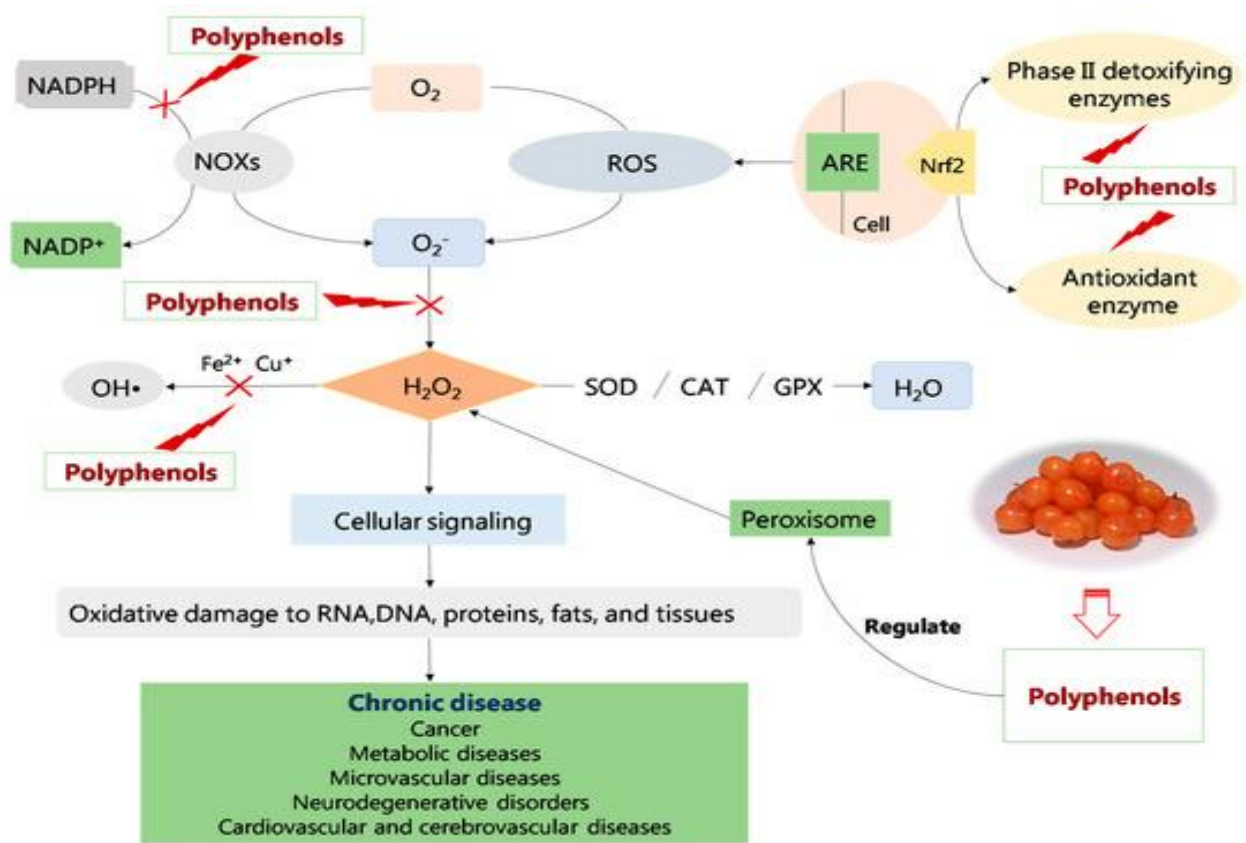


Figure03: Effets antioxydants des polyphénols : régulation de l'activité des enzymes antioxydantes et protection contre le stress oxydatif NADP⁺: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ; NOXs: NADPH oxidases; ROS: reactive oxygen species; O₂: molecular oxygen; O₂⁻: superoxide anion; OH•: hydroxyl radical; H₂O₂: hydrogen peroxide; SOD: superoxide dismutase; CAT: catalase; GPx: glutathione peroxidase; GSH: reduced glutathione; Nrf2: nuclear factor erythroid 2-related factor 2; Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1; ARE: antioxidant response element(Ji et al., 2020).

c-Effet gastroprotecteur et régénératif :

Les effets gastroprotecteurs des polyphénols reposent sur plusieurs mécanismes synergiques. Ils participent à l'éradication de *Helicobacter pylori*(Guerra-Valle et al., 2022) et favorisent la réparation de la muqueuse gastrique par stimulation de la ré-épithélialisation De plus, ils régulent l'expression de deux voies essentielles à la régénération cellulaire et la cicatrisation du tissu gastrique(Chiu et al., 2021).

- **Voie TGF-β1/SMAD** : Elle stimule la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes (marqués par l'α-SMA) et induit la production de collagène (COL1A1, COL3A1), processus essentiel à la réparation tissulaire.

Synthèse bibliographique

- **Voie de l'angiogenèse (VEGF-A/PI3K/Akt/eNOS)** : Les polyphénols augmentent l'expression du facteur VEGFA et activent les cascades intracellulaires favorisant la revascularisation. L'expression du marqueur endothélial CD31 (PECAM1) confirme la formation de nouveaux capillaires (**Ezzat et al., 2025**).

Notre objectif était de tester l'effet gastro-protecteur de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *C. flammula* en utilisant un système digestif *in vitro*.

***C. Clematis flammula* :**

Clematis flammula est un arbuste méditerranéen dont les feuilles sont traditionnellement utilisées en Algérie pour traiter les inflammations et les troubles gastro-intestinaux, notamment les ulcères. Cette plante possède une composition riche en polyphénols, flavonoïdes et tanins, qui lui confèrent un fort potentiel gastroprotecteur (**Yous et al., 2018**). Une étude antérieure a prouvé les vertus gastro-protectrices contre divers agents agressifs de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. flammula in vivo*.

I.4. La digestion *in vitro*

I.4.1. Principes et intérêt de la digestion simulée

Les modèles de digestion gastro-intestinale *in vitro* sont des outils utiles pour simuler les conditions physiologiques qui se produisent pendant la digestion humaine. Ces méthodes offrent des avantages tels qu'un faible coût, un meilleur contrôle des variables et des résultats plus rapides, tout en évitant les difficultés éthiques. L'objectif principal de la digestion *in vitro* est de comparer la composition phénolique des extraits de plante ou les aliments sous les conditions physiologiques (pH et présence des enzymes digestives et des principaux minéraux). Les composés phénoliques doivent traverser la cavité buccale et la région gastrique avant d'atteindre l'intestin grêle, où il existe une disparité substantielle entre ces trois phases. Ce passage est supposé modifier la structure des composés phénoliques, pour les rendre plus ou moins disponibles pour l'absorption par le système digestif (**Marze, 2022**).

I.4.2. Étapes de la digestion simulée : orale, gastrique, intestinale

Plusieurs études ont démontré que la digestion gastro-intestinale influence considérablement la biodisponibilité des composés bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les sucres (**Dufour et al., 2014**). Cette digestion peut être simulée *in vitro* à travers trois phases successives orale, gastrique et intestinale – afin de reproduire les conditions enzymatiques et physiologiques du tractus digestif humain (**Vamanu et al., 2020**).

Synthèse bibliographique

Lors de la phase orale, le pH neutre et l'action de l'amylase salivaire permettent principalement l'hydrolyse partielle des polysaccharides, favorisant ainsi la libération précoce de certains sucres et, dans une moindre mesure, la désorption de polyphénols liés à la matrice glucidique(**de Paulo Farias et al., 2021**).

Par contre, lors de la phase gastrique, caractérisée par un pH acide ($\approx 3,0$), l'intervention de la pepsine, enzyme protéolytique, ainsi que de la lipase, qui agit sur les lipides, favorise la rupture des complexes macromoléculaires (protéines, lipides), libérant des composés phénoliques initialement liés à ces structures. Toutefois, de nombreux polyphénols sont chimiquement instables à pH acide, ce qui peut entraîner leur dégradation par oxydation, épimérisation ou polymérisation(**Bermúdez-Soto et al., 2007**).

En phase intestinale, le pH devient neutre à légèrement alcalin ($\approx 7,0$), et la digestion est assurée par la trypsine ainsi que les sels biliaires, qui facilitent l'hydrolyse des protéines résiduelles et l'émulsification des lipides. Cette étape permet la libération de polyphénols supplémentaires, mais peut aussi provoquer la précipitation ou la transformation de certains composés instables en milieu alcalin(**Wojtunik-Kulesza et al., 2020**).

Dans l'ensemble, la bioaccessibilité des composés phénoliques dépend étroitement de leur stabilité chimique, de leur forme de liaison dans la matrice alimentaire, et des conditions enzymatiques rencontrées au cours de la digestion. Il apparaît donc indispensable d'évaluer ces paramètres dans un contexte digestif simulé pour mieux estimer le potentiel antioxydant réel des extraits végétaux après ingestion. Le rôle des polyphénols dans la protection contre l'ulcère (**Ozkan et al., 2023**).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

La *Clematis flammula*, gracieuse liane de la famille des **Ranunculacées** (**Figure04**), est une plante médicinale sauvage connue pour leur richesse en composés bioactifs présentant une activité antioxydante notable.



Figure 04 : Photographie des feuilles de la plante *Clematis flammula*(photographie originale).

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de *C. flammula* (CF) ont été récoltées en avril 2023 dans la forêt d'Azru n'Bechar, située dans la commune d'Amizour, wilaya de Bejaia. Les feuilles de CF ont été nettoyées, séchées à l'air libre à température ambiante, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées en une poudre fine de 64 μm de diamètre. La poudre a été mélangée avec de l'éthanol à 10% (1 g de poudre dans 60 ml d'éthanol) et placée dans un bain ultrasonique à 55°C pendant 10 min, puis le mélange a été filtré, et le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif avant d'être lyophilisé. Enfin, l'extrait a été stocké à -20 °C jusqu'à son utilisation.

Matériel et Méthodes

II.2.2 Dosage des polyphénols, flavonoïdes et sucres

Le dosage des polyphénols, flavonoïdes et sucres a été entrepris pour l'extrait de *C. flammula* seul et mélangé avec les différents milieux des trois phases orale, gastrique et intestinale (Tableau I). Les dosages sont faits avant et après chaque phase pour déterminer les modifications de la quantité de chaque paramètre après le passage par chaque phase digestive. Pour chaque phase, une solution témoin a été préparée en mélangeant l'extrait avec le milieu de la phase digestive mais pas avec les enzymes.

Tableau I : Volumes des solutions mères d'électrolytes des fluides digestifs pour un volume de 400 mL dilué avec de l'eau (1,25×Concentrations).

| Salt solution added | Stock concentrations | | SSF (pH 7) | | SGF (pH 3) | | SIF (pH 7) | |
|--|----------------------|------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|
| | | | Milliliters of stock added to prepare 0.4 L (1.25×) | Final salt concentration in SSF | Milliliters of stock added to prepare 0.4 L (1.25×) | Final salt concentration in SGF | Milliliters of stock added to prepare 0.4 L (1.25×) | Final salt concentration in SIF |
| | (g/L) | (M) | (mL) | (mM) | (mL) | (mM) | (mL) | (mM) |
| KCl | 37.3 | 0.5 | 15.1 | 15.1 | 6.9 | 6.9 | 6.8 | 6.8 |
| KH ₂ PO ₄ | 68 | 0.5 | 3.7 | 3.7 | 0.9 | 0.9 | 0.8 | 0.8 |
| NaHCO ₃ ^a | 84 | 1 | 6.8 | 13.6 | 12.5 | 25 | 42.5 | 85 |
| NaCl | 117 | 2 | - | - | 11.8 | 47.2 | 9.6 | 38.4 |
| MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ | 30.5 | 0.15 | 0.5 | 0.15 | 0.4 | 0.12 | 1.1 | 0.33 |
| (NH ₄) ₂ CO ₃ ⁺ | 48 | 0.5 | 0.06 | 0.06 | 0.5 | 0.5 | - | - |
| HCl | | 6 | 0.09 | 1.1 | 1.3 | 15.6 | 0.7 | 8.4 |
| CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ ^b | 44.1 | 0.3 | 0.025 | 1.5 | 0.005 | 0.15 | 0.04 | 0.6 |

SSF: Simulated Salivary Fluid, SGF: Simulated Gastric Fluid, SIF: Simulated Intestinal Fluid.

-Dosage des polyphénols totaux:

-Principe :

La méthode de Folin-Ciocalteu repose sur une réaction colorimétrique permettant de mesurer la teneur totale en composés phénoliques dans les extraits végétaux. Elle exploite la capacité des groupements hydroxyles à réduire le réactif de Folin-Ciocalteu en milieu alcalin, formant un complexe bleu dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en phénols, mesurée par spectrophotométrie à 760 nm (Blainski et al., 2013).

-Méthode :

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Kähkönen et al., 1999). Un volume de 20 µL de l'échantillon dilué a été mélangé avec 100 µL de réactif de Folin dilué (1:10 /v :v), puis 80 µL de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. Après

Matériel et Méthodes

incubation à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance a été mesurée à 760 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine (EQ) par g d'extrait sec, à l'aide d'une courbe d'étalonnage (Figure 1 annexe).

-Dosage des flavonoïdes :

-Principe :

Le dosage des flavonoïdes repose sur une méthode colorimétrique utilisant la réaction entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Ce réactif forme un complexe stable avec les groupes hydroxyles des flavonoïdes, entraînant une coloration jaune mesurable par spectrophotométrie, généralement à une longueur d'onde de 430 nm (**Ali-Rachedi et al., 2018**).

-Méthode :

La méthode utilisée est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde- AlCl_3 selon (**Maksimović et al. 2005**). A 100 μL d'extrait ont été ajoutés 100 μL de chlorure d'aluminium (2 % dans le méthanol). Après 15 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les concentrations ont été calculées par interpolation sur une courbe standard de rutine (Figure 2 annexe) et exprimées en mg équivalent rutine par g d'extrait (mg ER/g extrait).

-Dosage des sucres :

-Principe :

Le dosage des sucres repose sur la déshydratation des sucres par l'acide sulfurique concentré, ce qui conduit à la formation de dérivés de furfural. Ces composés réagissent ensuite avec le phénol pour former un complexe coloré. L'intensité de cette couleur, mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 490 nm, est proportionnelle à la concentration en sucres présents dans l'échantillon (**Zhang et al., 2020**).

-Méthode :

La teneur en sucres a été déterminée par la méthode au phénol-acide sulfurique (**Dubois et al., 1956**). Un volume de 250 μL d'extrait ou le mélange extrait liquide digestif a été ajouté à 750 μL d'acide sulfurique concentré. Après vortexage, 150 μL de phénol ont été ajoutés, et le

Matériel et Méthodes

mélange a été incubé à 95 °C pendant 5 min. L'absorbance a été mesurée à 490 nm. Les concentrations ont été exprimées (mg EG/g extrait) (Figure 3 annexe).

II.2.3 Effet de l'extrait sur le pH des milieux digestifs simulés

Afin d'évaluer si l'ajout de l'extrait aux différents milieux digestifs affecte le pH de ces milieux, le pH a été mesuré avant et après chaque passage par la phase digestive.

Ces observations mettent en évidence la capacité de l'extrait à moduler le pH en fonction du contexte physico-chimique de chaque phase digestive. Sa richesse en composés acides, principalement des polyphénols et des acides organiques, agit différemment selon la force et la nature du tampon en présence, soulignant une interaction pH-dépendante spécifique à chaque compartiment.

II.2.4. Simulation de la digestion gastro-intestinale *in vitro*

La digestion a été simulée selon le protocole standardisé INFOGEST (Minekus et al., 2014), légèrement modifié. L'expérience a été faite en duplicate (2 tubes). Dans les tubes témoins de chaque phase on a mis les minéraux correspondants sans les enzymes.

-Phase orale :

100 mg d'extrait ont été mélangés à 20 mL de liquide salivaire simulé contenant différents minéraux (Tableau I) (tubes témoins et test) et 7,5 mg d' α -amylase pour le test seulement. Le pH a été ajusté à 7,0 avec du NaOH (1 M). Et la centrifugation Le mélange a été agité à 50 rpm pendant 15 min puis incubé à 37 °C pendant 2 min sous agitation.

-Phase gastrique :

Une quantité de 10 mL du mélange oral ont été additionnés à 10 mL de liquide gastrique simulé contenant les minéraux correspondants (Tableau I), la pepsine et la lipase gastrique. Cette phase a été divisée en deux parties égales. La première a été ajustée à un pH de 3, et la deuxième à pH 2,0, avec du HCl (6 M) pour simuler des conditions favorables à un ulcère. L'échantillon a été agité pendant 15 min, puis incubé à 37 °C pendant 2 h sous agitation.

-Phase intestinale :

Une quantité de 10 mL du mélange gastrique a été mélangée avec 10 mL de liquide intestinal simulé contenant des minéraux (Tableau I), de la trypsine et des sels biliaires. Le pH a été ajusté à 7,5 avec du NaOH (1 M), et le mélange a été incubé à 37 °C pendant 2 h sous agitation.

II.2.5. Évaluation de l'activité antioxydant (test DPPH°)

L'activité antioxydant de l'extrait et les différents mélanges avant et après chaque phase a été déterminée dans le but de vérifier si les composés phénoliques modifiés par les milieux digestifs de chaque phase ont subi des modifications amenant à augmenter leur pouvoir antioxydant.

-Principe :

Le DPPH° est un radical libre stable, de couleur violette, qui devient jaune lorsqu'il capte un électron ou un atome d'hydrogène fourni par un antioxydant. Ainsi, lorsqu'un extrait végétal contenant des composés antioxydants (comme les polyphénols ou les flavonoïdes) est ajouté à une solution de DPPH°, une réaction se produit et la couleur violette s'atténue. Cette diminution d'absorbance, mesurée à 517 nm, reflète l'intensité de l'activité antioxydant (**Baliyan et al., 2022**).

-Méthode :

L'activité antioxydant a été mesurée par piégeage du radical libre DPPH°. Un volume de 20 µL d'extrait ou liquide digestif ont été mélangés à 180 µL de DPPH° (1 mM dans du méthanol) dans une microplaque 96 puits. Le mélange a été incubé 30 min à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'inhibition du radical a été calculée selon la formule suivante :

$$\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}} \times 100$$

II.2.6. Analyse statistique

Les données expérimentales ont été analysées à l'aide du logiciel **GraphPadPrism 9**. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type (SD). Les comparaisons entre groupes ont été effectuées à l'aide du test ANOVA à un facteur, suivie du test post-hoc de Tukey. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,5$, hautement significatives à $p < 0,01$ et très hautement significatives à $p < 0,001$.

Chapitre III

Résultats et discussion

Résultats et discussion

L'ulcère gastrique est traité généralement par des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP), des antihistaminiques H₂, des antiacides et des antibiotiques dans le cas d'une infection à *Helicobacter pylori* (Malfertheiner et al., 2017). Toutefois, ces traitements conventionnels peuvent présenter des effets secondaires et des risques de rechute, ce qui stimule l'intérêt pour des alternatives naturelles, notamment les extraits végétaux riches en composés bioactifs tels que les polyphénols. Ces derniers pourraient offrir des effets gastro-protecteurs complémentaires en agissant par des mécanismes antioxydants, anti-inflammatoires et cytoprotecteurs.

Les polyphénols sont des composés organiques naturellement présents dans les plantes, issus du métabolisme secondaire. Ils regroupent une large gamme de structures chimiques, comprenant notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes et les lignanes (Rudrapal et al., 2022). Leur principale caractéristique réside dans leur activité antioxydante marquée, qui leur confère la capacité de neutraliser les radicaux libres impliqués dans le stress oxydatif, un facteur clé dans l'étiologie de nombreuses maladies chroniques. Grâce à ces propriétés, les polyphénols suscitent un intérêt croissant dans les domaines de la phytothérapie, de la nutraceutique et de la prévention des pathologies liées au stress oxydatif.

Notre but a été d'évaluer les taux des polyphénols, flavonoïdes et sucres contenus dans l'extrait de *C. flammula* avant et après leur digestion dans le tube digestif dans les conditions d'ulcère gastrique pour évaluer leurs effets gastro-protecteurs. Vu que l'activité antioxydante des polyphénols joue un rôle décisif dans l'effet gastro-protecteur, cette activité a été déterminée pour toutes les phases de la digestion par le test DPPH°.

II.1. Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et sucres dans l'extrait de *C. flammula*

Les résultats des dosages sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II: Taux de polyphénols, flavonoïdes et sucres de l'extrait de *C. flammula*.

| Extrait | Polyphenols totaux (mgEQ/g) | Flavonoïdes (mg ER/g) | Sucres (mg EG/g) |
|------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------|
| <i>Cflammula</i> | 29,35±0,78 | 22,27±0,47 | 9,23±0,001 |

III.1.1 Teneur en composés phénoliques totaux

Le taux des polyphénols totaux dans l'extrait a été déterminé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, établie en utilisant la quercétine comme

Résultats et discussion

standard (Figure 1 annexe). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

Les résultats obtenus indiquent une concentration de $29,35 \pm 0,78$ mg EQ/g. Comparé aux données précédemment rapportées, nos résultats sont différentes à ceux obtenus par **(Yous et al.,2018)** qui ont rapporté $271,11 \pm 0,47$ µg Eq AG/mg d'extrait (équivalent à 271,11 mg/g en équivalent acide gallique) et **(Atmani et al.,2011)** qui ont rapporté $80,14 \pm 20$ mg ECAT/g d'extrait, bien que les standards d'équivalence utilisés soient différents.

III.1.2. Teneur en flavonoïdes

Sur le plan biochimique, les flavonoïdes exercent une activité antioxydant marquée, principalement grâce à leur structure aromatique riche en groupements hydroxyles, leur permettant de neutraliser les radicaux libres. Ils sont également capables de chélater les métaux pro-oxydants et de moduler certaines voies de signalisation cellulaire impliquées dans la régulation du stress oxydatif et de l'inflammation, telles que les voies NF-κB et Nrf2 **(Rudrapal et al., 2022)**.

Le taux des flavonoïdes dans l'extrait a été déterminé à l'aide de la courbe d'étalonnage obtenue avec la rutine comme standard (Figure 2 annexes). Les résultats sont exprimés en mg équivalents rutine par g d'extrait (mg ER/g).

Les résultats obtenus montrent une teneur en flavonoïdes de $22,27 \pm 0,47$ mg ER/g d'extrait, ce qui diffère considérablement des valeurs rapportées par **Yous et al., (2018)** ($274,28 \pm 0,28$ mg ECAT/g) et par **(Atmani et al.,2009)** ($5,15 \pm 0,10$ mg EQ/g). Cette variation notable peut s'expliquer en grande partie par l'utilisation de standards différents lors des dosages : la rutine, la catéchine et la quercétine présentent des coefficients d'absorption distincts, ce qui influence la réponse colorimétrique et rend les résultats difficilement comparables entre les études **(Stalikas, 2007)**. D'autres facteurs méthodologiques peuvent également intervenir, tels que la technique d'extraction, la partie de la plante analysée, ou encore les conditions de culture **(Khoddami et al., 2013)**.

En effet, la technique d'extraction des études précédentes est très différente de celle adoptée dans la présente étude, où, au lieu d'une macération avec 96% d'éthanol, l'extraction a été faite dans 10% éthanol, sous ultra-sons pendant 10 min à une température de 55°C.

Résultats et discussion

III.1.3. Teneur en sucres

Le taux des sucres dans l'extrait a été évalué à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant le glucose comme standard (Figure 3 annexes). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents glucose par gramme d'extrait (mg EG/g).

Les résultats dans le tableau montrent que les taux de sucres est de $9,23 \pm 0,001$ mg EG/g extrait. Les taux des sucres dans les extraits de *C. flammula* n'ont pas été préalablement déterminés, ce qui confère un caractère original à ce résultat. En comparaison, d'autres plantes médicinales présentent des teneurs en sucres totaux variables. Ainsi, *Ficus glaberrima* affiche une teneur élevée de $674,13 \pm 2,43$ mg GE/g d'extrait sec, suivie de *Melastoma malabathricum* avec $455,16 \pm 2,43$ mg GE/g, *Lindera neesiana* avec $176,72 \pm 1,22$ mg GE/g, et *Fagopyrum esculentum* avec $92,24 \pm 6,09$ mg GE/g. Des teneurs plus faibles ont été rapportées chez *Achyranthes bidentata* ($48,27 \pm 4,87$ mg GE/g) et *Cascabela thevetia* ($6,89 \pm 2,44$ mg GE/g) (Khatri & Chhetri, 2020).

Les sucres dans les plantes peuvent exister sous deux formes principales : soit sous forme libre, tels que le glucose, le fructose ou le saccharose (Marler and Lindström, 2014), soit sous forme liée, notamment en tant que fraction glycosylée des flavonoïdes. Dans ces derniers, les sucres, tels que le glucose, la rhamnose ou le galactose, sont liés de manière covalente à la molécule flavonoïque via des liaisons glycosidiques, ce qui modifie la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité de ces composés bioactifs. Pendant la digestion les sucres détectés dans les extraits végétaux peuvent provenir à la fois de la fraction libre et de la fraction liée, libérée notamment lors de la rupture des liaisons glycosidiques (Khodzhaieva et al., 2021).

Les sucres constituent une fraction importante des composés solubles extraits par les solvants hydroalcooliques, leur abondance s'explique par la nature des polysaccharides et oligosaccharides présents dans la plante. Ces composés peuvent avoir un effet indirect sur l'activité antioxydante, soit en stabilisant les polyphénols, soit en pouvant interagir avec eux du point de vue chimique ou physico-chimique (Wang et al., 2016). Les sucres eux-mêmes n'ont pas d'activité antioxydante directe comparable à celle des polyphénols, mais ils peuvent promouvoir l'effet antioxydant général de l'extrait. Ainsi, il est bien connu que certains polysaccharides végétaux ont une activité antioxydante modérée par des mécanismes tels que la capture de radicaux libres et la chélation des ions métalliques (Zhang et al., 2020).

Résultats et discussion

La concentration élevée en sucres pourrait agir en synergie avec les polyphénols, pour augmenter leur capacité antioxydant et renforcer leur action gastro-protectrice contre les ulcérations gastriques. En effet, des études antérieures ont démontré l'effet cumulatif ou synergique des polymères multiples sur l'activité antioxydant et anti-inflammatoire (Yin et al., 2024).

III.2. Évolution de la composition chimique avant et après digestion *in vitro*

Le tableau III ci-dessous résume l'effet de l'extrait sur les différents milieux digestifs. Cette variation du pH, observée avant et après incubation avec ou sans enzyme digestive, permet d'évaluer la capacité de l'extrait à moduler l'acidité ou l'alcalinité du milieu au cours de la digestion *in vitro*.

Tableau III: Variation du pH induite par l'extrait selon les compartiments digestifs.

| Phase orale | | |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------|
| pH avant l'ajout de l'extrait | 7 | |
| pH après l'ajout de l'extrait | 6,30 | |
| pH après incubation | Test (enzyme) pH= 5,80 | Contrôle pH= 6,30 |
| Phase gastrique | | |
| | Avant incubation | Après incubation |
| Contrôle | 3 | 3,42 |
| pH | 2 | 2,2 |
| pH | 3 | 2,80 |
| Phase intestinale | | |
| | Avant incubation | Après incubation |
| Contrôle | 8,54 | 7,81 |
| pH2 | 6,90 | 6,30 |
| pH3 | 6,97 | 6,40 |

Effet de l'extrait sur le pH des milieux digestifs simulés :

- **Phase orale** : immédiatement après l'ajout de l'extrait à la salive tamponnée (pH initial 7,00), une acidification est observée, le pH chutant à 6,30. Ce pH demeure stable avant et après l'incubation sans α -amylase. Cette diminution est peut-être attribuable à la présence d'acides phénoliques dans l'extrait, qui libèrent des protons, traduisant une influence acide propre, indépendante de toute activité enzymatique (Pernin et al., 2019).
- **Phase gastrique** : dans le milieu gastrique simulé, initialement ajusté à pH 3,00, l'ajout de l'extrait induit une légère augmentation du pH à 3,42 en absence de pepsine. Cette

Résultats et discussion

élévation modeste suggère un effet tampon partiel exercé par certains constituants de l'extrait, notamment les polyphénols et acides organiques(Beiranvand et al., 2021).

- **Phase intestinale** : dans le tampon phosphate à pH 7,00, l'ajout de l'extrait entraîne une augmentation initiale du pH jusqu'à 8,54, suivie d'une baisse à 7,81 après incubation sans pancréatine. Cette chute de pH résulte d'un relargage progressif de protons issus des composés acides de l'extrait(Wojtunik-Kulesza et al., 2020).

III.2.1. Teneur en polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols totaux a été évaluée avant et après la digestion de chaque phase.

-Phase orale :

L'analyse statistique des teneurs en polyphénols (**figure 05**) a mis en évidence plusieurs observations selon les phases digestives. En phase orale, aucune différence significative n'a été constatée ni entre les deux témoins (avant incubation et après incubation sans enzymes), ni entre le témoin et l'échantillon testé avec la α -amylase. Cela suggère que dans ce milieu, les conditions physiques et enzymatiques appliquées n'ont pas significativement modifié le taux des polyphénols totaux dans l'extrait.

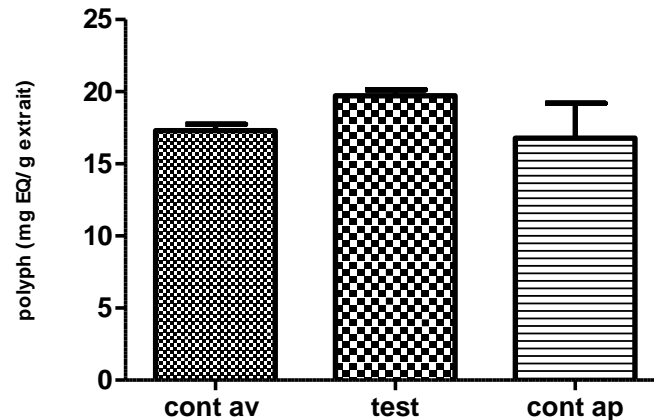


Figure05 : Taux des polyphénols totaux dans la phase orale (pas de différence significatif).

En fait, la teneur en polyphénols observée dans l'échantillon après la digestion orale peut être principalement attribuée à l'effet protecteur du pH neutre de la salive (~7). Ce pH stabilise les groupements hydroxyles des polyphénols en les maintenant majoritairement sous forme non protonée, limitant ainsi leur dégradation chimique ou oxydative (Friedman and Jürgens, 2000). Le taux de polyphénols est aussi équivalent à celui de l'extrait utilisé avant de le mélanger avec le liquide salivaire.

Résultats et discussion

-Phase gastrique :

Les résultats obtenus lors de la phase gastrique de la digestion (Figure06) montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre le témoin et les échantillons testés à pH 2 et pH 3.

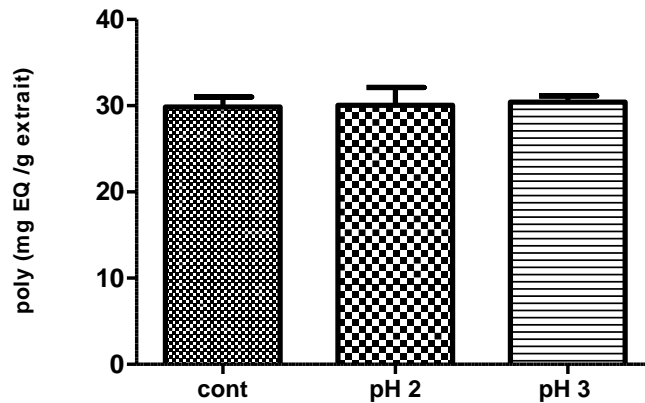


Figure06 : Taux des polyphénols totaux dans la phase gastrique (pas de différence significatif).

Le milieu gastrique acide favorise la dissociation des complexes polyphénols-macromolécules (comme les protéines et les polysaccharides végétaux) en rompant les liaisons hydrogène et les interactions de Van der Waals qui les stabilisent à pH neutre. Cela permet une libération passive des polyphénols (**Boléo et al., 2019 ; Qin et al., 2022**). La présence de pepsine dans les échantillons testés à pH 2 et pH 3 n'a pas induit d'augmentation significative de la teneur en polyphénols par rapport au témoin gastrique sans enzymes. Ceci à cause du fait que la pepsine est spécifique à la digestion des protéines. Toutefois, certains polyphénols peuvent interagir directement avec la pepsine, provoquant des modifications conformationnelles de l'enzyme et inhibant partiellement son activité catalytique (**Martinez-Gonzalez et al., 2017**). Cette inhibition enzymatique par les polyphénols pourrait cacher certains groupements hydroxyliques et les empêche de réagir avec le réactif de Folin, ce qui aurait réduit le taux des polyphénols dans cette phase, comparé à l'extrait. Ceci n'a pas été le cas, ce qui nous permet d'exclure la possibilité d'inhibition de la pepsine à pH 2 ou 3.

En milieu acide gastrique, les groupements hydroxyles des polyphénols sont majoritairement sous une forme protonée (-OH), ce qui affecte leur capacité à réduire le réactif de Folin-Ciocalteu, qui réagit préférentiellement avec les formes déprotonées (phénolates). Cette faible réactivité en condition acide peut entraîner une sous-estimation de la concentration réelle en

Résultats et discussion

polyphénols(Everette et al., 2010). L'absence de différence significative entre les échantillons incubés à pH 2 et à pH 3 pourrait s'expliquer par une protonation similaire des polyphénols dans cette plage de pH fortement acide. Puisque la différence de protonation entre pH 2 et pH 3 est minime, la réponse colorimétrique du Folin-Ciocalteu reste stable entre ces deux conditions, ce qui explique l'absence de variation significative dans les valeurs mesurées (Singleton et al., 1999).

-Phase intestinale :

Les résultats des taux des polyphénols dans la phase intestinale simulée (pH réajusté à ≈ 7 après incubation à pH 2 ou 3) (Figure07)montrent qu'il n'existe aucune différence significative entre les échantillons incubés à pH 2 et pH 3, ni entre l'échantillon incubé à pH 2 et le témoin intestinal. En revanche, une différence significative ($p < 0,05$) a été observée entre le témoin intestinal et l'échantillon ayant subi une incubation gastrique préalable à pH 3 (passant de 20,09 mg EQ/g sans enzymes (témoin) à 33,58 mg/g). D'autre part aucune différence significative n'est détectée entre les deux échantillons testés à pH2 et 3.

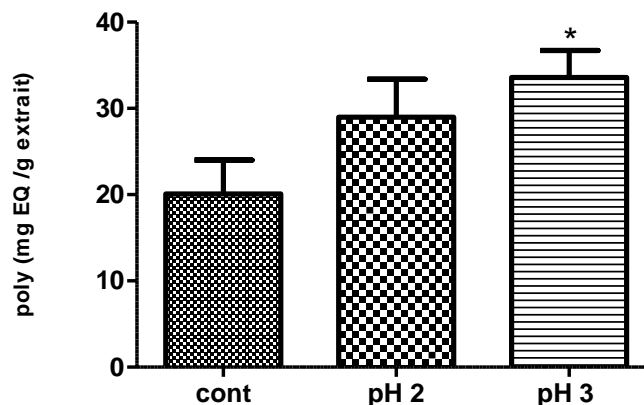


Figure07 : Taux des polyphénols totaux dans la phase intestinale * (différence significatif ($p < 0,05$) avec le témoin et l'échantillon testé).

Après la phase gastrique, le pH a été ajusté à environ 7, ce qui neutralise les différences initiales liées aux conditions acides. À ce pH, les polyphénols présents retrouvent une forme ionisée stable, réactivant leurs groupes hydroxyles et uniformisant leur comportement dans le milieu intestinal (Gómez-García et al., 2022).

La phase intestinale est également dominée par l'action de la trypsine et des sels biliaries, ces derniers jouent un rôle essentiel dans la solubilisation et la complication des polyphénols, en formant des micelles mixtes permettant de solubiliser des polyphénols peu polaires ou de

Résultats et discussion

masse molaire élevée, qui seraient autrement faiblement diffusibles ou précipités (Bohn et al., 2015). De plus, les polyphénols extraits, de faible masse molaire et peu lipophiles, sont peu concernés par les mécanismes de micellisation intestinale. L'absence de structures protéiques végétales résiduelles réduit également les interactions susceptibles de piéger des polyphénols durant la digestion (Fawole and Opara, 2016).

Les polyphénols à pH3 qui sont passés par la phase gastrique sont moins protonés que ceux qui étaient à pH2, donc moins polaires et moins solubles. Ceci peut expliquer l'augmentation dans le taux des polyphénols (qui sont passés par le pH 3) du fait qu'ils ont été solubilisés par les sels biliaires. Cette explication est aussi justifiée par le fait qu'il n'y a aucune différence significative entre les taux des polyphénols à pH 2 et 3 (Castaldo et al., 2021).

III.2.2. Teneur en flavonoïdes totaux :

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes certains comme les flavonols sont glycosylés. La teneur en flavonoïdes a été évaluée avant et après la digestion de chaque phase.

-Phase orale :

En phase orale, aucune différence significative n'a été constatée entre les deux témoins (avant incubation et après incubation sans enzymes) (Figure 08). Cependant, une différence significative a été trouvée ($p < 0,01$) entre les deux témoins et l'échantillon testé en présence de la α -amylase. Etant donné que cette enzyme ne peut pas hydrolyser les liaisons glycosidiques entre le squelette aglycone et le sucre d'un flavonoïde (Ćorković et al., 2022), nos résultats suggèrent néanmoins qu'elle a contribué à libérer certains groupements des flavonoïdes pour les interactions avec l' $AlCl_3$. Les résultats montrent aussi aucune différence significative entre les taux des flavonoïdes dans l'extrait et les deux témoins. Donc, la force ionique seule du liquide salivaire simulé qui est fournie par les minéraux n'a pas modifié la structure ionique des flavonoïdes. Les flavonoïdes sont connus pour former des complexes non spécifiques avec les polysaccharides, ce qui peut limiter leur disponibilité et ralentir leur libération pendant la digestion. Selon (Takahama and Hirota, 2018), ces interactions peuvent également ralentir l'action enzymatique de l' α -amylase sur l'amidon, en formant des structures qui réduisent la vitesse d'hydrolyse. Dans ce contexte, une explication plausible est que l' α -amylase aurait libéré les polysaccharides impliqués dans ces complexes, entraînant ainsi la libération des flavonoïdes initialement associés aux chaînes glucidiques. Cette libération expliquerait l'augmentation des flavonoïdes mesurée après la phase orale. Donc, une explication plausible est que l'alpha amylase aurait libéré les polysaccharides des complexes avec les flavonoïdes, libérant ainsi ces derniers.

Résultats et discussion

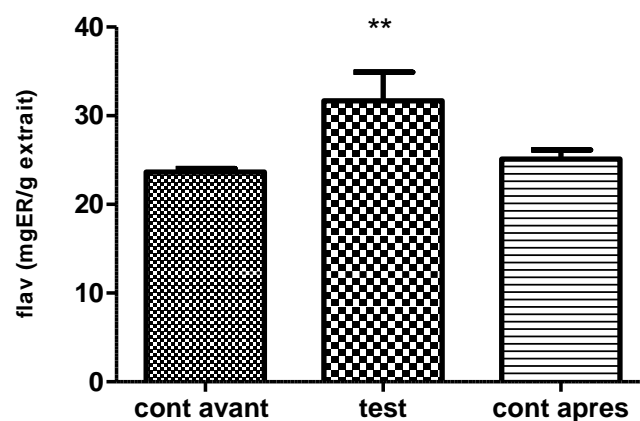


Figure08 : Taux des flavonoïdes totaux dans la phase orale. ** (différence significative ($p < 0,01$) avec les deux contrôles).

D'autre part, dans les échantillons testés avec enzyme, l'augmentation marquée de la teneur en flavonoïdes (**31,67±3,24 mg ER/g**) est principalement due à l'action de l' α -amylase. Cette enzyme hydrolyse les liaisons α -1,4-glucosidiques des polysaccharides végétaux, déstructurant ainsi la matrice et libérant des flavonoïdes jusque-là liés ou piégés au sein de structures macromoléculaires (Yang et al., 2018).

Enfin, le pH neutre (~ 7) caractéristique du milieu oral simulé constitue un facteur clé dans la préservation structurale des flavonoïdes, notamment les flavonols et flavones. D'après (Pasquet et al. 2024), les composés phénoliques conservent leur stabilité chimique dans des conditions acides à neutres, tandis qu'ils subissent une auto-oxydation rapide en milieu alcalin et en présence d'oxygène.

-Phase gastrique :

Les résultats des taux de flavonoïdes obtenus lors de la phase gastrique de la digestion *in vitro* montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre le témoin et les échantillons testés, que ce soit à pH 2 ou à pH 3 (Figure 09). Ceci indique que l'ajout d'enzymes n'a pas eu d'effet mesurable supplémentaire sur la libération des flavonoïdes dans ces conditions.

Résultats et discussion

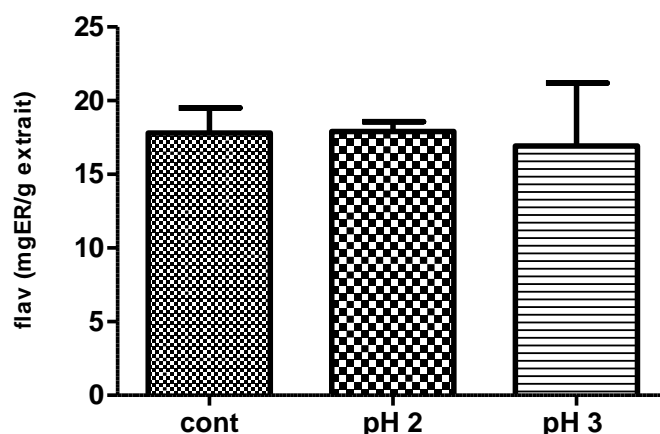


Figure09: Taux des flavonoïdes totaux dans la phase gastrique (pas de différence significatif).

Cette évolution indique une absence d'augmentation des flavonoïdes dans des conditions gastriques simulées. Les flavonoïdes glycosylés, en particulier, présentent une vulnérabilité accrue à l'hydrolyse acide ou à la transformation chimique (Ghedira, 2005; Luo et al., 2012), contrairement aux acides phénoliques simples tels que l'acide caféique ou férulique, plus résistants. Sous des conditions acides de l'estomac (Gonzales et al. 2015), l'acidité aurait pu contribuer à hydrolyser les liaisons covalentes entre les structures de base des polyphénols et les sucres associés à eux. Cependant, l'absence de différence entre le contrôle oral et le contrôle gastrique indique que l'acidité gastrique seule n'a pas entraîné d'hydrolyse significative des flavonoïdes. Cela pourrait s'expliquer par des phénomènes physico-chimiques indépendants de la digestion enzymatique. Une explication plausible est la formation de complexes ioniques peu solubles entre les flavonoïdes et les ions présents dans le milieu gastrique simulé (Zhou et al. 2021). En effet, les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à interagir avec des cations tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} ou Na^+ , particulièrement en présence de fortes concentrations ioniques, ce qui peut entraîner la précipitation ou la réduction de leur solubilité (Friedman & Jürgens, 2000 ; Minekus et al., 2014). Cette complication peut masquer une partie des flavonoïdes, les rendant moins accessibles ou faiblement réactifs avec l' AlCl_3 , sans impliquer une dégradation chimique réelle.

-Phase intestinale :

Les résultats obtenus lors de la phase intestinale de la digestion *in vitro* (Figure 10) montrent qu'il y a une différence significative entre le témoin et les échantillons testés, à pH 2 ou à pH 3, et pas de différence entre les échantillons tests à pH 2 et pH 3. Ce qui indique que le pH intestinal simulé, étant constant et proche de la neutralité dans toutes les conditions, n'a pas

Résultats et discussion

d'effet différentiel sur les flavonoïdes dans ce protocole. Les différences observées sont donc essentiellement liées à l'action des enzymes intestinales et des sels biliaires reconnus pour leur rôle dans la solubilisation et la libération des composés phénoliques (**Buchweitz et al., 2016**). Dans ce milieu neutre, la trypsine, et l'amylase sont pleinement actives, facilitant la rupture des interactions faibles ou des complexes associant les flavonoïdes aux composés résiduels de l'extrait, favorisant ainsi la libération des flavonoïdes précédemment peu accessibles (**Collins et al., 2024**).

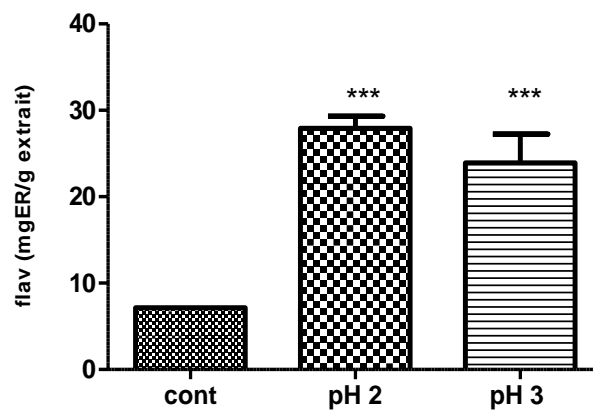


Figure 10: Taux des flavonoïdes totaux dans la phase intestinale. *** (différence significative ($p < 0,001$) avec les deux échantillons testés).

De plus, la présence de sels biliaires permet la formation de micelles mixtes capables de solubiliser des flavonoïdes peu polaires, augmentant leur passage en phase aqueuse et leur disponibilité analytique (**Atanacković et al., 2009**). Ces deux mécanismes conjoints enzymatique et micellaire expliquent l'augmentation mesurée des flavonoïdes en phase intestinale, alors que ni le pH gastrique ni les enzymes gastriques n'ont eu d'effet significatif sur leur concentration.

On a observé qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux échantillons avec enzymes, qu'ils aient été incubés à pH 2 ou à pH 3 en phase gastrique, qui s'explique par l'uniformisation des conditions digestives après la neutralisation du pH gastrique. Cette neutralisation place tous les échantillons dans un environnement chimique identique avant l'entrée en phase intestinale. De plus, les enzymes intestinales et les sels biliaires agissent de manière similaire sur les deux échantillons, indépendamment de leur exposition antérieure au pH gastrique.

Résultats et discussion

III.2.3. Teneur en sucres totaux:

Les sucres peuvent faire partie intégrale d'un flavonoïde ou peuvent exister sous forme libre dans un extrait de plante. Les taux des sucres ont été évalués dans les trois phases digestives.

-Phase orale :

En phase orale, l'analyse statistique des teneurs en sucres a montré qu'il n'existe aucune différence significative entre les deux témoins (avant incubation et après incubation sans enzymes) (Figure 11), ce qui indique que le temps d'incubation ou les conditions expérimentales, en l'absence d'enzymes salivaires, n'affectent pas la libération spontanée des sucres présents dans l'extrait éthanolique. En revanche, une différence significative ($p < 0,05$) a été observée entre les témoins et l'échantillon testé, ce qui démontre que l'action de l' α -amylase salivaire a permis la libération de sucres supplémentaires.

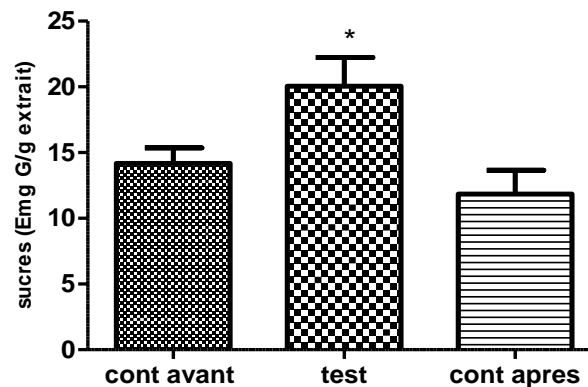


Figure11 : Taux des sucres dans la phase orale. * (une différence significative ($p < 0,05$) entre les témoins et l'échantillon testé).

Bien que l'extraction éthanolique à 10 % ait déjà solubilisé une partie importante des sucres libres, il est probable que des polysaccharides résiduels, des oligosaccharides ou des sucres faiblement accessibles soient restés partiellement associés à des structures végétales ou à des complexes moléculaires. Ces sucres peuvent être faiblement solubilisés ou piégés par des interactions physiques avec d'autres composés (Dai&Mumper, 2010). L' α -amylase salivaire, une enzyme clé de la phase orale, hydrolyse spécifiquement les liaisons α -1,4 glucosidiques présentes dans ces glucides complexes, tels que l'amidon ou ses fragments, pour les dégrader en sucres simples tels que le maltose et le glucose (Warren et al., 2016).

Cette activité enzymatique favorise la libération rapide de sucres simples qui deviennent immédiatement mesurables par la méthode colorimétrique phénol-acide sulfurique. Cette

Résultats et discussion

réaction repose sur la déshydratation acide des sucres et leur condensation avec le phénol pour former un complexe coloré proportionnel à la concentration en sucres (Masuko et al., 2005).

La différence significative observée entre les témoins et l'échantillon testé reflète ainsi directement l'impact de l'hydrolyse enzymatique, tandis que l'absence de variation entre les deux témoins (avant et après incubation sans enzymes) confirme que l'évolution des sucres dans ce système dépend exclusivement de l'action de l' α -amylase et non de facteurs liés à l'incubation ou à la manipulation. Ces résultats sont en accord avec ceux des taux de flavonoïdes et confirment l'hypothèse qu'il y a eu une libération des groupements des flavonoïdes qui réagissent avec l' $AlCl_3$ par une action indirecte de l'alpha amylase. Ces résultats correspondent aussi cohérents avec ceux rapportés par (Minekus et al. 2014), qui soulignent le rôle essentiel de l' α -amylase salivaire dans la phase orale, même pour des matrices partiellement solubilisées.

-Phase gastrique :

L'analyse statistique des taux de sucres en phase gastrique a mis en évidence une différence significative entre le témoin sans enzymes et les deux échantillons testés, respectivement à pH 2 ($***p < 0,001$) et à pH 3 ($*p < 0,01$) (Figure 12). Ces résultats indiquent que la libération des sucres observée dans les échantillons testés est peut être liée à l'action des enzymes digestives, qui est plus évidente à pH 2 qu'à pH 3, car le témoin ne présente pas cette augmentation. Toutefois, lorsque l'on compare les teneurs en sucres des deux témoins de la phase gastrique et la phase orale, aucune différence significative n'a été observée, suggérant ainsi que l'acidité seule n'a pas contribué à hydrolyser les liaisons glycosidiques des flavonoïdes glycosylés.

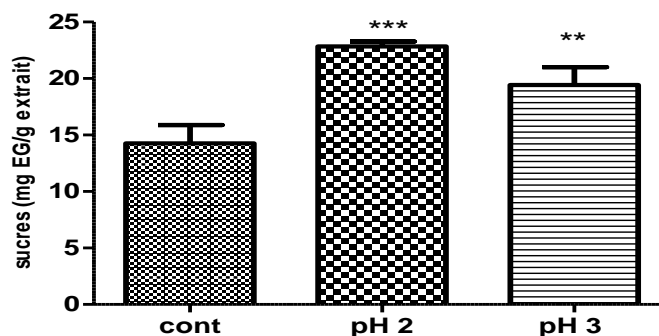


Figure12 : Taux des sucres dans la phase gastrique. (Une différence significative entre le témoin sans enzymes et les deux échantillons testés, respectivement à pH 2 ($***p < 0,001$) et à pH 3 ($*p < 0,01$)).

Résultats et discussion

Outre la pepsine, la lipase a été ajoutée à cette phase, ce qui suggère que ces enzymes sont impliquées indirectement dans la libération des sucres liés aux flavonoïdes. Les liaisons glycosidiques dans les flavonoïdes ou lipides sont fragilisés par une acidité accrue pH 2 où la pepsine est plus active est la force ionique de l'acide est plus forte, ce qui explique une plus forte augmentation de sucres dans cette phase.

Une étude réalisée sur des dispersions mixtes de polysaccharides a montré que le pH gastrique et l'incubation n'augmentent pas significativement les sucres réducteurs après la phase orale (**Ding et al., 2018**). De même, lors de la digestion *in vitro* du riz, la phase gastrique n'entraîne qu'une hydrolyse marginale des sucres, ne dépassant pas 1 à 3 % (**Wang et al., 2016**), ce qui confirme que les sucres libérés en phase orale sont largement stables dans l'environnement gastrique. Ces observations corroborent également les conclusions d'autres études sur la digestion de matrices végétales et la stabilité des sucres dans des systèmes physiologiques simulés (**Liang et al., 2025**).

-Phase Intestinale :

Les résultats obtenus lors de la phase intestinale de la digestion *in vitro* (Figure 13) des sucres montrent une différence significative entre le témoin et les échantillons testés, mais pas entre ceux détectés en pH 2 et pH 3.

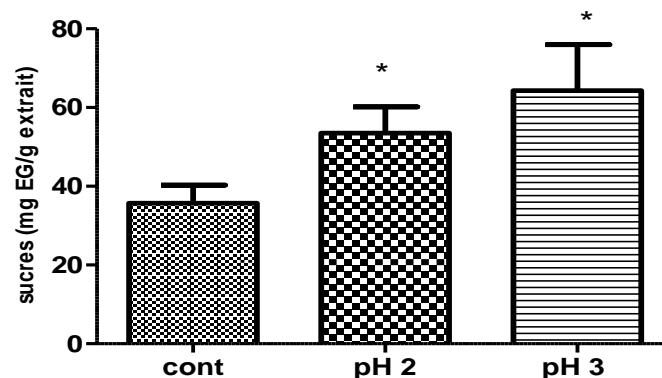


Figure13 : Taux des sucres dans la phase intestinale. *(une différence significative ($p < 0,05$) entre le témoin et les échantillons testés).

En effet, l'amylase joue un rôle clé dans l'hydrolyse des polysaccharides restants en sucres simples au niveau intestinal, tandis que les sels biliaires facilitent la solubilisation des composés peu hydrophiles et améliorent leur diffusion dans le milieu aqueux digestif, en formant des micelles mixtes qui favorisent la dispersion et la biodisponibilité des composés

Résultats et discussion

solubles. Il est également possible que certains sucres initialement associés à des structures flavonoïques sous forme de glycosides et que leur libération simultanée en phase intestinale reflète l'hydrolyse de ces liaisons spécifiques (Tagliacruzchi et al., 2010 ; Cueva et al., 2017).

Cependant, le taux de sucres a augmenté aussi dans le témoin par rapport aux témoins oral et gastrique. Ceci est justifié par la solubilisation de ces sucres par la force ionique du milieu intestinal qui est particulièrement riche en ions sodium (Na^+), potassium (K^+), chlorure (Cl^-), bicarbonate (HCO_3^-) et en sels biliaires (Brodkorb et al., 2019) qui permet la libération des sucres en phase intestinale par la dissociation de formes faiblement associées ou glycosylées. La digestion enzymatique intestinale contribue donc essentiellement à améliorer la disponibilité des sucres et des flavonoïdes préalablement extraits, renforçant ainsi leur potentiel de biodisponibilité (Bohn et al., 2018).

Par ailleurs, l'absence de différence entre les échantillons testés à pH 2 et ceux à pH 3 suggère que les conditions gastriques initiales n'ont pas altéré de manière significative la structure des sucres ou des glycosides, et que le passage à un pH neutre en phase intestinale homogénéise les mécanismes de libération et d'absorption (Odriozola-Serrano et al., 2023 ; Rha et al., 2019).

III.3. Évaluation de l'activité antioxydant (test DPPH°) :

les polyphénols exercent leurs effets par divers mécanismes : ils peuvent transférer des électrons ou des atomes d'hydrogène pour stabiliser les espèces réactives de l'oxygène, former des complexes avec des ions métalliques pro-oxydants comme le fer ou le cuivre, inhiber l'activité de certaines enzymes pro-oxydantes, ou encore renforcer les défenses antioxydantes enzymatiques endogènes (Fadeti & Adeniran, 2023). L'efficacité de ces mécanismes dépend en grande partie de la structure chimique des polyphénols, notamment du nombre et de la position des groupes hydroxyles sur le noyau aromatique. Il est important de savoir si l'activité digestive dans les différentes phases augmente l'activité antioxydante des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait de *C. flammula* surtout dans des conditions pathologiques tel que l'ulcère gastrique.

-Phase orale :

L'analyse statistique du test de DPPH° a mis en évidence plusieurs observations selon les phases digestives. En phase orale, d'après la figure 14. Ci-dessous, l'activité antioxydante anti-radicalaire contre le DPPH° est faible de l'ordre de 17% à la concentration de 5g/ml, sans aucune différence significative entre les deux témoins (avant incubation et après incubation

Résultats et discussion

sans enzymes), ni entre les témoins et l'échantillon testé avec la α -amylase. Cette activité est considérée très faible si on la compare à celle de l'extrait (IC50 de 100 μ g/mL).

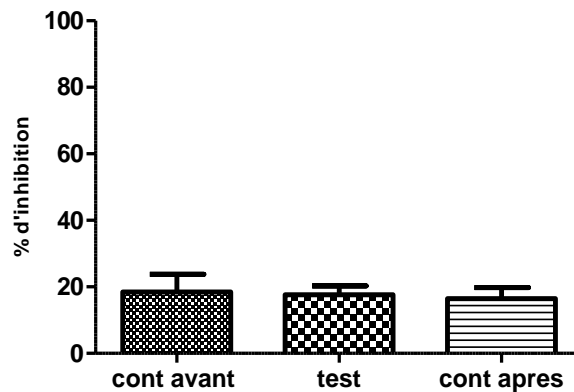


Figure14 : Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase orale (Pas de différence significatif).

Ceci est peut-être dû à la présence de minéraux différents dans le liquide salivaire, qui interfèrent dans la réaction avec le DPPH° (Prior et al., 2005). En effet, les polyphénols sont connus pour leur activité chélatrice qui doit masquer les groupements hydroxyles qui contribuent à la réduction du radical DPPH°.

L'absence de différence significative entre le test et les témoins suggère que la phase orale, dans les conditions simulées, n'a pas induit de modification notable de l'activité antioxydante, lié probablement au fait que le taux de polyphénols n'a pas augmenté dans cette phase. Les témoins avant et après incubation sans enzymes montrent que l'exposition au milieu salivaire seul n'a pas d'effet direct sur la disponibilité des antioxydants. De plus, l'absence de différence avec l'échantillon traité par la α -amylase indique que l'enzyme salivaire n'a pas favorisé la libération supplémentaire de composés antioxydants piégés dans des structures glucidiques (Cavia et al., 2023). Cependant, le taux de flavonoïdes a augmenté dans cette phase ce qui n'est pas reflété par leur activité antioxydante, probablement due à leur faible taux ou leur structure.

Les trois conditions testées semblent partager une même origine : les antioxydants disponibles dans l'extrait sont largement solubilisés dès l'extraction et ne nécessitent pas de digestion orale pour être accessibles (Wanyo et al., 2024). Cela suggère que les principales modifications de la disponibilité des antioxydants pourraient intervenir dans les phases

Résultats et discussion

gastrique ou intestinale, où des enzymes spécifiques ou des conditions plus contraignantes pourraient jouer un rôle.

-Phase gastrique :

Les résultats obtenus lors de la phase gastrique de la digestion *in vitro* (Figure 15) montrent qu'il y a une différence significative ($p < 0,01$) entre le témoin et l'échantillon testé à pH 2 mais aucune différence significative entre le témoin et l'échantillon testé à pH 3. L'augmentation de l'activité antioxydante ne suit pas les taux de polyphénols et flavonoïdes qui n'ont pas été modifiés pendant cette phase, indiquant que l'activité antioxydante n'est pas liée aux taux de polyphénols et flavonoïdes. L'analyse statistique a aussi montré que la capacité anti-radicalaire du témoin dans cette phase a dépassé celles des témoins gastrique et oral. Ceci peut s'expliquer par la protonation des phénols à pH acide qui a contribué à les stabiliser. Etant donné que cette protonation est accentuée à pH 2, elle favorise la réduction du DPPH°.

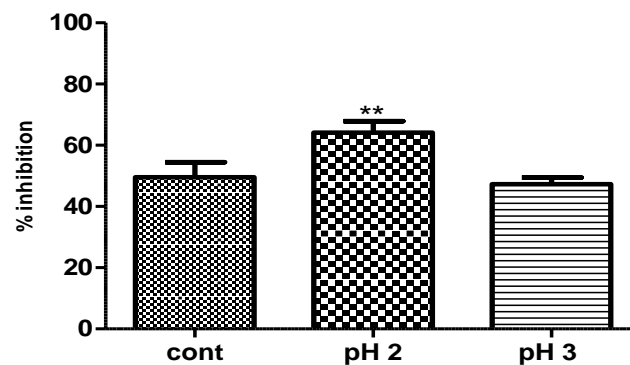


Figure 15 : Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase gastrique. (** différence significatif ($p < 0,01$) avec le témoin et l'échantillon testé à Ph3).

En outre, une étude récente a démontré la stabilité chimique des polyphénols en milieu acide (pH 2–3), sans dégradation significative durant la digestion simulée (Abel Sánchez-Velázquez et al., 2021).

De plus, les produits d'hydrolyse des flavonoïdes, notamment les aglycones et les petites molécules phénoliques, présentent une capacité antioxydante plus forte vis-à-vis du radical DPPH° que les flavonoïdes glycosylés initiaux (Xiao et al., 2021). L'acidité plus forte à pH 2 semble avoir favorisé une libération plus efficace ou une activation plus marquée de ces petites molécules très réductrices, ce qui explique la différence significative d'activité antioxydante entre les deux pH, même si la quantité totale de polyphénols reste inchangée.

Résultats et discussion

Par conséquent, on peut supposer que, dans des conditions ulcéreuses à pH 2, l'extrait de *C. flammula* agit comme gastroprotecteur en éliminant les radicaux libres qui peuvent causer des lésions supplémentaires au tissu gastrique.

-Phase intestinale:

Les résultats obtenus lors de la phase intestinale de la digestion *in vitro* (Figure 16) montrent une différence significative entre le témoin et les échantillons testés, que ce soit à pH 2 ou à pH 3 et entre les échantillons testés à pH2 et pH 3.

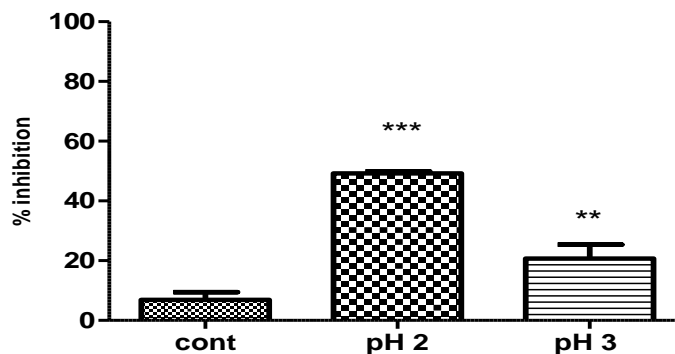


Figure16 : Pourcentages d'inhibitions de l'extrait par la technique DPPH° dans la phase intestinale.(Une différence significative entre le témoin sans enzymes et les deux échantillons testés, respectivement à pH 2 (***) et à pH 3 (*)).

En revanche, l'analyse statistique a montré une diminution drastique de l'activité antioxydante du témoin intestinal, par rapport aux témoins oral et gastrique (6,9%), ce qui suggère qu'une modification de la structure des composés antioxydants a eu lieu sous les conditions physico-chimiques de l'intestin exemple le pH et les minéraux présents. Par revanche, une activité antioxydante significativement élevée a été observée dans les échantillons ayant subi une incubation gastrique préalable à pH 2 ou pH 3, reflétant une augmentation des taux des polyphénols et flavonoïdes dans cette phase.

Cette observation indique que l'acidité, plus forte à pH 2, a favorisé une solubilisation par les sels biliaires des aglycones, produits par l'hydrolyse des flavonoïdes glycosylés et qui sont très réactifs vis-à-vis du radical DPPH°. L'activité mesurée est plus faible à pH 3, traduisant une hydrolyse moins efficace des flavonoïdes glycosylés sous des conditions normales de l'estomac. Cette différence significative entre les deux pH souligne l'importance de l'intensité de l'acidité gastrique dans la libération des composés antioxydants les plus puissants.

III.4. Discussion :

L'activité gastro-protectrice de l'extrait éthanolique de *C. flammula* a été prouvée *in vivo* (Yous et al., 2018). Notre étude avait pour objectif d'élucider les mécanismes par lesquels la digestion *in vitro* de l'extrait hydro-éthanolique de *C. flammula* peut modifier les structures des polyphénols et les sucres de cette plante pour les rendre plus disponibles et plus puissants en tant qu'antioxydants. En effet, la richesse de cet extrait en polyphénols et flavonoïdes, connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes, est un atout majeur dans la pathogénie des ulcères gastriques. L'extrait éthanolique de *C. flammula* est une source riche en flavonoïdes glycosylés car il est hydrophile (10% éthanol). Certains d'entre eux, tels que la quercétine-3-O-galactoside-7-O-rhamnoside et la quercétin-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside) ont été identifiés dans les études précédentes (Medjahed et al., 2023). Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence le potentiel gastro-protecteur de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* contre l'ulcère gastrique après son passage par les trois phases de la digestion, phases orale, gastrique et intestinale.

Au cours de la digestion *in vitro*, les polyphénols et flavonoïdes subissent des modifications structurales qui dépendent des variations du pH, la force ionique des minéraux et les enzymes digestives présentes dans chaque phase. Les mécanismes impliqués ne sont pas encore très clairs mais les explications les plus plausibles s'appuient sur le fait que les modifications peuvent amener à l'hydrolyse des liaisons covalentes et non-covalentes qui lient les sucres aux flavonoïdes, augmentant ainsi leur activité antioxydante. Ceci a été observé surtout en phase gastrique à pH 2 où la protonation des polyphénols de *C. flammula* a augmenté sa réactivité avec le Folin Ciocalteu et l' $AlCl_3$, en présence et en absence des enzymes digestives, ce qui a promu leur activité antioxydante, confirmant leur activité gastro-protectrice. Les enzymes digestives, qui ne digèrent pas les polyphénols, peuvent néanmoins être inhibées par ces derniers, ralentissant ainsi la digestion, ce qui peut avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine. L'inhibition de la pepsine, par exemple, peut empêcher à pH 2, où son activité augmente, la digestion de la paroi gastrique par cette enzyme. Les résultats de la phase intestinale étaient intéressants où on a remarqué une augmentation considérable des polyphénols, flavonoïdes et sucres, à cause de l'effet des sels biliaires qui solubilisent tous les composés libérés et augmentent ainsi leur biodisponibilité.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH° a confirmé que l'extrait de *Clematis flammula* conserve, et renforce même, son pouvoir antioxydant tout au long du processus digestif, avec une intensité particulièrement marquée en milieu gastrique acide. Cette augmentation significative de l'activité antioxydante a été observée après exposition à un pH

Résultats et discussion

de 2, une condition qui reproduit fidèlement l'environnement physiologique rencontré dans les estomacs ulcérés, où l'acidité est exacerbée. Les antioxydants puissants libérés vont contribuer, précisément dans la zone critique où la muqueuse gastrique est exposée aux agressions acides et aux radicaux libres, à protéger l'estomac contre l'ulcère gastrique.

Conclusion

Conclusion et perspective

Les résultats obtenus confirment le potentiel bioactif important de l'extrait hydro-éthanolique de *Clematis flammula*, grâce à sa richesse en polyphénols, flavonoïdes et sucres. Ces composés ont montré une activité antioxydante significative, ce qui appuie leur capacité à réduire le stress oxydatif, l'un des principaux facteurs impliqués dans les lésions gastriques. L'effet synergique probable entre ces différents groupes moléculaires pourrait renforcer l'action cytoprotectrice globale de l'extrait, en particulier en agissant sur les mécanismes de régulation redox et de réparation de la muqueuse.

Les flavonoïdes et polyphénols identifiés dans l'extrait sont également reconnus pour leur implication dans la modulation de voies de signalisation cellulaires associées à l'inflammation, à l'apoptose et à la cicatrisation. Ce profil d'activité, combiné à leur bonne résistance en milieu digestif simulé, suggère que l'extrait pourrait exercer un effet bénéfique en conditions physiopathologiques, comme celles observées dans le cas de l'ulcère gastrique.

Cependant, bien que l'étude ait permis de simuler un environnement digestif pathologique (notamment par l'acidification du milieu gastrique), elle ne permet pas d'évaluer avec précision l'influence directe de l'extrait sur les enzymes digestives, en particulier la pepsine. Or, cette enzyme joue un rôle clé dans l'aggravation des lésions ulcéreuses, en dégradant les protéines de la muqueuse gastrique déjà affaiblie. L'évaluation de l'activité inhibitrice de l'extrait vis-à-vis de la pepsine représenterait donc une piste de recherche particulièrement pertinente. Cela permettrait de déterminer si l'extrait agit uniquement par ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ou s'il peut aussi freiner un acteur enzymatique majeur du processus ulcératif.

Une telle approche expérimentale pourrait inclure des tests enzymatiques spécifiques *in vitro*, évaluant la capacité de l'extrait à réduire l'activité catalytique de la pepsine sur un substrat protéique, dans des conditions acides similaires à celles de l'estomac. Elle offrirait une meilleure compréhension des mécanismes gastroprotecteurs et renforcerait la base scientifique pour une éventuelle valorisation thérapeutique de *C. flammula* comme alternative ou complément aux traitements anti-ulcéreux conventionnels.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abel Sánchez-Velázquez, O., Mulero, M., Oliva Cuevas-Rodríguez, E., Mondor, M., Arcand, Y., Javier Hernández-Álvarez, A., 2021. In vitro gastrointestinal digestion impact on stability, bioaccessibility and antioxidant activity of polyphenols from wild and commercial blackberries (*Rubus* spp.). *Food & Function* 12, 7358–7378.
2. Ahmad, A.A., Kasim, K.F., Ma'Radzi, A.H., Gopinath, S.C.B., 2019. Peptic ulcer: Current prospects of diagnostic and nanobiotechnological trends on pathogenicity. *Process Biochemistry* 85, 51–59.
3. Ali, A., AlHussaini, K.I., 2024. *Helicobacter pylori*: A Contemporary Perspective on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment Strategies. *Microorganisms* 12, 222.
4. Altaf, S., Abbas, R.Z., Akhtar, T., Siddique, F., Mahmood, M.S., Khan, M.K., Ziaf, K., Rafay, M., Khan, M.A., Abbas, A., ur Rehman, T., Aguilar Marcelino, L., Zia, M., Khater, H.F., Saeed, N.M., Abbasi, K.Y., 2023. Antioxidant rich medicinal plants as a potential candidate to treat gastric ulcer. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 22(5), 560–580.
5. Atanacković, M., Posa, M., Heinle, H., Gojković-Bukarica, L., Cvejić, J., 2009. Solubilization of resveratrol in micellar solutions of different bile acids. *Colloids Surf B Biointerfaces* 72, 148–154.
6. Atmani, D., Ruiz Larrea, M., Ruiz Sanz, J., Lizcano, L., Bakkali, F., Atmani, D., 2011. Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Planta Medica* 77, 82790.
7. Atmani, Dina, Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, Djebbar, 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112, 303–309.
8. Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., Chang, C.-M., 2022. Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules* 27, 1326.
9. Bazin, T., Lamarque, D., 2018. La sécrétion acide : régulation, applications en clinique, actualités. *Hépatogastro & Oncologie Digestive* 25, 342–352.
10. Begg, M., Tarhuni, M., Fotso, M.N., Gonzalez, N.A., Sanivarapu, R.R., Osman, U., Latha Kumar, A., Sadagopan, A., Mahmoud, A., Khan, S., n.d. Comparing the Safety and Efficacy of Proton Pump Inhibitors and Histamine-2 Receptor Antagonists in the Management of Patients With Peptic Ulcer Disease: A Systematic Review. *Cureus* 15, e44341.
11. Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., García-Conesa, M.-T., 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry* 102, 865–874.
12. Beiranvand, M., Bahramikia, S., Dezfoulian, O., 2021. Evaluation of antioxidant and anti-ulcerogenic effects of *Eremurus persicus* (Jaub&Spach) Boiss leaf hydroalcoholic extract on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Inflammopharmacology* 29, 1503–1518.

Références bibliographiques

13. Blainski, A., Lopes, G.C., de Mello, J.C.P., 2013. Application and analysis of the Folin-Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 18, 6852–6865.
14. Bohn, T., McDougall, G.J., Alegría, A., Alminger, M., Arrigoni, E., Aura, A.-M., Brito, C., Cilla, A., El, S.N., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M.C., Santos, C.N., 2015. Mind the gap—deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites—a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research* 59, 1307.
15. Boléa, G., Ginies, C., Vallier, M.-J., Dufour, C., 2019. Lipid protection by polyphenol-rich apple matrices is modulated by pH and pepsin in in vitro gastric digestion. *Food Funct.* 10, 3942–3954.
16. Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A.R., Martins, C., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C.N., Souchon, I., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Recio, I., 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc* 14, 991–1014.
17. Buchweitz, M., Kroon, P.A., Rich, G.T., Wilde, P.J., 2016. Quercetin solubilisation in bile salts: A comparison with sodium dodecyl sulphate. *Food Chem* 211, 356–364.
18. Castaldo, L., Lombardi, S., Gaspari, A., Rubino, M., Izzo, L., Narváez, A., Ritieni, A., Grosso, M., 2021. In Vitro Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Polyphenolic Compounds from Spent Coffee Grounds-Enriched Cookies. *Foods* 10, 1837.
19. Cavia, M.M., Arlanzón, N., Busto, N., Carrillo, C., Alonso-Torre, S.R., 2023. The Impact of In Vitro Digestion on the Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Spanish Ciders. *Foods* 12, 1861.
20. Cherrada, N., Chemsá, A.E., Gheraissa, N., Laib, I., Gueboudji, Z., El-Shazly, M., Zaater, A., Abid, A., Sweilam, S.H., Emran, T.B., Nani, S., Benamor, B., Ghemam Amara, D., Atoki, A.V., Messaoudi, M., 2024. Gastroprotective Efficacy of North African Medicinal Plants: A Review on Their Therapeutic Potential for Peptic Ulcers. *Food Science & Nutrition* 12, 8793–8824.
21. Chiu, H.-F., Venkatakrishnan, K., Golovinskaia, O., Wang, C.-K., 2021. Gastroprotective Effects of Polyphenols against Various Gastro-Intestinal Disorders: A Mini-Review with Special Focus on Clinical Evidence. *Molecules* 26, 2090.
22. Collins, A., Francis, N., Chinkwo, K., Santhakumar, A.B., Blanchard, C., 2024. Effect of In Vitro Gastrointestinal Digestion on the Polyphenol Bioaccessibility and Bioavailability of Processed Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Molecules* 29, 5229.
23. Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., Kopjar, M., 2022. Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life (Basel)* 12, 1692.

Références bibliographiques

24. Cueva, C., Gil-Sánchez, I., Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., González-Paramás, A.M., Santos-Buelga, C., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V., 2017. An Integrated View of the Effects of Wine Polyphenols and Their Relevant Metabolites on Gut and Host Health. *Molecules* 22, 99.
25. Dai, J., Mumper, R.J., 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 15, 7313–7352.
26. Di Natale, M.R., Athavale, O.N., Wang, X., Du, P., Cheng, L.K., Liu, Z., Furness, J.B., 2023. Functional and anatomical gastric regions and their relations to motility control. *Neurogastroenterology & Motility* 35, e14560.
27. Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1951. A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature* 168, 167.
28. Dufour, C., Page, D., Gobert, M., Remond, D., Loonis, M., Buffière, C., Santé-Lhoutellier, V., 2014. Bioaccessibility and antioxidant properties of polyphenols and carotenoids from fruit and vegetables in the gastrointestinal tract. *Innovations Agronomiques* 36, 69.
29. El-Shitany, N.A., El-Saidy, E.A., El-Naggar, M.E., Sokar, S.S., 2024. Cilostazol protects against gastric ulcers by regulating PPAR- γ , HO-1, PECAM-1, pErk-1, NF- κ B, Bcl-2, and cleaved caspase-3 protein expression. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 397, 9033–9050.
30. Ermis, A., Aritici Colak, G., Acikel-Elmas, M., Arbak, S., Kolgazi, M., 2023. Ferulic Acid Treats Gastric Ulcer via Suppressing Oxidative Stress and Inflammation. *Life* 13, 388.
31. Everette, J.D., Bryant, Q.M., Green, A.M., Abbey, Y.A., Wangila, G.W., Walker, R.B., 2010. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *J Agric Food Chem* 58, 8139–8144.
32. Ezzat, M.I., Abdelhafez, M.M., Al-Mokaddem, A.K., Ezzat, S.M., 2025. Targeting TGF- β /VEGF/NF- κ B inflammatory pathway using the polyphenols of *Echinacea purpurea* (L.) Moench to enhance wound healing in a rat model. *Inflammopharmacology* 33, 2151–2164.
33. Fadeyi, A.E., Adeniran, O.I., 2023. Evaluation of the total phenolic, total flavonoid, and radical scavenging properties of the stem bark and leaves of *Pterocarpus osun*. *African Journal of Biological, Chemical and Physical Sciences* 2, 11–19.
34. Farzaei, M.H., Abdollahi, M., Rahimi, R., 2015. Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. *World Journal of Gastroenterology* 21, 6499–6517.
35. Favé, G., Peyrot, J., Hamosh, M., Armand, M., 2007. Digestion des lipides alimentaires : intérêt de la lipase gastrique humaine ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 42, 183–190.
36. Fawole, O.A., Opara, U.L., 2016. Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to in vitro digestion. *BMC Complement Altern Med* 16, 358.

Références bibliographiques

37. Fierascu, R.C., Fierascu, I., Baroi, A.M., Ortan, A., 2021. Selected Aspects Related to Medicinal and Aromatic Plants as Alternative Sources of Bioactive Compounds. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 1521.
38. Friedman, M., Jürgens, H.S., 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 48, 2101–2110.
39. Ghedira, K., 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapy* 3, 162–169.
40. Gonzales, G.B., Smagghe, G., Grootaert, C., Zotti, M., Raes, K., Van Camp, J., 2015. Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution and metabolism: a sequential structure-activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity. *Drug Metab Rev* 47, 175–190.
41. Guerra-Valle, M., Orellana-Palma, P., Petzold, G., 2022. Plant-Based Polyphenols: Anti-Helicobacter pylori Effect and Improvement of Gut Microbiota. *Antioxidants* 11, 109.
42. Gupta, A., Shetty, S., Mutalik, S., Chandrashekar H, R., K, N., Mathew, E.M., Jha, A., Mishra, B., Rajpurohit, S., Ravi, G., Saha, M., Moorkoth, S., 2023. Treatment of H. pylori infection and gastric ulcer: Need for novel pharmaceutical formulation. *Heliyon* 9, e20406.
43. Gómez-García, R., Vilas-Boas, A.A., Oliveira, A., Amorim, M., Teixeira, J.A., Pastrana, L., Pintado, M.M., Campos, D.A., 2022. Impact of Simulated Human Gastrointestinal Digestion on the Bioactive Fraction of Upcycled Pineapple By-Products. *Foods* 11, 126.
44. Han, X., Shen, T., Lou, H., 2007. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* 8, 950–988.
45. Helander, H.F., Fändriks, L., 2014. Surface area of the digestive tract - revisited. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 49, 681–689.
46. Huang, P., Tang, W., Shen, R., Ju, X., Shao, G., Xu, X., Jiang, A., Qian, X., Chen, M., Zhou, Z., Ren, C., 2020. Analysis of candidate biomarkers and related transcription factors involved in the development and restoration of stress-induced gastric ulcer by transcriptomics. *Cell Stress & Chaperones* 25, 265–275.
47. Ji, M., Gong, X., Li, X., Wang, C., Li, M., 2020. Advanced Research on the Antioxidant Activity and Mechanism of Polyphenols from Hippophae Species—A Review. *Molecules* 25, 917.
48. Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 3954–3962.
49. Khan, M.A., Howden, C.W., 2018. The Role of Proton Pump Inhibitors in the Management of Upper Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology & Hepatology* 14, 169–175.
50. Khatri, D., Chhetri, S.B.B., 2020. Reducing Sugar, Total Phenolic Content, and Antioxidant Potential of Nepalese Plants. *Biomed Res Int* 2020, 7296859.

Références bibliographiques

51. Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H., 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* 18, 2328–2375.
52. Khodzhaieva, R.S., Gladkov, E.S., Kyrychenko, A., Roshal, A.D., 2021. Progress and Achievements in Glycosylation of Flavonoids. *Front. Chem.* 9.
53. Kim, G.H., 2023. NSAID-Induced Gastropathy and *H. pylori* Infection, in: Kim, N. (Ed.), *Helicobacter Pylori*. Springer Nature, Singapore, pp. 395–402.
54. Kumar, S., Arushi, Sharma, V., Devi, M., 2023. Gastric Ulcer Mechanism, Protection and Treatment from Natural Sources. *Journal of Pharmaceutical Research International* 35, 49–58.
55. Laine, L., Takeuchi, K., Tarnawski, A., 2008. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology* 135, 41–60.
56. Lazzaroni, M., Bianchi Porro, G., 2001. Review article: *Helicobacter pylori* and NSAID gastropathy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 15 Suppl 1, 22–27.
57. Liang, J., Li, H., Han, M., Gao, Z., 2025. Polysaccharide-polyphenol interactions: a comprehensive review from food processing to digestion and metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr* 65, 3459–3475.
58. Liu, Z., Liu, Y., Li, Y., Sun, Y., Song, X., Chen, L., Zhou, D., 2025. Bibliometric and visualisation analyses of gastric ulcer knowledge areas and emerging trends, 2004–2024. *Frontiers in Medicine* 12.
59. Luo, Z., Murray, B.S., Ross, A.-L., Povey, M.J.W., Morgan, M.R.A., Day, A.J., 2012. Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 92, 84–90.
60. Majumder, R., Datta, M., Chattopadhyay, A., Bandyopadhyay, D., 2021. Melatonin promotes gastric healing by modulating the components of matrix metalloproteinase signaling pathway: a novel scenario for gastric ulcer management. *Melatonin Research* 4, 213–231.
61. Maksimović, Z., Malencić, D., Kovacević, N., 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology* 96, 873–877.
62. Malfertheiner, P., Megraud, F., O’Morain, C.A., Gisbert, J.P., Kuipers, E.J., Axon, A.T., Bazzoli, F., Gasbarrini, A., Atherton, J., Graham, D.Y., Hunt, R., Moayyedi, P., Rokkas, T., Rugge, M., Selgrad, M., Suerbaum, S., Sugano, K., El-Omar, E.M., European *Helicobacter* and Microbiota Study Group and Consensus panel, 2017. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 66, 6–30.
63. Marler, T.E., Lindström, A.J., 2014. Free sugar profile in cycads. *Front. Plant Sci.* 5.
64. Martinez-Gonzalez, A.I., Díaz-Sánchez, Á.G., de la Rosa, L.A., Vargas-Requena, C.L., Bustos-Jaimes, I., Alvarez-Parrilla, E., 2017. Polyphenolic Compounds and Digestive Enzymes: In Vitro Non-Covalent Interactions. *Molecules* 22, 669.
65. Marze, S., 2022. Méthodes in vitro pour l’étude de la digestion des aliments. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 57, 139–147.

Références bibliographiques

66. Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I. and Lee, Y.C. (2005) Carbohydrate Analysis by a Phenol-Sulfuric Acid Method in Microplate Format. *Analytical Biochemistry*, 239, 69-72. - References - Scientific Research Publishing [WWW Document], n.d. URL (accessed 6.25.25).
67. Minekus, M., Alving, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S.L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., J. McClements, D., Ménard, O., Recio, I., N. Santos, C., P. Singh, R., E. Vegarud, G., J. Wickham, M.S., Weitschies, W., Brodtkorb, A., 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function* 5, 1113–1124.
68. Minekus, M., Alving, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., et al., 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function* 5, 1113–1124.
69. Mizushima, T., 2010. Molecular mechanism for various pharmacological activities of NSAIDs. *Pharmaceuticals* 3, 1614–1636.
70. Morgan, M.J., Liu, Z., 2011. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Research* 21, 103–115.
71. Mustefa, A., Nardos, A., Hailu, D., Deyno, S., 2023. Phytochemistry, efficacy, and safety of medicinal plants used traditionally for the management of peptic ulcer diseases in Ethiopia: a systematic review. *Clinical Phytoscience* 9, 9.
72. Nani, A., Murtaza, B., Sayed Khan, A., Khan, N.A., Hichami, A., 2021. Antioxidant and anti-inflammatory potential of polyphenols contained in Mediterranean diet in obesity: Molecular mechanisms. *Molecules* 26, 985.
73. Odriozola-Serrano, I., Nogueira, D.P., Esparza, I., Vaz, A.A., Jiménez-Moreno, N., Martín-Belloso, O., Ancín-Azpilicueta, C., 2023. Stability and Bioaccessibility of Phenolic Compounds in Rosehip Extracts during In Vitro Digestion. *Antioxidants (Basel)* 12, 1035.
74. Ozkan, G., Sakarya, F.B., Tas, D., Yurt, B., Ercisli, S., Capanoglu, E., 2023. Effect of in vitro digestion on the phenolic content of herbs collected from Eastern Anatolia. *ACS Omega* 8, 12730–12738.
75. Pasquet, P.L., Julien-David, D., Zhao, M., Villain-Gambier, M., Trébouet, D., 2024. Stability and preservation of phenolic compounds and related antioxidant capacity from agro-food matrix: Effect of pH and atmosphere. *Food Bioscience* 57, 103586.
76. Prayoga, D.K., Aulifa, D.L., Budiman, A., Levita, J., 2024. Plants with anti-ulcer activity and mechanism: A review of preclinical and clinical studies. *Drug Design, Development and Therapy* 18, 193–213.
77. Pernin, A., Guillier, L., Dubois-Brissonnet, F., 2019. Inhibitory activity of phenolic acids against *Listeria monocytogenes*: Deciphering the mechanisms of action using three different models. *Food Microbiol* 80, 18–24.

Références bibliographiques

78. Qin, W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., 2022. Effect of digestive enzymes and pH on variation of bioavailability of green tea during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Science and Human Wellness* 11, 669–675.
79. Rezvani, M., 2024. Oxidative stress-induced gastrointestinal diseases: Biology and nanomedicines—A review. *BioChem* 4, 189–216.
80. Rha, C.-S., Seong, H., Jung, Y.S., Jang, D., Kwak, J.-G., Kim, D.-O., Han, N.S., 2019. Stability and Fermentability of Green Tea Flavonols in In-Vitro-Simulated Gastrointestinal Digestion and Human Fecal Fermentation. *Int J Mol Sci* 20, 5890.
81. Rudrapal, M., Khairnar, S.J., Khan, J., Dukhyil, A.B., Ansari, M.A., Alomary, M.N., Alshabrm, F.M., Palai, S., Deb, P.K., Devi, R., 2022. Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases: Insights Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action. *Front Pharmacol* 13, 806470.
82. Sachs, G., Shin, J.M., Vagin, O., Lambrecht, N., Yakubov, I., Munson, K., 2007. The gastric H,K ATPase as a drug target: past, present, and future. *Journal of Clinical Gastroenterology* 41 Suppl 2, S226–S242.
83. Sangiovanni, E., Dell’Agli, M., 2020. Special Issue: Anti-inflammatory activity of plant polyphenols. *Biomedicines* 8, 64.
84. Serafim, C., Araruna, M.E., Júnior, E.A., Diniz, M., Hiruma-Lima, C., Batista, L., 2020. A review of the role of flavonoids in peptic ulcer (2010–2020). *Molecules* 25, 5431.
85. Sheng, Y.H., Ng, G.Z., Summers, K.M., Every, A.L., Price, G., Hasnain, S.Z., Sutton, P., McGuckin, M.A., 2020. Influence of the MUC1 cell surface mucin on gastric mucosal gene expression profiles in response to *Helicobacter pylori* infection in mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10, 343.
86. Shi, J., Shan, S., Li, H., Song, G., Li, Z., 2017. Anti-inflammatory effects of millet bran derived-bound polyphenols in LPS-induced HT-29 cells via ROS/miR-149/Akt/NF- κ B signaling pathway. *Oncotarget* 8, 74582–74594.
87. Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144.
88. Slomiany, B.L., Slomiany, A., 2019. Syk: a new target for attenuation of *Helicobacter pylori*-induced gastric mucosal inflammatory responses. *Inflammopharmacology* 27, 203–211.
89. Soybel, D.I., 2005. Anatomy and Physiology of the Stomach. *Surgical Clinics of North America* 85, 875–894.
90. Stalikas, C.D., 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J Sep Sci* 30, 3268–3295.
91. Suerbaum, S., Michetti, P., 2002. *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine* 347, 1175–1186.
92. Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A., 2010. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry* 120, 599–606.

Références bibliographiques

93. Takahama, U., Hirota, S., 2018. Interactions of flavonoids with α -amylase and starch slowing down its digestion. *Food Funct* 9, 677–687.
94. Tarnawski, A.S., Ahluwalia, A., 2021. The critical role of growth factors in gastric ulcer healing: The cellular and molecular mechanisms and potential clinical implications. *Cells* 10, 1964.
95. Une étude réalisée sur des dispersions mixtes de polysaccharides a montré que le pH gastrique et l'incubation n'augmentent pas significativement les sucres réducteurs après la phase orale Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., Xie, M., 2016. Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 5692852.
96. Vamanu, E., Gatea, F., Pelinescu, D.R., 2020. Bioavailability and bioactivities of polyphenols eco-extracts from coffee grounds after in vitro digestion. *Foods* 9, 1281.
97. Vora, Z., Goyal, A., Sharma, R., 2021. Radiological anatomy of stomach and duodenum with clinical significance. *Journal of Gastrointestinal and Abdominal Radiology* 04, 85–93.
98. W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., 2022. Effect of digestive enzymes and pH on variation of bioavailability of green tea during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Science and Human Wellness* 11, 669–675.
99. Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., Xie, M., 2016. Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 5692852.
100. Wanyo, P., Chamsai, T., Toontom, N., Nghiep, L.K., Tudpor, K., 2024. Differential Effects of In Vitro Simulated Digestion on Antioxidant Activity and Bioaccessibility of Phenolic Compounds in Purple Rice Bran Extracts. *Molecules* 29, 2994.
101. Warren, F.J., Zhang, B., Waltzer, G., Gidley, M.J., Dhital, S., 2015. The interplay of α -amylase and amyloglucosidase activities on the digestion of starch in in vitro enzymic systems. *Carbohydr Polym* 117, 192–200.
102. Wilson, R.L., Stevenson, C.E., 2019. Anatomy and physiology of the stomach, in: Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, 2 Volume Set. Elsevier, pp. 634–646.
103. Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., Matwijczuk, A., 2020. Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols - a non-systematic review. *Nutrients* 12, 1401.
104. Xi, Y., Zhang, X.-L., Luo, Q.-X., Gan, H.-N., Liu, Y.-S., Shao, S.-H., Mao, X.-H., 2023. Helicobacter pylori regulates stomach diseases by activating cell pathways and DNA methylation of host cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 11.
105. Xiao, Z., He, L., Hou, X., Wei, J., Ma, X., Gao, Z., Yuan, Y., Xiao, J., Li, P., Yue, T., 2021. Relationships between Structure and Antioxidant Capacity and Activity of Glycosylated Flavonols. *Foods* 10, 849.
106. Yang, I., Jayaprakasha, G.K., Patil, B., 2018. In vitro digestion with bile acids enhances the bioaccessibility of kale polyphenols. *Food Funct.* 9, 1235–1244.

Références bibliographiques

107. Yin, J., Zhao, D., Song, J., Gao, R., Wang, X., Rao, H., Gao, X., Hao, J., 2024. Synergistic Antioxidant Activity of Lycium barbarum Polysaccharide and Chlorogenic Acid and Its Effect on Inflammatory Response of NR8383 Cells. *Foods* 13, 3696.
108. Yous, F., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Cheraft, N., Sebaihi, S., Saidene, N., Benloukil, M., Atmani, D., 2018. Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. *South African Journal of Botany* 119, 390–399.
109. Zhang, W.-H., Wu, J., Weng, L., Zhang, H., Zhang, J., Wu, A., 2020. An improved phenol-sulfuric acid method for the determination of carbohydrates in the presence of persulfate. *Carbohydrate Polymers* 227, 115332.
110. Zhang, W., Lian, Y., Li, Q., Sun, L., Chen, R., Lai, X., Lai, Z., Yuan, E., Sun, S., 2020. Preventative and Therapeutic Potential of Flavonoids in Peptic Ulcers. *Molecules* 25, 4626.
111. Zhou, X., Iqbal, A., Li, J., Liu, C., Murtaza, A., Xu, X., Pan, S., Hu, W., 2021. Changes in Browning Degree and Reducibility of Polyphenols during Autoxidation and Enzymatic Oxidation. *Antioxidants (Basel)* 10, 1809.
112. Zulkefli, N., Che Zahari, C.N.M., Sayuti, N.H., Kamarudin, A.A., Saad, N., Hamezah, H.S., Bunawan, H., Baharum, S.N., Mediani, A., Ahmed, Q.U., Ismail, A.F.H., Sarian, M.N., 2023. Flavonoids as potential wound-healing molecules: Emphasis on pathways perspective. *International Journal of Molecular Sciences* 24, 4607.
113. Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., Kopjar, M., 2022. Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life (Basel)* 12, 1692.

Annexes

Annexes

Teneur en composés phénoliques totaux

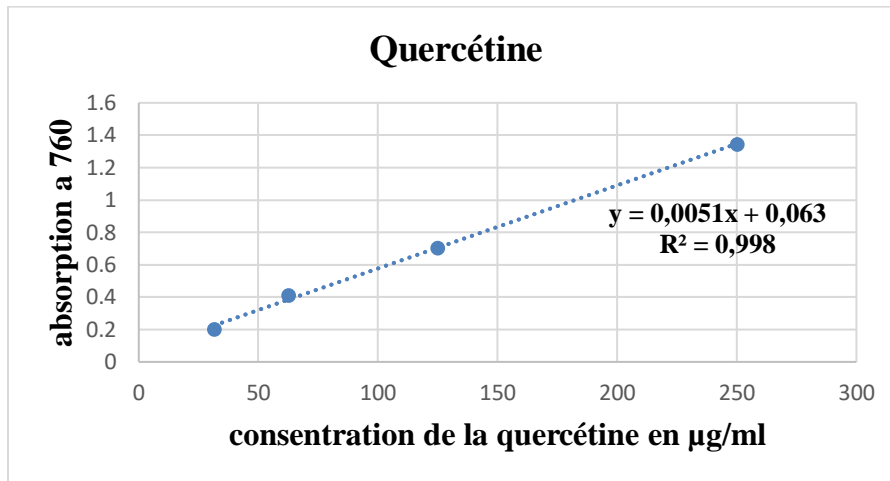


Figure 1 : Droite d'étalonnage de la quercétine.

Teneur en flavonoïdes

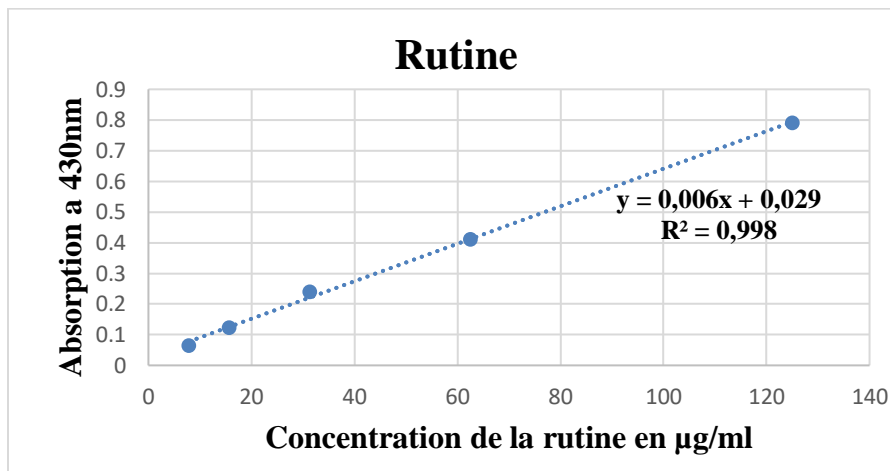


Figure 2: Droite d'étalonnage de la rutine.

Annexes

Teneur en sucres

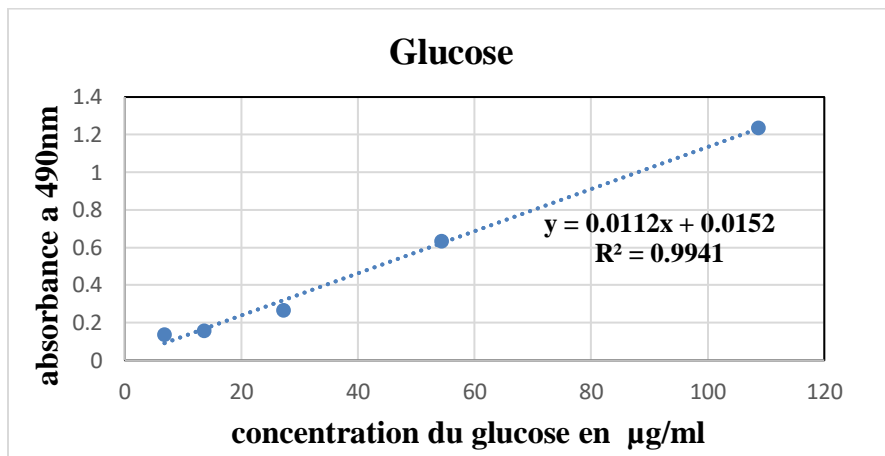


Figure 3: Droite d'étalonnage du glucose.

Tableau I: Propriétés gastroprotectrices de certaines plantes médicinales et leurs mécanismes d'action contre les ulcères gastro-duodénaux.

| Plante médicinale | Composé(s) actif(s) principal (aux) | Effets gastroprotecteurs | Mécanismes d'action principaux |
|------------------------------|---|--|---|
| <i>Nigella sativa</i> | Thymoquinone | Antioxydant, anti-inflammatoire, antiscrétoire | ↓ Sécrétion d'acide, ↑ mucus gastrique, neutralisation des radicaux libres |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i> | Glycyrrhizine | Anti-inflammatoire, cicatrisant | Régénération de l'épithélium, stimulation du mucus, protection contre l'acidité |
| <i>Matricaria chamomilla</i> | Flavonoïdes, tanins, composés phénoliques | Antioxydant, spasmolytique | ↓ Inflammation, ↓ spasmes, protection de la muqueuse |
| <i>Punica granatum</i> | Tanins | Astringent, antioxydant | Protection contre les lésions induites par l'éthanol, réduction du stress oxydatif |
| <i>Olea europaea</i> | Oleuropéine, hydroxytyrosol | Anti-inflammatoire, antioxydant, protecteur de la muqueuse | ↓ Inflammation, protection des tissus gastriques, stabilisation de la barrière muqueuse |
| <i>Helianthemum lippii</i> | Flavonoïdes, tanins, terpénoïdes | Antioxydant, antiscrétoire, cicatrisant | ↓ Sécrétion acide, ↑ mucus protecteur |

Résumé :

L'ulcère gastrique est caractérisé par des lésions de la muqueuse de l'estomac provoquée par un déséquilibre entre facteurs agressifs (acide, pepsine, AINS, *H. pylori*) et défensifs (mucus, bicarbonate). Les traitements classiques présentent des limites, d'où l'intérêt pour les alternatives naturelles comme les plantes médicinales riches en polyphénols. Ce travail a évalué, *in vitro*, l'effet anti-ulcère de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Clematis flammula*, plante traditionnelle utilisée contre les douleurs gastriques. Une digestion gastro-intestinale simulée (méthode INFOGEST) a permis d'analyser les modifications en teneurs de polyphénols, flavonoides et sucres et leur activité antioxydante par le test DPPH dans chacune des phases digestives. Les résultats montrent une activité antioxydante accrue après digestion, avec une activité antioxydante élevée, notamment en phase intestinale. Ces effets, combinés à une action modulatrice du pH, suggèrent un potentiel gastroprotecteur significatif. *Clematis flammula* pourrait ainsi représenter une alternative naturelle prometteuse aux traitements anti-ulcéreux.

Mots clés : *Clematis flammula*, ulcère gastrique, gastroprotecteur, activité antioxydante

Abstract:

Gastric ulcer is characterized by lesions of the stomach lining caused by an imbalance between aggressive (acid, pepsin, NSAIDs, *H. pylori*) and defensive factors (mucus, bicarbonate). Conventional treatments have limitations; hence the growing interest in natural alternatives such as medicinal plants rich in polyphenols. This study evaluated *in vitro* the anti-ulcer effect of the leaves hydro-ethanolic extract of *Clematis flammula*, a traditional plant used to relieve gastric pain. A simulated gastrointestinal digestion (INFOGEST method) was used to analyze the variations of polyphenols, flavonoids and sugar levels and their antioxidant activity using the DPPH assay in each phase of the digestive process. The results show an upgraded antioxidant activity after digestion, particularly in the intestinal phase. These effects, combined with pH modulation, suggest a significant gastroprotective potential. *Clematis flammula* may thus represent a promising natural alternative to conventional anti-ulcer therapies.

Keywords: *Clematis flammula*, gastric ulcer, gastroprotective, antioxidant activity

المخلص:

القرحة المعدية تتميز بوجود آفات في الغشاء المخاطي للمعدة ناجمة عن اختلال التوازن بين العوامل المهاجمة (مثل الحمض، البيبسين، مضادات الالتهاب غير الستيرويديّة، والجرثومة الملوية البوابية) والعوامل الدفاعية (مثل المخاط والبيكربونات). تُظهر العلاجات التقليدية بعض القيود، مما يبرز أهمية البحث عن بدائل طبيعية، مثل النباتات الطبية الغنية بالبوليفينولات. في هذا العمل، تم تقييم تأثير مضاد للقرحة لمستخلص مائي - إيثانولي من أوراق نبات كليماطيس فلامولا، وهو نبات تقليدي يُستخدم ضد آلام المعدة. وقد تم استخدام الهضم الهضمي المحاكى (وفقاً لطريقة إنفوجيست) لتحليل التغيرات في محتوى البوليفينولات، الفلافونويدات والسكريات، بالإضافة إلى نشاطها المضاد للأكسدة باستخدام اختبار دي بي بي إتش في كل مرحلة من مراحل الهضم. أظهرت النتائج زيادة في النشاط المضاد للأكسدة بعد الهضم، مع نشاط عالٍ خصوصاً في المرحلة المعوية. وتُشير هذه التأثيرات، إلى جانب قدرتها على تعديل درجة الحموضة، إلى إمكانية وجود تأثير واثق للمعدة ذو أهمية. بالتالي، قد يُمثل كليماطيس فلامولا بديلاً طبيعياً واعدًا للعلاجات المضادة للقرحة

الكلمات المفتاحية: كليماطيس فلامولا، قرحة المعدة، واثق للمعدة، نشاط مضاد للأكسدة