

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1
Faculté Des Sciences Technologiques
Département de Chimie Industrielle



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

En Génie Des Procédés

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Par

DRIZA FAYZA

**Contribution à l'étude in-vitro des mécanismes d'action
anti-acide/antireflux des extraits d'écorces de grenade**

Proposé et Dirigé par :

Pr. A. Hadj-Ziane-Zafour

Blida, octobre 2014

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents qui se sont tant sacrifiés pour moi,

En espérant un jour faire de même pour eux.

À mes chers sœurs : Fatima et Ferialle

À mon frère : Mohamed amine

À toute ma famille.

À tout mes amies spécialement Souad

À tous ceux qui m'aiment.

Faiza

Avant Propos

Ce travail a été réalisé aux laboratoires de Recherches Génie Chimique et pédagogique de Pharmacie Industrielle au département de Chimie Industrielle à la Faculté De Technologie à l'université de Blida 1 sous la direction scientifique du **Pr. Hadj Ziane-Zafour** Amel. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour la confiance et le soutien qu'elle m'a témoigné ainsi que pour les conseils prodigués au cours de toute la durée de la réalisation de ce travail. Sans sa disponibilité, sa rigueur scientifique ainsi que sa compétence et ses qualités humaines, ce travail n'aurait pas eu la même « saveur ».

Un remerciement particulier au personnel de l'unité **Biotic/Saidal** de Gue de Constantine particulièrement Monsieur **Chakar ali**, Sofiane et Madame **Rachida** pour leurs conseils ainsi qu'a Madame **Youcefi** et Monsieur **Boutoumi H**, Enseignant-chercheur à l'université Blida 1, pour les conseils et les informations qui ont bien orienté et guidé mon chemin expérimental.

Je ne pourrais oublier les membres du Jury qui ont bien voulu juger ce modeste travail ainsi que tous(es) les enseignants qui ont contribué à ma formation et tout le personnel administratif et technique

Je remercie tous(es) qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail

ملخص

الهدف الجوهرى من هذه الدراسة هو تحديد الية تاثير و عمل مستخلصات اوراق الشجر ولحاء المعروفة بتاثيرها و فعاليتها لمعالجة الام المعدة .

اظهرت النتائج ان عملية النقع مستحسن استخدامها على الغليان, و اكدت الدراسة الكيميائية وجود مادة البوليفينول و محتوى عضوي فعال, و بررت الية عمل المستخلص ميكانيكية عمل مستخلصات حمض المعدة و عليه فان درجة الحموضة وصلت قيمة 3,5 في مدة زمنية قدرها 30 دقيقة.

بعد استخلاص العفص حقق هذا الاخير القيمة السابقة في نهاية 20 دقيقة.

هذه النتائج مشابهة لغيرها بالنسبة للمضادات الحموضة و التي تسمح له بالعمل كضمانات معدية.

Abstract:

The main and the fundamental goal of this study is to make in fact and currently the mechanism of actions of extracts of leaves trees and barks known for their impact and efficiency observed to fight against stomach akes and pains. The results showed that the process of extraction by maceration is preferred and favored by the linkage over the decoction for the conversation of chemicals bodies and molecules. The phytochimique study of barks of plants and trees have detected and confirmed the existence and presence of polyphenols and tannins and high organic. Content Profiles neutralization justified the mechanism of action of pomegranate extracts that work by neutralizing stomach acid. Also thus the pH reached a value of 3.5 for a period of half hour. Tannins after extraction have achieved this value at the end of 20 min, this result are similar with ones of antiacids commercial and that allowed the conclusion that barks of gonads worked as antiacids and gastriques dressings.

Résumé : L'objectif principal de cette présente étude est de mettre en évidence le mécanisme d'action des extraits de feuilles et écorces de grenades connus par leur efficacité remarquable pour lutter contre les douleurs d'estomac.

Les résultats ont montré que le procédé d'extraction par macération est favorisé par rapport à la décoction pour la conservation des molécules chimiques. L'étude phytochimique des écorces de plante ont confirmé la présence des polyphénols et des tannins ainsi qu'une forte teneur en matières organiques

Les profils de neutralisation ont justifié le mécanisme d'action des extraits de grenade qui agissent par neutralisation des acides gastriques, c'est ainsi que le pH a atteint la valeur de 3.5 pour une durée de 30min. Les tannins après extraction ont permis d'atteindre cette valeur au bout de 20 min, ces résultats sont comparables à ceux des antiacides commerciales qui permet de conclure que les écorces de grenade agissent aussi comme antiacides et pansements gastriques

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	1

Chapitre I : L'estomac et les antiacides

Introduction	2
I .l'estomac	2
1.1. Définition.....	2
I.2. Acidité gastrique	3
I.3 Les maladies de l'estomac	4
I.3 .1. Les gastrites :.....	4
A. La gastrite aigue.....	4
B. Les gastrites chroniques	4
I.3.2. Ulcère	5
I.3.3 Cancer de l'estomac	5
II.1. œsophage	5
II.2.Reflux gastro-œsophagien (RGO)	6
II.3.Troubles de la vidange gastrique	6
II.4. Traitement du reflux gastro œsophagien	6
II.4.1. Mesures hygiéno-diététiques	6

II.4.2. Médicaments du RGO	7
a. Anti sécrétoires « inhiber la sécrétion gastrique acide ».....	7
b. Antiacides et pansements gastriques.....	7
III.les antiacides	8
Introduction	8
III.1.Définition	8
III.2.classification des antiacides	9
III.2.1. Classification selon le type d'ion.....	9
III.2.1.1 : les antiacides anioniques	9
III.2.1.2 : les antiacides cationiques	9
III.2.2. Classification selon l'effet	9
III.2.2.1. Les antiacides non systémiques.....	10
III.2.2.2. Les antiacides systémiques.....	10
III.2.3. Les antiacides complexes	10
III.3.Les antiacides à base de la plante.....	10

Chapitre II : la grenade

Introduction	12
II.1. Botanique.....	12
A. Description générale du grenadier.....	12
B. Les feuilles.....	12
C. Les fleurs.....	13
II. 2. L'écorce du fruit.....	13
II.3. Les Produits fonctionnels dérivés de la grenade.....	14
II.4. composition de la grenade	14
II.4.1. Composition Chimique de la Grenade.....	14
II.4.2. Composés Phénoliques.....	15
II.4.2.1. Composés phénoliques à faible poids moléculaire.....	15
II.4.2.2. Composés phénoliques à poids moléculaire élevé	15
II.5. Grenade et santé	16

II.5.1. Propriétés Antimicrobiennes de la Grenade et de ses Produits dérivés.....	16
II.5.2. La grenade et ses effets contre la diarrhée	17

Chapitre III : expérimentation et discussion des résultats

III.1. L'objectif de l'étude	18
III. 2. Préparation et conservation de l'écorce du fruit.....	18
III.3. Extraction solide-liquide.....	18
A. Extraction par macération	19
B .Extraction par décoction	20
III.4. Détermination de la matière sèche, minérale et organique	22
III.4.1. La matière sèche	22
III.4.2.La matière minérale	22
III.4.3. La matière organique.....	22
III.5. Les résultats de caractérisation phytochimiques de la matière végétale	23
III.5.1.Détermination des taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique	23
III.6. Les méthodes d'analyses chimiques des extraits.....	23
III.6.1. Les réactions de détection des familles chimiques.....	23
III.6.1.1. Préparation des réactifs	23
III.6.1. Les tests pour la détection des constituants chimiques.....	24
III.7. Les résultats d'analyses chimiques des extraits	25
III.7.1 Les résultats des tests de détection des constituants chimiques.....	25
III.8.Caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade	27
III.9.Caractérisation de l'activité antiacide.....	28

III.10. La neutralisation avec l'extrait par macération	29
III.11.Extrait obtenu par décoction	30
III.12.Extraction des tannins	31

Conclusion

Bibliographie

Annexe

Liste des figures

Chapitre I :

Figure : I.1 : zones anatomiques et fonctionnelles.

Figure : III.1 : L'acore vrai (calami), à prendre en tisane

Figure : III.2 : Le boldo

Figure : III.3 : La camomille vraie

Figure : III.4 : La chélidoine

Figure : III.5 : La mélisse

Figure : III.6 : La menthe

chapitre II :

Figure II.1 : Diagramme d'une fleur de *Punica granatum*.

Figure II.2 : La grenade et ses différentes parties.

Figure II.3 : Structure moléculaire de la punicalagine

Figure III.1 : photo du montage de l'extraction par macération

Figure III.2 : la variation du pH de l'écorce en fonction du temps

Figure III.3. photo du montage de l'extraction par décoction

Figure III.4 : la variation du pH de l'extrait de l'écorce en fonction du temps

Figure III.5 : Montage expérimental de la formation du radeau

Figure III.6 : photo de formation du radeau

Figure III.7 : Montage du profil neutralisation

Figure III.8 : Profil de neutralisation du l'extrait de l'écorce

Figure III.9 : Profil de neutralisation de l'extrait du l'écorce

Figure III.10 : Protocole d'extraction des tanins

Figure III.11 : Montage de l'extraction par rota vapeur

Figure III.12 : profil de neutralisation avec les tanins

Liste des tableaux

Tableau III.1: les taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique

Tableau III.2 : résultats de criblage chimique

Tableau III.3 : efficacité de neutralisation des antiacides commerciaux

Introduction :

Il est bien admis que les médicaments antiacides sont prescrits pour le traitement des maladies des organes digestifs, il est intéressant d'aborder dans ce présente chapitre quelques notions anatomiques et physiologiques, notamment l'estomac et l'œsophage qui font partie de l'appareil digestif humain et pour lesquels les médicaments antiacides et /ou anti reflux sont prescrits.

I .l'estomac :

1.1. Définition :

L'estomac est la première poche en forme « J » du tube digestif. Il est délimité par deux systèmes sphinctériens : à son entrée, le sphincter œsophagien inférieur (SOI) et le cardia, à sa sortie, le pylore qui fait la jonction avec l'intestin grêle [1]

Macroscopiquement, il mesure environ 25cm à jeun, possédant une capacité de 500 ml pouvant s'étendre jusqu'à 4 litres. Il se subdivise en trois zones anatomiques (figure I.1) :

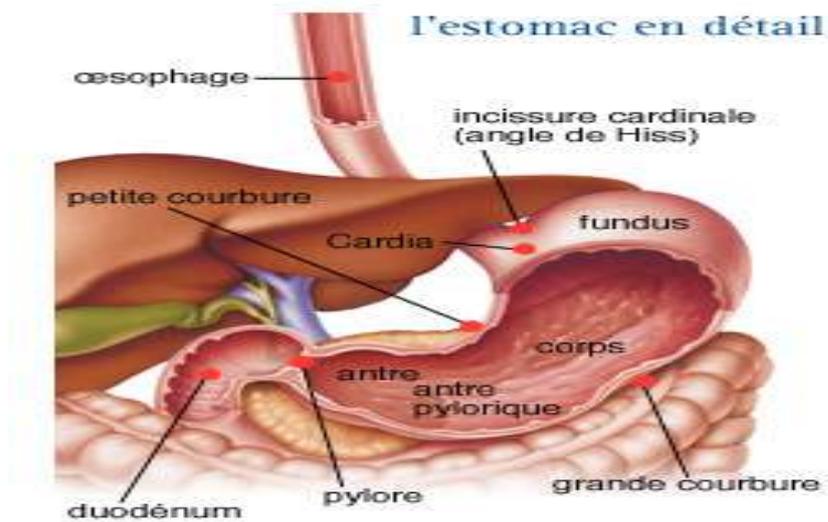


Figure : I.1 :L'estomac : zones anatomiques et fonctionnelles.

- la grosse tubérosité ou fondu ;

- le corps (corpus) de l'estomac : avec le fondu, le corpus forme la zone de réception du mélange des aliments. Cette partie (corpus et fondus) appelée aussi la partie proximale de l'estomac, c'est-à-dire la partie qui va se déployer avec l'arrivée des aliments ;
- l'antré (l'antrum) qui est la zone de moulinage des aliments et d'évacuation vers le pyllore du chyme.

Sur le plan histologique, la paroi de l'estomac est formée de trois couches de fibres musculaires. La couche musculaire longitudinale, la couche musculaire circulaire et la couche musculaire oblique interne. L'estomac possède trois rôles essentiels :

- recevoir les aliments pour les stocker provisoirement, et les mélanger ;
- assurer le début de la digestion protéique ;
- évacuer les aliments vers l'intestin grêle selon un débit contrôlé qui va favoriser les phénomènes de digestion et d'absorption. [1]

I.2. Acidité gastrique :

L'acidité gastrique est la caractéristique majeure de l'estomac. Cette acidité est le résultat de la sécrétion, par la muqueuse de l'estomac, de substances liquides appelées les sucs gastriques. Ce dernier est sécrété de façon permanente (environ 2 litres /24 h) ; il augmente au cours des repas ; c'est un liquide incolore, visqueux et acide ; il contient du mucus, des électrolytes, des enzymes, surtout des pepsines et une glycoprotéine. Grâce à l'acide chlorhydrique « HCL », le suc gastrique « cuit » les aliments ; il dissout la cellulose et les fibres conjonctives des faisceaux musculaires des viandes qui se fragmentent. Son action protéolytique est due aux pepsines. Ce sont des endopeptidases qui agissent à pH 1-3.5, surtout sur la fonction amine d'acides aminés aromatiques ; elles digèrent donc incomplètement les protéines. [2]

I.3 Les maladies de l'estomac : [3]

I.3 .1. Les gastrites :

La gastrite est l'inflammation *aigüe* ou *chronique* de la muqueuse gastrique. Le terme de gastrite est souvent employé à tort sans aucune preuve. Or ce diagnostic repose sur des arguments cliniques, endoscopiques, biologiques et histologiques précis.

A. La gastrite aigüe :

C'est une inflammation aigüe de la muqueuse gastrique définie par des lésions endoscopiques. Et peut avoir différentes origines :

- ✓ Bactérienne, virale, allergique ;
- ✓ Toxique notamment l'alcool ;
- ✓ Médicamenteuse : anti-inflammatoires (aspirine, anti-inflammatoires non stéroïdiens, phénylbutazone, indométacine, etc.) antimitotique, anti-infectieux, réserpiniques, digitaliques, etc.

Le facteur déterminant semble être l'agression répétée de la muqueuse de l'estomac par un de ces éléments. La gastrite peut aussi être due au stress et se révèle souvent par une hémorragie. Le traitement de ce type de gastrite repose sur l'arrêt de l'agent causal et l'utilisation *d'antiacides* et d'IPP.

B. Les gastrites chroniques :

Signifient la présence à l'examen histologique de la muqueuse gastrique, de lésions inflammatoires et atrophiques plus ou moins étendues (muqueuse antrale et muqueuse fundique) et plus ou moins sévères. La gastrite chronique est susceptible d'aboutir progressivement à la disparition des glandes gastriques.

Parmi les causes de gastrites chroniques : la maladie de Biermer qui est une affection auto-immune, une avitaminose, la dénutrition, l'alcoolisme, l'allergie, des maladies du sang... etc.

Le traitement de gastrites chroniques selon le type repose sur l'injection de vitamine B12 à vie dans le cas d'une gastrite atrophique de la maladie Biermer, un traitement

médical dans un premier temps (IPP), puis chirurgical en raison du risque élevé de cancérisation en cas de gastrite hypertrophique de Ménétrier. Dans le cas d'une gastrite toxique, le traitement se fait par anti biothérapie, mais il peut y avoir des récives.

I.3.2. Ulcère :

L'ulcère gastrique ou plus largement *l'ulcère gastroduodéal* correspond à une plaie ou perte de substance de la muqueuse qui tapisse l'estomac (gastrique) et / ou du duodénum (début de l'intestin). Dans 90% des cas, cette érosion est liée à une bactérie, *Helicobacter pylori* (HP). Cette bactérie ne pénètre pas dans les cellules de l'estomac mais crée une inflammation locale et chronique.

Les traitements les plus souvent prescrits sont basés sur les antibiotiques pour éliminer les bactéries *HP* et des anti-sécrétions et **antiacides** pour neutraliser l'acidité gastrique dans l'estomac. Une alimentation locale et chronique. [4]

I.3.3 Cancer de l'estomac :

Il concerne le plus souvent les personnes à partir de 65-70 ans, plus d'hommes que de femmes. Le traitement est avant tout chirurgical, consistant à enlever la partie d'estomac malade. Parfois il faut enlever tout l'estomac, et l'œsophage sera relié directement en haut de l'intestin. [4]

II.1. œsophage :

L'œsophage est un tube souple et contractile mesurant à peu près 25 cm de long quand il ne contient aucun aliment son diamètre est environ 2,5 cm.

Au- dessus de l'œsophage se trouve le larynx qui reçoit la nourriture en provenance de la bouche et qui l'achemine vers l'œsophage situé en arrière de lui, après que l'épiglotte ait fermé l'entrée du larynx.

L'œsophage a pour principale fonction d'acheminer vers l'estomac les aliments solides ou liquides déglutis, grâce à la contraction séquentielle dite « péristaltique » du corps œsophagien et au relâchement bien synchronisé des sphincters œsophagiens supérieur et

inferieur. De plus, l'œsophage repousse dans l'estomac tout reflux du contenu gastrique et intervient dans des activités réflexes comme les vomissements et les éructations. [5]

II.2.Reflux gastro-œsophagien (RGO) :

Le terme de reflux gastro-œsophagien désigne le passage à travers le cardia d'une partie du contenu gastrique dans l'œsophage, ce qui entraîne souvent une douloureuse sensation dans la poitrine et la gorge (brûlure **d'estomac**). Il s'agit d'un phénomène qui se produit chez tous les sujets, en particulier en période postprandiale. [6]

II.3.Troubles de la vidange gastrique :

Le volume intra-gastrique est un facteur important déterminant la quantité de matériel susceptible de refluer. Ce volume est la résultante de la sécrétion gastrique basale, stimulée par le repas et du volume des aliments. Une vidange gastrique lente augmente le nombre des RTSIO, une élévation du gradient de pression gastro-œsophagien et une stimulation de la sécrétion gastrique acides.

Il existe plusieurs arguments théoriques pour considérer qu'un retard de la vidange gastrique puisse aggraver ou favoriser le RGO. Augmentation du gradient de pression gastro-œsophagien et de la quantité du matériel dans l'estomac disponible pour le reflux, et distension gastrique prolongée pouvant induire des RTSIO.

En effet, environ 40% des patients atteints de RGO pathologique ont une vidange gastrique retardée, ce qui pourrait représenter un facteur d'échec du traitement médical ou chirurgical. [7]

II.4. Traitement du reflux gastro œsophagien [6]

II.4.1. Mesures hygiéno-diététiques :

La justification de ces mesures repose sur les résultats de quelques études physiologiques montrant leur efficacité sur la réduction de l'exposition acide de l'œsophage, mais leur efficacité, surtout à long terme, n'a été démontrée par aucune étude contrôlée.

- ✓ Les premiers conseils doivent concerner les *règles posturales* : éviter de se pencher en avant, de se coucher immédiatement après le repas et surtout

surélever les pieds de la tête du lit en plaçant des cales de 15 à 20cm de hauteur.
Le port de vêtements trop serrés (corset, ceintures) est également déconseillé.

- ✓ Le tabagisme et la consommation trop abondante d'aliments susceptibles de provoquer une diminution de la pression du SIO doivent être évités : graisses, alcool, chocolat, épices, menthe, café et boissons gazeuses...etc.
- ✓ Quand des aliments particuliers ou des traitements sont mal tolérés par le patient, il est logique de les supprimer, si toute fois cela est possible.

II.4.2. Médicaments du RGO : [7]

a. Anti sécrétoires « inhiber la sécrétion gastrique acide »

Les malades atteints de RGO présentent rarement une hypersécrétion gastrique acide mais l'acidité normale de l'estomac est suffisante pour provoquer une œsophagite peptique.

Le but de traitement anti sécrétoire au cours de RGO est donc de diminuer l'acidité du contenu gastrique et par l'activation de la pepsine, de réduire le volume du liquide refluant vers l'œsophage.

La longue durée d'action des différents anti sécrétoires actuellement disponibles permet cette inhibition nocturne de la sécrétion gastrique.

b. Antiacides et pansements gastriques

Les sécrétions acides et protéger la muqueuse. Les antiacides (Maalox®, Gelox®, phosphalugel® etc.) et surtout les alginate (Gaviscon®) sont utilisés pour leur pouvoir neutralisant des sécrétions acides ou de protection de la muqueuse. En cas de RGO sans œsophagite, ils peuvent être utilisés en première intention.

III.les antiacides :

Introduction :

Lors de la digestion normale, l'estomac sécrète l'acide chlorhydrique (HCL) indispensable à la transformation des aliments. Notre estomac est conçu pour tolérer ces conditions acides en remplaçant constamment les cellules. Mais lorsque la production de suc gastrique est trop élevée, l'estomac doit renouveler ses cellules protectrices plus rapidement qu'il ne peut les produire. C'est ainsi qu'un excès d'acide produit peut remonter dans l'œsophage et provoquer une sensation de brûlure. Communément appelée (brûlures d'estomac). Afin de traiter ce type de problème, il est possible d'utiliser des médicaments *antiacides* (Maalox, Gaviscon.....etc.), dont l'action est d'élever le pH gastrique d'une valeur pH=1 à pH=3. [8]

III.1.Définition :

Le nom « antiacide » signifie « qui combat l'acide ». Les antiacides neutralisent l'acide ou diminuent la quantité d'acide contenue dans l'estomac. Certains antiacides contiennent en plus des médicaments, comme de la siméticone qui aide à éliminer les gaz contenus dans l'estomac ou les intestins.

Les antiacides, sont des médicaments capables du neutraliser l'acidité gastrique sans interférer avec les processus sécrétoires, ou des pansements gastro-intestinaux qui luttent contre cette acidité en formant un revêtement protecteur des muqueuses œsophagiennes gastriques et duodénales. [8]

Les antiacides locaux agissent en élèvent le pH au niveau de l'estomac, pour neutraliser l'excès d'acidité, tout en jouent un rôle, cette propriété à un grand intérêt thérapeutique, car il est préférable de maintenir plus long temps le pH à 3 plutôt que de l'élever quelque minute à 6 puis le laisser redescendre à 1.en générale ces antiacides sont des dérivés d'hydroxydes d'aluminium ,de carbonates de calcium et de magnésium, de phosphates d'aluminium.

Ils doivent généralement être absorbés une à deux heures après les repas, ils sont habituellement indiqués dans les mêmes cas qui nécessitent les antiacides locaux, il existe des associations antiacides et pansements qui réunissent les principe actifs de ces deux familles de produits. [9]

III.2.classification des antiacides : [10]

Plusieurs méthodes de classification des antiacides ont été proposées :

III.2.1. Classification selon le type d'ion :

Carlson et malageloda suggèrent que les antiacides peuvent être divisés en deux catégories :

III.2.1.1 : les antiacides anioniques : Dans lesquels l'anion est plus important, ils sont actuellement peu utilisés car, s'ils provoquent à fort dose une neutralisation rapide, ils n'ont cependant pas d'effet « tampon ».El s'agit du carbonate de calcium et du bicarbonate de sodium. Un de leurs inconvénients est la teneur en sodium, qui est nocive dans les régimes hyposodés.

III.2.1.2 : les antiacides cationiques :

Dans lesquels le cation est le plus important, ils sont généralement des hydroxydes des sels de phosphates ou tricilicates d'aluminium et de magnésium ou d'association d'aluminium et de magnésium.

Certains sont associés à des argiles pour renforcer leur effet protecteur sur la muqueuse. Ils provoquent une neutralisation simple jusqu'à un certain pH et au –delà, ils ont un pouvoir tampon très important. Généralement, ils peuvent ralentir le transit digestif qui peut être plus grave chez les personnes qui souffrent d'insuffisance rénale et les hémodialysés, on ajoute à cela le danger d'intoxication par l'aluminium ou d'hypermagnosémie. A long terme un risque de déplétion phosphorée à été également signalé [1].

III.2.2. Classification selon l'effet : [4]

On peut subdiviser les substances antiacides en deux groupes, suivant qu'il existe des effets généraux ou non, le cation peut fournir un composé basique insoluble.

Lorsque le composé est insoluble, il n'est pas absorbé au niveau de l'intestin et, de ce fait, n'a pas de retentissement au plan général (antiacides non systémique). Par contre, la formation d'un composé soluble permet non absorption intestinale et peut provoquer une alcalose métabolique (antiacides systémique).

Les substances antiacides sont réparties en deux groupes :

III.2.2.1. Les antiacides non systémiques :

La neutralisation de l'acide chlorhydrique aboutit à la formation d'un sel au niveau de l'intestin. Ainsi, le carbonate de calcium en neutralisant l'acide chlorhydrique libère l'ion calcium dans l'estomac.

III.2.2.2. Les antiacides systémiques :

La neutralisation de l'acidité gastrique par le bicarbonate de sodium exogène aboutit à une économie du bicarbonate intestinal qui absorbé au lieu d'être neutralisé, revient donc à avoir administré directement le bicarbonate exogène dans le liquide extracellulaire. Le rein excrète l'excès de bicarbonate et de sodium pour maintenir l'équilibre acido-basique.

Les urines deviennent alcalines, l'alcalinisation répétée de l'urine prédispose à une lithiase phosphatidique. [5]

III.2.3. Les antiacides complexes :

L'unité structurale de nombreux antiacides complexes est souvent mal définie. Ils peuvent être des composés très mal connus ou secrets dont la composition est fonction de la méthode de préparation ; ces composés sont présentés sous forme hydratée. La perte d'eau par un chauffage progressif conduit également à des mélanges mal définis.

Ces médicaments ou molécules vont également neutraliser l'acidité dans l'estomac et former une couche protectrice sur la muqueuse de l'estomac. [6]

III.3. Les antiacides à base de la plante

Les plantes médicinales suivantes ont su montrer une certaine **efficacité** contre les aigreurs ou les brûlures d'estomac, l'efficacité est toutefois **relative** (comparé aux médicaments classiques) et il semble qu'il s'agisse plus d'une **mesure complémentaire** plutôt qu'un traitement de premier choix : traitement de premier choix : [11]



Figure : III.1:L'acore vrai figure : III.2 : Le boldo figure : III.3 : La camomille vraie



Figure : III.4 : La chélideine

figure : III.5 : La mélisse

figure : III.6 : La menthe

Introduction :

Depuis des milliers d'années, le grenadier, *Punica granatum*, ses fruits ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs, sont utilisés, au Moyen-Orient et en Asie, régions dont cet arbuste est originaire, pour leurs propriétés médicinales. D'abord disséminé par les nomades arabes, puis introduit en Chine au début de l'IIème Siècle, le grenadier est importé à Rome par les Romains de retour des guerres puniques, après leur victoire sur les Carthaginois. Plus tard, le grenadier sera introduit dans la péninsule ibérique, où le nom de son fruit, la grenade, sera donné à l'une des plus grandes villes d'Espagne.

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

Utilisé, de façon empirique, dans les médecines traditionnelles, pour soigner les **maladies gastro-intestinales** et les affections parasitaires, le grenadier fait son apparition dans la pharmacopée française en 1818. Abandonné ensuite en raison de la toxicité de certains de ses principes actifs, le grenadier fait l'objet, depuis une dizaine d'années, d'un regain d'intérêt, tant sur un plan médical et pharmacologique que sur un plan cosmétologique. En effet, la grenade possède, par exemple, des propriétés antioxydants supérieures à celles du vin rouge ou du thé vert. [12]

II.1. Botanique. [13]**A. Description générale du grenadier.**

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

B. Les feuilles.

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces. La face supérieure est vert foncé et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, vert

clair, montre une nervure médiane très saillante. Ces feuilles entières, lancéolées, assez coriaces, et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. Leur sommet peut être obtus ou allongé. Elles sont munies d'un court pétiole, de 1 à 5 mm de long, qui est généralement rouge âtre dessus. Elles ne possèdent pas de stipule.

C. Les fleurs.

Les fleurs du grenadier portent également le nom de balaustes. Elles sont très ornementales. Les fleurs rouge pourpre ou grenat, d'aspect froissé, portées par un court pédoncule, solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de deux ou trois au sommet des branches, s'ouvrent de mai à juillet. Les fleurs du grenadier sont actinomorphes et hermaphrodites. Les fleurs sèches sont sans odeur. Elles ont une saveur âpre et astringente et donnent à la salive une teinte violacée

1. Diagramme floral.

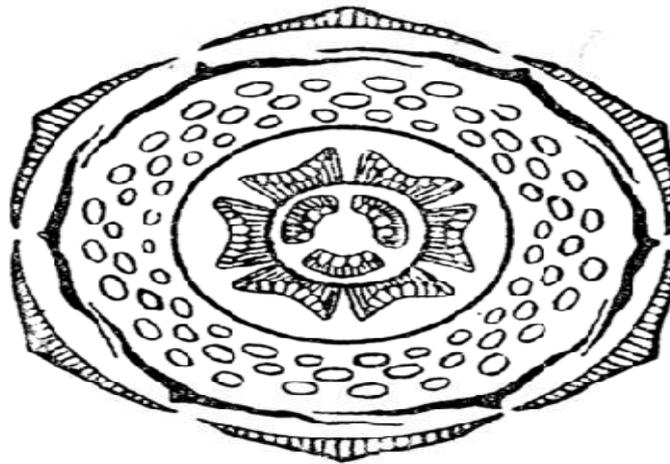


Figure II.1 : Diagramme d'une fleur de *Punica granatum*.

II. 2. L'écorce du fruit.

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée malicorium. Il s'agit de la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. Ces fragments sont de

consistance coriace. Ils sont formés d'un parenchyme de cellules à parois minces, au milieu desquelles on distingue des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente. [12]

II.3. Les Produits fonctionnels dérivés de la grenade

L'étude des composants bioactifs de la grenade et de leurs bienfaits pour la santé humaine est un domaine de recherche de toute actualité et du plus grand intérêt. Il a été constaté, suite à de nombreuses études scientifiques, que la grenade et ses produits dérivés contiennent de nombreux composants pouvant servir à prévenir certaines maladies et à conserver la santé. Généralement, la grenade est consommée fraîche. Cependant, une partie importante de la récolte ne possède pas une qualité visuelle suffisante pour être destinée à la consommation de fruits frais, car le niveau d'acceptation de la part du consommateur serait très bas. Néanmoins, la qualité des arilles, qui constitue la partie comestible du fruit, est similaire à celle des exemplaires ayant une apparence acceptable pour être consommés frais. Concernant cette partie de la récolte, qui n'est pas utilisable pour la consommation fraîche, il est donc nécessaire de chercher une solution commerciale sous forme d'utilisation industrielle. [14]

II.4. composition de la grenade :

II.4.1. Composition Chimique de la Grenade



Figure II.2 : La grenade et ses différentes parties.

Environ 50 % du poids total de la grenade correspond à l'écorce et aux membranes blanches, qui sont une source très importante de composés bioactifs, tels les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins, les proanthocyanidines et les minéraux, essentiellement du potassium, de l'azote, du calcium, du phosphore, du magnésium et du sodium. C'est pourquoi les produits nutraceutiques et les condiments alimentaires élaborés à partir d'extraits d'écorce et de membranes blanches peuvent représenter une source importante de tous ces composés, s'ils ont été élaborés de manière correcte. [12]

II.4.2. Composés Phénoliques

II.4.2.1. Composés phénoliques à faible poids moléculaire

Les composés phénoliques peuvent être divisés en molécules simples, et en polymères de celles-ci ayant un poids moléculaire plus élevé. Parmi les premières il convient de citer les flavonoïdes, qui sont les composés les plus importants de ce sous-groupe; tandis que les anthocyanosides sont les composés les plus représentatifs, responsables de la couleur caractéristique de la grenade. Parmi les composés phénoliques à faible poids moléculaire il faut mettre l'accent sur les acides phénoliques, et parmi ces derniers sur l'acide gallique et l'acide ellagique. [14]

II.4.2.2. Composés phénoliques à poids moléculaire élevé :

Les tanins sont les polyphénols à poids moléculaire élevé les plus caractéristiques. L'écorce de la grenade est riche en tanins hydrolysables, principalement en punicaline, pédunculagine et punicalagine. [14]

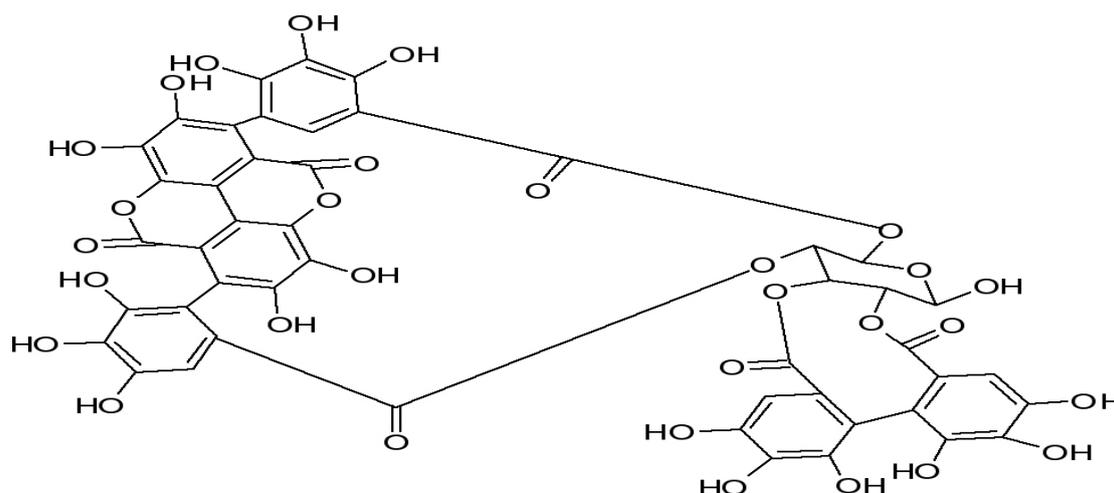


Figure II. 3 : Structure moléculaire de la punicalagine

II.5. Grenade et santé :

En plus de cette présence historique, la grenade a été utilisée pour le traitement de nombreuses maladies dans différents types de médecine. La médecine Ayurveda (hindoue) considère la grenade comme un remède adéquat pour le traitement des parasites, de la diarrhée et des ulcères, et elle est considérée également comme ayant des propriétés épuratives. La grenade sert aussi en tant que remède contre le diabète dans la médecine Unani pratiquée en Inde. L'intérêt considérable qui existe actuellement sur les vertus médicinales et nutritionnelles de la grenade a commencé en l'an 2000 ; dès lors, plus de 200 références ont été publiées à ce sujet, décrivant les bienfaits de la grenade et de ses produits dérivés sur la santé. Auparavant, durant la période allant de 1950 à 1999, seulement 25 publications scientifiques avaient été publiées sur cette matière.

Les propriétés potentiellement thérapeutiques de la grenade sont très vastes, comprenant traitements et prévention contre le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'Alzheimer, les maladies inflammatoires, les maladies buccales et cutanées, l'obésité, les troubles de l'érection ou la diarrhée. Voici à présent, de manière détaillée, les principaux résultats d'une révision bibliographique concernant la littérature scientifique existante jusqu'en 2011, où sont décrites les diverses applications thérapeutiques de la grenade qui ont été énoncées ci-dessus.[15]

II.5.1. Propriétés Antimicrobiennes de la Grenade et de ses Produits dérivés

Il existe de nombreuses technologies de conservation des aliments, certaines en usage depuis très longtemps, qui protègent les aliments de l'altération causée par les micro-organismes. Ainsi donc, les micro-organismes peuvent être inhibés par réfrigération, par réduction de l'activité de l'eau, par acidification, par modification de l'atmosphère du récipient, par traitements non thermiques, ou en ajoutant des composés antimicrobiens.

Les produits antimicrobiens pour usage alimentaire sont des composés chimiques, ajoutés ou naturellement présents dans les aliments, qui retardent la croissance ou provoquent la mort des micro-organismes, augmentant ainsi la résistance à l'altération de la qualité ou de la sécurité des aliments. [16]

Al-Zoreky a démontré que les extraits de l'écorce de grenade constituent un puissant inhibiteur de la croissance de *Listeria monocytogenes*, *Coli* et *Yersinia enterocolitica*. Choi a étudié l'effet *in vivo* et *in vitro* de l'application de diverses concentrations d'extraits d'écorce de grenade pour inhiber la croissance de la *Salmonelle*, en constatant que la dose minimale était de 62,5 mg/L.

En général, la puissance inhibitrice élevée de la grenade et de ses produits dérivés est attribuée à la concentration élevée de composés tels que les polyphénols, les tanins et les anthocyanosides. Des études très récentes ont démontré que l'utilisation de produits dérivés et de sous-produits, comme condiment alimentaire, non seulement améliore sa capacité antioxydante mais garantit aussi une totale innocuité due à la grande capacité de la grenade et de ses extraits dans l'inhibition de l'activité des micro-organismes provoquant la détérioration des aliments. [17]

II.5.2. La grenade et ses effets contre la diarrhée :

Il existe uniquement deux études récentes qui ont mis en évidence l'effet des extraits de l'écorce de grenade sur la prévention de la diarrhée. Ces deux expériences, réalisées sur des rats de laboratoire, ont consisté à appliquer un extrait élaboré à base de peau/écorce de grenade, qui a eu pour effet de diminuer aussi bien le nombre que la masse des déjections. Les

doses proposées par ces derniers pour le traitement d'une maladie étaient de 400 mg/kg de poids corporel. [18]

III.1. L'objectif de l'étude

L'objectif principal de cette étude est la contribution, dans l'identification du mécanisme d'action (anti reflux par formation de radeau et antiacide par neutralisation) d'une espèce végétale « la grenade », connue depuis longtemps pour ses vertus thérapeutiques pour le traitement des troubles digestifs dans la médecine traditionnelle.

Cette étude comprend également des objectifs spécifiques :

- Effectuer une étude chimique du fruit (l'écorce de grenade) en vue d'établir une relation entre les substances chimiques identifiées dans la plante et certaines propriétés thérapeutiques intéressantes
- l'extraction des principes actifs de l'écorce de grenade par différentes méthodes d'extraction.
- Expliquer le mécanisme d'action des extraits pour agir instantanément contre l'acidité gastrique par établissement des profils de neutralisation et comparer leur efficacité à certains médicaments antiacides connus et existant sur le marché mondial.

III. 2. Préparation et conservation de l'écorce du fruit:

Les écorces fruits de la saison d'automne 2013 ont été soigneusement séchées à l'étuve pendant une semaine puis réduites en poudre par une série de broyages à l'aide d'un mixeur. La poudre de l'écorce ainsi obtenue est conservée à l'abri de l'air et de l'humidité.

III.3. Extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer, de dissoudre soit par immersion soit par percolation d'un liquide, un ou plusieurs composants (liquide ou solide) mélangés à un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide, qui contient la matière à extraire et une phase liquide : le solvant d'extraction. [11]

Cette opération est utilisée dans la préparation de produits alimentaires, pharmaceutiques, drogues, teintures ou parfums où elle prend des différentes dénominations. De la percolation à l'infusion en passant par la macération ou la décoction, chaque terme évoque une mise en œuvre domestique d'un procédé d'extraction solide-liquide, dont le solvant est généralement de l'eau ou de l'alcool. [12]

A. Extraction par macération :

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

La méthode d'extraction de routine employée est la macération successive par des solvants : l'eau et alcools. La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale dont nous disposons (dans notre cas, 150ml de solvant pour 10 g de poudre). Pour la solution éthanoïque (éthanol 75 % + eau 15%)

L'extraction est effectuée trois fois pour chaque solvant pendant 4 heures, puis on mesure les valeurs de pH pour les deux solutions (aqueuse, éthanolique) en fonction de temps

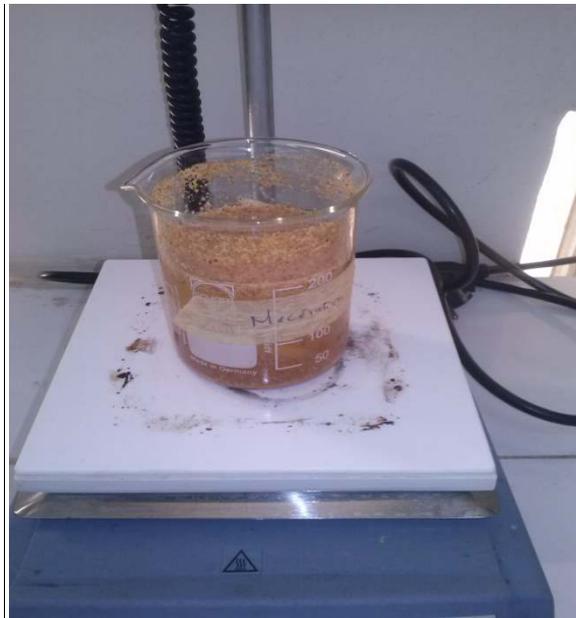


Figure III.1 : photo du montage de l'extraction par macération

La figure ci-dessous illustre les variations du pH

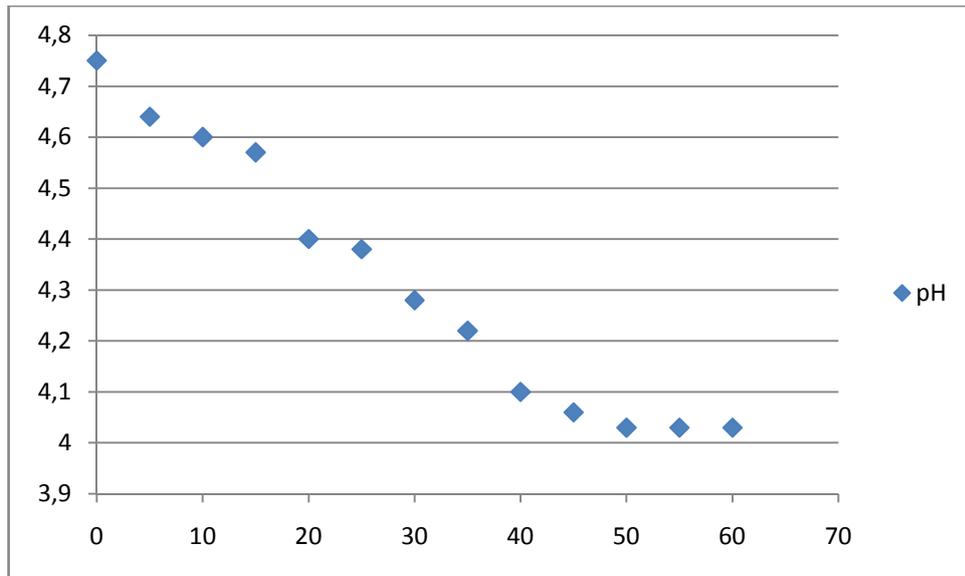


Figure III.2 : la variation du pH de l'écorce en fonction du temps

A la lumière de cette figure, on remarque que les pH de l'extrait au cours du temps varie entre 4,8 et 4, valeurs très comparables à celles des antiacides commerciaux, ce qui laisse penser que les extraits de l'écorce de grenade réagissent bien par neutralisation.

B .Extraction par décoction :

La décoction : une opération qui consiste de chauffer la poudre du matériel végétal avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température élevée, T d'ébullition 80°C

On fait dissoudre 10 g de poudre de la matière végétale dans un 150 ml de solvant, puis on mesure les valeurs de pH en fonction de temps pour chaque extraction.

La figure ci-après illustre le montage expérimental de la décoction



Figure III.3 : photo du montage de l'extraction par décoction

Comme mentionné précédemment, les pH de l'extrait en fonction du temps d'extraction ont été mesurés et sont représentés sur la figure ci-dessous :

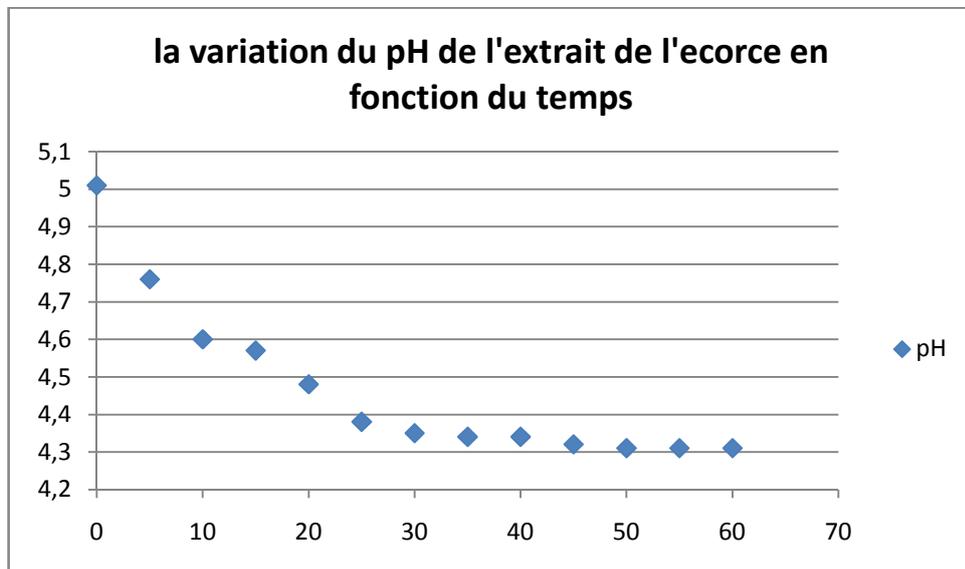


Figure III.4 : la variation du pH de l'extrait de l'écorce en fonction du temps

De même, les pH des extraits varient entre 5 et 4.3 et comparables aux antiacides commerciaux. Notons que ce type d'extraction se rapproche plus de la réalité car dans la

médecine traditionnelle, les écorces de grenades sont généralement consommées en tant que tisane et c'est le principe de la décoction.

III.4. Détermination de la matière sèche, minérale et organique :

Afin d'identifier les principaux composants de l'écorce de grenade, une étude phytochimique, cette étude est indispensable pour toutes les matières végétales, elle consiste à déterminer les taux de matière sèche, minérale et organique.

III.4.1. La matière sèche :

La matière sèche est déterminée selon la norme NF B 51- 004, à partir d'une masse $E=3g$ de matière végétale introduite dans un creuset taré, puis séchée dans une étuve à $105^{\circ}C$ jusqu'à poids constant. Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset est pesé. Le taux de matière sèche est : [18]

$$M.S. (\%) = (S : E) \times 100$$

M.S.= taux de matière sèche

S = masse du creuset sorti dessiccateur moins la tare

III.4.2. La matière minérale ; les cendres :

La matière minérale est déterminée selon la norme T 211 om-93, à partir du creuset contenant la matière sèche (hémicelluloses extraites). Celle-ci est introduite dans un four à $550^{\circ}C$ durant 3 heures. Le creuset est pesé après refroidissement dans un dessiccateur. La fraction de matière minérale est donnée par la relation:[18]

$$M.M. (\% \text{ matière initiale}) = (m : E) \times 100$$

$$M.M. (\% \text{ matière sèche}) = (m:S) \times 100$$

M.M. = matière minérale

m = masse du creuset après refroidissement tare

S = masse du creuset sorti du dessiccateur moins la tare

E = masse de la matière végétale

III.4.3. La matière organique

La matière organique est déterminée par différence entre la matière sèche et la matière minérale.

$$M.O. (\% \text{ matière initiale}) = (S-m)/E \times 100$$

$$M.O. (\% \text{ matière sèche}) = (S-m)/S \times 100$$

M.O. = matière organique

m = masse du creuset après refroidissement moins la tare

S = masse du creuset sorti du dessiccateur moins la tare

E = masse de la matière végétale [18]

III.5. Les résultats de caractérisation phytochimiques de la matière végétale :

III.5.1. Détermination des taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique :

Tableau III.1: les taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique

Taux de matière sèche	Taux d'humidité	Taux de matière organique
90.23%	9.76%	80.55%

On remarque bien que la matière végétale, objet de notre étude présente une tendance organique avec un taux de 80.55%, la caractérisation de ces différentes familles s'avère une étape importante.

III.6. Les méthodes d'analyses chimiques des extraits :

III.6.1. Les réactions de détection des familles chimiques :

III.6.1.1. Préparation des réactifs : La détection des différentes familles de composés chimiques nécessite au préalable la préparation des différents réactifs

- ✓ Réactif de Dragendorff : utilisé pour la détection des alcaloïdes.

Faire bouillir 14g d'iodure de sodium avec 5.2 g de carbonate de bismuth basique dans 50mL d'acide acétique glacial pour quelques minutes. Laisser reposer durant une nuit .séparer le précipité d'acétate de sodium du filtrat à 40mL du filtrat rouge-marron ,ajouter 160mL et 1Ml d'eau .stoker cette solution à l'ombre. En cas de besoin, ajouter 20mL d'acide acétique à 10mL de cette solution puis remplir jusqu'à 100ml avec de l'eau.

- ✓ Réactif d'Hager : une solution aqueuse standard d'acide picrique est utilisée pour la détection des alcaloïdes.

-
- ✓ Chlorure ferrique alcoolique: une solution à 5% M/V de chlorure ferrique dans 90% d'alcool est utilisée pour la détection des phénols.
 - ✓ Réactif de Mayer: il est utilisé pour la détection des alcaloïdes.

Dissoudre 1.36g de chlorure mercurique dans 60ml d'eau(A).Dissoudre 5g d'iodure de potassium dans 20ml d'eau distillée(B), mélanger ((A) avec (B) et ajuster le volume à100ml avec de l'eau distillée.

- ✓ Réactif de Molisch: Il est utilisé pour la détection de carbohydrates.

Dissoudre 10g d'alpha-naphthol dans 100 ml d'alcool à 95%.

- ✓ Réactif de Wagener: Il est utilisé pour la détection des alcaloïdes. Dissoudre 1.27g d'iode et 2g d'iodure de potassium dans 5 ml d'eau distillée et compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée.[87]

III.6.2. Screening phétochimique:

- Tests pour les alcaloïdes: mélanger une petite quantité d'extrais aqueux ou alcoolique séparément avec quelques gouttes de HCl dilué puis filtrer. Le filtrat est testé grâce à plusieurs réactifs des alcaloïdes. Le réactif de Mayer (précipité crème), le réactif de Dragendorff (précipité marron-orange), le réactif de Hager (précipité jaune), le réactif de Wagener (précipité marron-rougeâtre)
- Test pour les carbohydrates: Dissoudre une quantité (200mg) de l'extrait aqueux et alcoolique séparément dans 5mL d'eau distillée puis filtrer, le filtrat est testé avec le réactif de Million
- Test de Millon: à 2-3 ml d'extrait aqueux, Ajouter quelques gouttes d'alpha-naphtol en solution alcoolique, mélanger, Ajouter H₂SO₄ conc sur les côtés du tube. Un anneau violet se forme à la jonction des deux liquides.
- Test de Fehling: Mélanger 1 ml de Fehling A et 1 ml de Fehling B, faire bouillir pendant 1 minute. Ajouter un volume égal de solution d'essai. Faites bouillir dans un bain-marie pour 5-10 minutes. Une précipitation d'abord jaune, brique, puis rouge sera observée.

-
- Tests pour les glycosides: Hydrolyser une petite portion de l'extrait avec l'acide chloridrique pour quelques heures dans un bain marie, faire les tests de Liebermann- Burchard's, Legal et de Borntrager sur l'hydrolysat.
 - Test de Liebermann- Burchard: mélanger 2 mL d'extrait avec 2mL de chloroforme, ajouter 2mL d'anhydride acétique et 2 gouttes de H₂SO₄ sur les côtés du tube à essai. Une couleur d'abord rouge, bleue puis verte apparaît.
 - Test de Legal': ajouter à l'extrait aqueux ou alcoolique, 1 ml de pyridine et 1 ml de nitroprussiate de sodium. Une couleur rose ou rouge apparaît.
 - Test de Borntrager: Pour 3ml d'extrait aqueux, ajouter H₂SO₄ dil. Faire bouillir et filtrer. ajouter un volume égal de benzène ou le chloroforme. Agitez bien. Séparez le solvant organique, ajouté de l'ammoniaque. La couche ammoniacale devient rose ou rouge.
 - Test pour les composés phénoliques et les tanins: à 2ml de l'extrait aqueux ou alcoolique
 - ajouter quelques gouttes de réactifs suivants :
 - a) solution de FeCl₃ à 5%: couleur bleue-noire foncée.
 - c) solution de Gélatine: ppt blanc.
 - e) solution d'acide Acétique: solution de couleur rouge.
 - f) dichromate de Potassium: ppt rouge
 - g) solution dil d'iode: couleur rouge transitoire.
 - h) une goutte de NH₄OH, un excès de solution de AgNO₃ à 10%. Chauffer pour 20min dans un bain–marie bouillant :ppt blanc puis observer une miroir d'argent sur les cotés du tube à essai
 - Tests pour les saponines: test de mousse. [88]

III.7. Les résultats d'analyses chimiques des extraits :

III.7.1 Les résultats des screening de détection des constituants chimiques :

Les résultats sont illustrés sur le Tableau III.2

Les tests phétochimiques qualitatifs des extraits de l'espèce végétale étudiée indiquent la présence de produits naturels usuels dans l'écorce. Les extraits éthanoïques et

aqueux sont riches en alcaloïdes et en tanins, aucun extrait n'a montré la présence de flavonoïdes, saponines ni de glycosides, cependant quelques travaux ont confirmé leur présence à faible teneur, ce qui nécessite des analyses quantitatives.

Tableau III.2 : résultats de criblage chimique

	Tests	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque
1	<i>Alcaloïdes</i>		
	Test de Dragendorff	+	-
	Test de Mayer	+	+
	Test de Hager	+	+
	Test de Wagner	-	-
2	<i>Carbohydrates</i>		
	Test de Fehling	+	+
	Test de Molish	+	+
3	<i>Tannin et Composés phenoliques</i>		
	Solution FeCl ₃ 5%	+	+
	Solution de Gelatine	+	+
	Solution d'Acide Acétique	+	+
	Solution de Bichromate de Potassium	+	+
	Solution diluée d'Iode	+	+
4	<i>Glycosides</i>		
	Test de Liebermann-Burchard	-	-
	Test de Legal	-	+
	Test de Borntrager	-	-
5	<i>Flavonoïdes</i>		
	Test de SHIBATA	+	-
	Test de Shinoda	-	-
6	<i>Saponines</i>		
	Test hémolytique	-	-
	Test de mousse	-	-
Ph		4.64	4.60

III.8.Caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade :

La propriété d'un anti reflux du médicament se traduit par sa capacité de formation d'un radeau sous forme d'un gel visqueux qui surnage au niveau du contenu gastrique et protège la muqueuse œsophagienne lors des épisodes de reflux. En vue déterminer la capacité de formation du radeau de l'extrait de l'écorce, on introduit 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1M dans un bécher de 250ml ayant un diamètre interne de 60mm à 70mm, maintenir à une température de 36,5°C à 37,5°C dans un bain-marie, en prenant la précaution d'ajuster le volume d'eau du bain au même niveau que celui de l'acide dans le bécher, utilisant une seringue sans aiguille, une quantité équivalente à 20ml de l'extrait du l'écorce précédemment agitée est prélevé et introduite rapidement au centre de bécher, le contenu est analysé après 30mn. La figure ci-après illustre le montage expérimental utilisé dans cette partie



Figure III.5 : Montage expérimental de la formation du radeau

Visuellement, on voit bien que le radeau ne se forme pas, donc on peut conclure que notre extrait ne présente pas d'activité anti reflux. La figure ci-après confirme bien ce résultat



Figure III.6 : photo de formation du radeau

III.9.Caractérisation de l'activité antiacide

L'activité antiacide est évaluée par la neutralisation de l'acidité gastrique. Pour cela, on a effectué une étude de profil de neutralisation moyennant les extraits de l'écorce de grenade afin de confirmer si ces derniers agissent par neutralisation ou non ?

Le test du profil de neutralisation in vitro simule l'effet de l'extrait de l'écorce au niveau de l'estomac en présence des sécrétions gastriques. Il est réalisé en introduisant 20 ml du HCl(0,1M) dans un bécher maintenu à 37°C. L'extrait végétal est pompé continuellement dans le bécher sous agitation constante. Le contrôle du pH est effectué en fonction du temps afin de réaliser la cinétique de neutralisation. La figure ci-après illustre le montage expérimental réalisé pour le profil de neutralisation.



Figure III.7 : Montage du profil neutralisation

III.10. La neutralisation avec l'extrait par macération

Le profil de neutralisation moyennant l'extrait de l'écorce récupéré par la méthode de la macération est présenté sur la figure suivante qui montre la variation du pH en fonction du temps

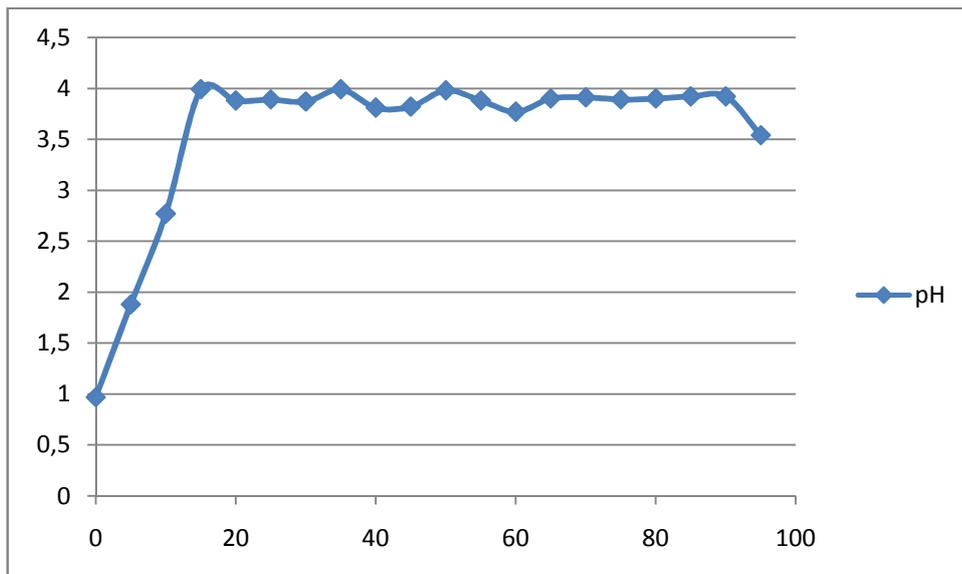


Figure III.8 : Profil de neutralisation de l'extrait de l'écorce

A la lumière de cette figure, on remarque que le pH augmente d'une très faible valeur jusqu'à atteindre la valeur aux alentours de 4, valeur comparable à l'action des \geq Des études réalisées au niveau de notre laboratoire pour la classification des actions antireflux/antiacide des antiacides commerciaux existant sur le marché, montrent bien que nos l'action de nos extraits est comparable à ces produits, ce qui confirme encore que les extraits de l'écorce de grenade agissent par neutralisation. Les principaux résultats sont illustrés sur le tableau ci-après :

Tableau III.3 : efficacité de neutralisation des antiacides commerciaux [5]

Antiacide	pH	Durée d'action
Gaviscon	≥ 3	15 min
Sailox	≥ 3	20 min
Malox	≥ 3	20 min
Extrait de grenade	≥ 4	30min

L'action des extraits de grenade est comparable aux antiacides commerciaux avec une efficacité moins rapide et qui sera compensée par d'autres paramètres

III.11.Extrait obtenu par décoction

Le profil de neutralisation par les extraits de l'écorce de grenade est illustré sur la figure ci-après. Les résultats montrent qu'il est comparable à celui obtenu précédemment et montre l'effet notable sur les acides gastriques au bout de 100min. En effet, au bout de quelques minutes, le patient sentira un soulagement qui se manifeste par une augmentation du pH

D'une autre part, les résultats comparables pour les extraits obtenus par les deux méthodes laissent supposer que les composés chimiques responsables de l'activité antiacides ne sont pas affectés par la chaleur dans le cas de la décoction et peuvent être obtenus même dans le cas de la macération

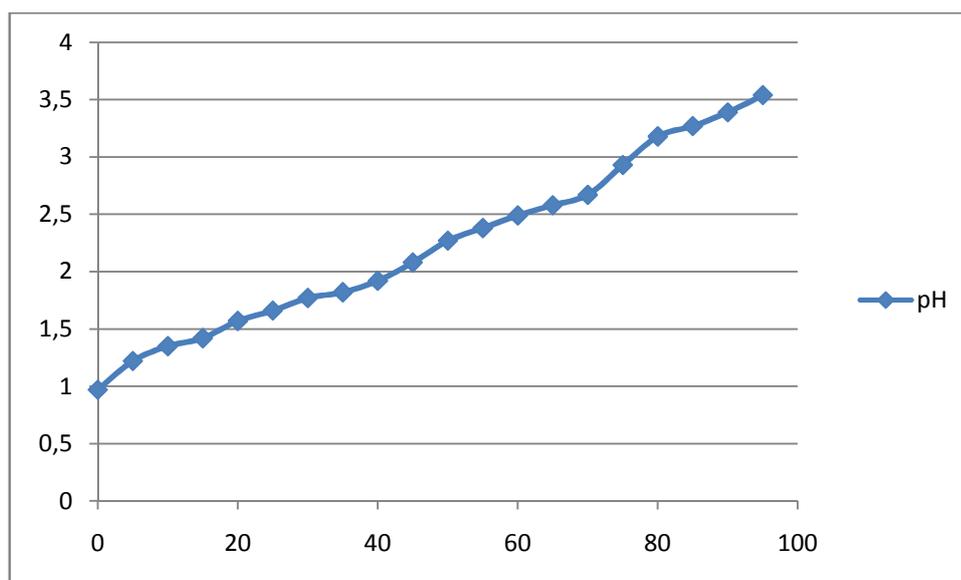


Figure III.9 : Profil de neutralisation de l'extrait de l'écorce

III.12.Extraction des tannins

Les résultats obtenus précédemment et compte tenu de la littérature, une forte probabilité que ce sont les tannins qui sont responsables de cette activité antiacide et dans cette étape de notre étude, nous avons focalisé nos efforts sur cette classe de composés chimique et leurs mécanismes d'actions

L'extraction des tanins a été effectuée selon la méthode adaptée par Zhang *et al*, [7] 2,5g de poudre de matériel végétal a été introduite dans 50 ml du mélange acétone/eau distillée (35/15, V/V) et laissée durant trois jours à une température ambiante. La solution est ensuite filtrée et les solvants évaporés à 40°C dans un rotavapeur type buchi r-200 pour éliminer. La phase aqueuse est lavée par 15 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite deux fois avec 15 ml d'acétate d'éthyle. Le mélange des deux phases est évaporé à sec à 40°C par le rotavapeur type puis pesé et repris par 3 ml de méthanol. La procédure est schématisée ci-après (Figure 10).

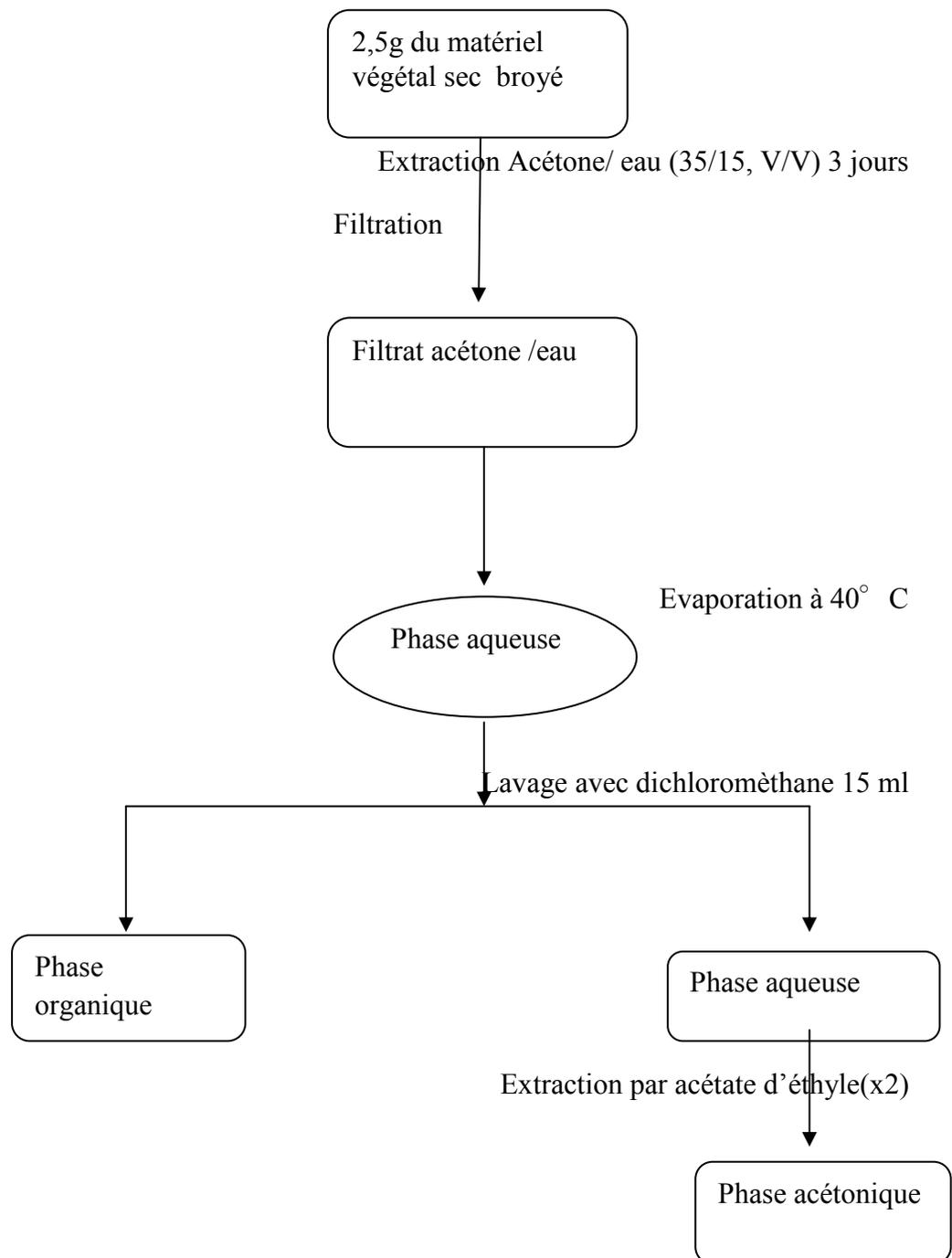
**Figure III.10** : Protocole d'extraction des tanins



Figure III.11 : Montage de l'extraction par rota vapeur

Après l'évaporation on dissout 2,5g dans 50g d'eau distillé et on fait la neutralisation

La variation du pH en fonction du temps avec les tanins présenté sur la figure ci-après

Le profil de neutralisation par les tanins est présenté sur la figure ci-après qui montre bien la variation du pH en fonction du temps. En effet, il semble que notre supposition est raisonnable et justifiée par les résultats

Au bout de (20 min, le pH de l'estomac devient normal avec une valeur de 4, pour cette valeur, le patient se sentira très à l'aise et tous les acides sécrétés par l'estomac sont neutralisés et ne reste que les acides utilise pour la digestion.

Aussi, en comparaison aux extraits bruts, le profil est plus rapide dès les premières minutes et s'éloigne des effets indésirables causés par les sécrétions gastriques

Notons aussi que le contenu gastrique est très complexe et beaucoup de phénomènes peuvent interférer.

La figure ci-après illustre le profil de neutralisation des tannins en présence d'HCl

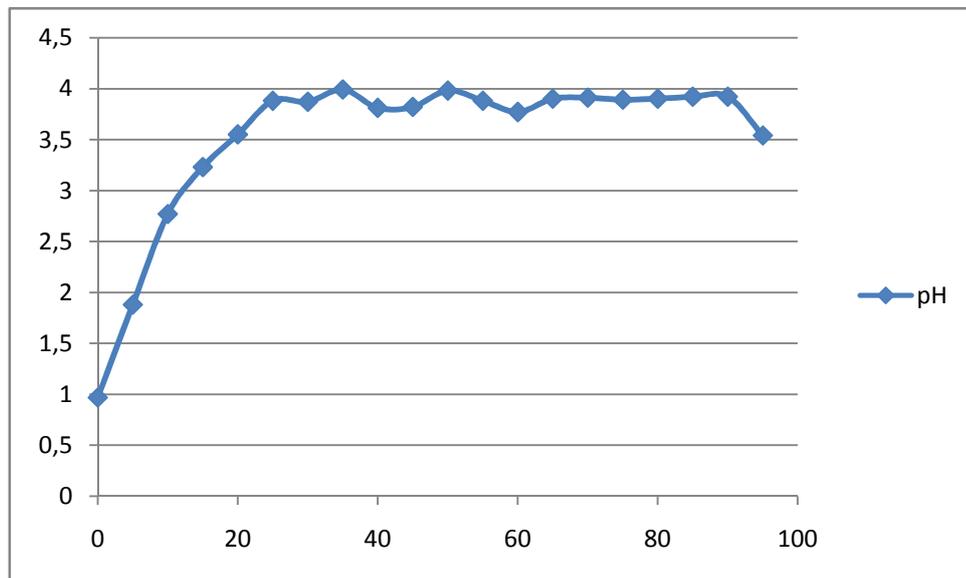


Figure III.12 : profil de neutralisation avec les tanins

Notons aussi que l'action des tisanes à base des écorces de grenade est très prolongée plusieurs heures. Cette action peut résulter du rôle que peuvent manifester les tannins en tant que pansements gastriques. C'est ainsi que l'intervalle 3-4 a été atteint au bout de 25 minutes ce qui prouve l'action neutralisante rapide des tannins

Enfin, il est clair et prouvé par cette étude préliminaire que les écorces de grenade utilisée comme tisane pour lutter contre l'acidité gastrique agit par un mécanisme de neutralisation et les tannins contenus dans les extraits sont à l'origine de leur grande efficacité à l'égard des acides gastriques renferment des groupements fonctionnels conférant à ces structures le rôle des bases fortes ; ceci peut être mis en évidence par des analyses spectroscopiques tels que l'infrarouge et l'HPLC

L'action antireflux n'a pas été mise en évidence et donc les extraits de grenade agissent au niveau de l'estomac et non au niveau de l'œsophage

Reste à trouver la meilleure forme galénique pour la formulation d'un médicament à base des écorces de grenade et trouver ses indications thérapeutiques.

Introduction générale

“ **L'estomac est le siège de toutes les maladies**” une réalité scientifique sur l'importance majeure de cet organe dans l'organisme, il peut causer tous types de souffrances, et même la menace directe de la vie humaine , par conséquent, les chercheurs s'intéressent dans leurs travaux de recherche non seulement à traiter les maladies du système digestif mais aussi comprendre les mécanismes de fonctionnement de cet organe dans le corps humain et son interaction avec les différentes formes médicamenteuses, cette compréhension scientifique reste le seul moyen pour résoudre les problèmes de santé en général et particulièrement les problèmes digestifs.

Parmi les maladies gastriques dont souffrent l'Homme : les gaz, le cancer, **l'acidité accrue** aux différents sites des systèmes digestifs.....etc. De nombreux moyens thérapeutiques pour y remédier dans l'immédiat dont les spécialistes recommandent en termes d'efficacité et parmi les plus intéressants, on cite la prescription de médicaments antiacides qui reste la seule solution pour soulager les crises et les douleurs.

De nos jours, les personnes souffrant régulièrement de brûlures gastriques peuvent obtenir un traitement simple et efficace pour soulager leurs symptômes, en utilisant les antiacides qui sont offerts en vente libre.

Dans cette gamme apparaissent les tisanes à base de plantes qui diminuent les symptômes en neutralisant l'acidité gastrique ou en isolant la zone inflammatoire par formation d'un radeau.

D'une part, les Hommes ont dorés et déjà puisé dans la nature de quoi se nourrir, se vêtir et se soigner. Les plantes produisent 70% de nos médicaments. Déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées et répertoriés. [3]

D'une autre part, depuis une quinzaine d'années, la chimie verte a connu un développement considérable à un niveau mondial et dans la plupart des domaines de recherches afin d'atteindre un mode de développement qui vise à répondre aux besoins

actuels sans compromettre la capacité des générations futures à répondre aux leurs besoins.

Parmi les espèces végétales réputée pour ses vertus thérapeutiques ; l'arbre *grenade* connue depuis des décennies par les populations qui ont toujours utilisé ses **écorces** dans la médecine traditionnelle.

Pareilles à la menthe, les écorces de grenade agissent rapidement pour soulager les douleurs intestinales par un effet approuvé par les spécialistes des médicaments qui ont introduit la menthe dans des formulations antacides à savoir le Gaviscon menthé existant dans les marchés européens.

Dans ce contexte précis, notre présente étude porte sur la contribution à l'identification du mécanisme d'action (antireflux par formation d'un radeau ou antiacide par neutralisation) des écorces de menthe et de détecter les différents composés chimiques à l'origine de l'efficacité contre les douleurs d'estomac pour envisager dans le futur une formulation à base de matières végétales.

Ce présent mémoire a été structuré comme suit :

- ✓ Une partie bibliographique englobant des notions théoriques sur les antiacides, des généralités anatomiques et physiologique sur l'estomac comme organe cible de cette étude et un chapitre décrivant la grenade et ses différentes utilisations.

- ✓ Une partie expérimentale comportant plusieurs étapes :
 - La première consacrée à étudier la variation du pH en fonction du temps moyennant différentes méthodes d'extraction.
 - Une deuxième qui consiste à la réalisation d'un montage expérimental pour une étude paramétrique en mode in vitro d'établir les profils de neutralisation pour mettre en évidence l'efficacité des extraits de grenade et les comparer à celle des médicaments antiacides existant dans le commerce.

- ✓ Enfin, nous achevons cette recherche par une conclusion générale dans la quelle on exposera les différents résultats qui se dégagent à l'issue de cette étude et surtout par des recommandations et des perspectives à envisager pour la continuité de cette étude afin d'exploiter au maximum les excellentes propriétés de cette richesse naturelle.

Annexe

Résultats de la variation du pH en fonction du temps (méthode de la macération) :

pH	Temps (min)
4.75	0
4.64	5
4.60	10
4.57	15
4.40	20
4.38	25
4.28	30
4.22	35
4.10	40
4.06	45
4.03	50
4.03	55
4.03	60

La variation du pH de l'extrait en fonction du temps (méthode de décoction) :

pH	Temps (min)
5.01	0
4.76	5
4.60	10
4.57	15
4.48	20
4.38	25
4.35	30
4.34	35
4.34	40
4.32	45
4.31	50
4.31	55
4.31	60

La neutralisation avec l'extrait de l'écorce par macération

La variation du pH en fonction du temps

pH	Temps (min)
0,97	0
1,2	5
1,33	10
1,42	15
1,54	20
1,65	25
1,73	30
1,88	35
1,95	40
2,11	45
2,24	50
2,33	55
2,43	60
2,54	65
2,72	70
2,9	75
3,11	80
3,24	85
3,36	90
3,45	95

Les caractéristiques :

<u>Produit ou réactif</u>	<u>marque</u>	<u>caractéristique</u>
-Ethanol 96%	Panreac	CH ₃ CH ₂ OH M=46,07 D≈0.8051 ≈0.8124
-Fehling's A	Panreac	Composition : -Copper (III) sulfate 5 hydrates 48,3 g -acide sulfurique 96% 1ml -eau s.q.m 1L
-Fehling's B	Panreac	Composition : -Sodium hydroxyde 90g -Potassium sodium -Tartrate 4-hydrate 300g -eau s.q.m 1L
-Acide perique	Quimicen	C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ Toxique Aspect cristallin Soluble dans l'eau éthanol , benzène le chloroforme et l'ether
-Chlorure mercurique		Hg ₂ cl ₂ M=472,09 99.6%Hg ₂ cl ₂
-Chlorure ferrique	FlukaAG Chemische Fabrik	Fecl ₃ M=162.21
-Sodium nitro-prosside dihydrate	Fluka	C ₅ FeN ₆ Na ₂ O.2H ₂ O Mr=297.95
-Sodium dichromate	BIOCHEM Chemopharma	K ₂ Cr ₂ O ₇ Toxique
-Acide chloridrique 37%	Panreac	Hcl M=36.46
-Chloroforme	Panreac	CHcl ₃

Notations et Abréviations

pH	Potentiel hydrogène.
SOI	sphincter œsophagien inferieur
HCL	acide chlorhydrique
HP	Helicobacter pylori
RGO	Reflux gastro-œsophagien
RTSIO	Relâchement transitoire du sphincter inferieur de l'œsophage.
M.S	taux de matière sèche
M.M	matière minérale
M.O	matière organique
Fecl ₃	Chlorure ferrique
CHcl ₃	Chloroforme
Hg ₂ cl ₂	Chlorure mercurique
E	Masse de la matière végétale

Conclusion générale

L'objectif principal de cette présente étude est de contribuer à identifier le mécanisme d'action antireflux/antiacide des extraits de grenade et de comparer la durée d'action à celle des antiacides commerciaux.

A l'issue de cette étude, il semble à ce niveau que les extraits de grenade agissent au niveau de l'estomac (action antiacide) et non dans l'œsophage (action antireflux) et ceci par l'absence totale de formation de radeau ; néanmoins cette étape reste à approfondir pour confirmer cette hypothèse

A la lumière des résultats, il ressort que :

- ✓ L'extraction par décoction n'altère pas les propriétés chimiques des composés extraits et a donné des résultats comparables à ceux obtenus par le procédé de macération. Notons ici que l'extrait obtenu par décoction se rapproche plus de la réalité car les écorces de grenade sont consommées en tant que tisane pour soulager les douleurs d'estomac.
- ✓ L'étude phytochimique de cette espèce végétale révèle l'existence de plusieurs familles chimiques, ce qui peut expliquer ses vertus thérapeutiques.
- ✓ L'étude in-vitro des mécanismes d'action in-vitro par établissement des profils de neutralisation en simulant une solution d'HCl aux sécrétions gastriques a mis en évidence l'action immédiate des extraits dans la neutralisation se situant entre 3 et 4 au bout de 30 minutes, ce résultat est proche de celui trouvé dans des études similaires avec des antiacides commerciaux (Sailox, Malox et Gaviscon)
- ✓ L'établissement des profils de neutralisation par les tannins extraits laisse supposer que cette classe chimique est fortement basique et est responsable de l'action de neutralisation. C'est ainsi que le $\text{pH} \geq 3$ a été obtenu au bout de 20min, ce qui semble être très prometteur pour envisager une formulation à usage pharmaceutique.

Enfin, cette étude préliminaire ouvre grandement la voie pour envisager une application thérapeutique des extraits de grenade en réalisant des tests plus orientés et qui se rapprochent plus des normes internationales ; il s'agit de :

- Identifier les différentes classes de composés chimiques existantes dans cette espèce végétale par des méthodes spectroscopiques et physico-chimiques et envisager d'autres applications thérapeutiques autres que l'action antiacide mise en évidence dans cette présente étude.
- Optimiser les conditions opératoires d'une formulation thérapeutique moyennant la stratégie des plans d'expériences
- Mettre en évidence toutes les activités biologiques des extraits (anti-inflammatoire, antifongique, antioxydante, antimicrobienne etc.) par des tests in-vivo

Enfin, la valorisation des espèces végétales existant dans notre pays permet l'enrichissement des bases de données sur les plantes médicinales par une espèce végétale non très étudiée qu'est la grenade et ainsi, en plus des fruits délicieuses, les écorces peuvent servir en tant que remède médical au lieu d'être déchet solide nuisibles pour l'environnement