

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Blida 1  
Faculté de Technologie  
Département de Génie Des Procédés**



**MEMOIRE DE MASTER 2 PROFESSIONNEL**

**En Génie Des Procédés**

**Spécialité: Pharmacie Industrielle**

**Evaluation des activités biologiques et  
thérapeutiques des écorces de grenade**

Présenté par  
Khanouche Ali

Proposé et Dirigé par  
Pr. A. Hadj-Ziane-Zafour

Blida, Juillet 2021



**ملخص :** الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مستخلصات قشرة فاكهة الرمان في المختبر للخاصية المضادة للأحماض الأكسدة و الميكروبات. بحيث أظهرت عمليات الاستخلاص بالنقع والغلي نفس النتائج من حيث المرودية و التي وصلت بنسبة 30%. كما بينت نتائج الدراسة الكيميائية النباتية وجود نسبة عالية من المادة العضوية 80.55% و أكدت وجود البوليفينول والعفص. وتبين أن مستخلصات قشور الرمان تعمل على تعديل أحماض المعدة بدرجة حموضة منظمة وصلت حتى 3.5 وهذا بكمية قليلة من المستخلص. كما تم إثبات أن لمستخلص قشور الرمان نشاط قوي كمضاد للأكسدة، و نشاط مضاد للجراثيم ضد أنواع معينة من البكتيريا والفطريات.

الكلمات الدالة. الرمان - استخلاص - نشاط بيولوجي - مضاد للميكروبات - مضاد للحموضة - مضاد للأكسدة.

**Abstract :** The objective of this present study is to evaluate, in vitro, the anti-acid, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from the peel of pomegranate fruit. The maceration and decoction extraction processes showed the same results in terms of yields of around 30%. The results of the phytochemical study revealed a high percentage of organic matter 80.55%, and confirmed the existence of polyphenols and tannins. The neutralization profiles showed that the pomegranate extracts act by neutralization on gastric acids with pH regulated to 3.5 at a concentration of a few mg. The bark extract has also been shown to have very high antioxidant and antibacterial activity against certain bacteria and fungi.

Keywords. Pomegranates-extraction-biological-antimicrobial-antacid-antioxidant activity

**Résumé :** L'objectif de cette présente étude est d'évaluer, in vitro, les activités anti-acide, antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'écorce du fruit de grenade. Les procédés d'extraction par macération et décoction ont présenté les mêmes résultats en termes de rendements de l'ordre de 30 %. Les résultats de l'étude phytochimique ont révélé un fort pourcentage de matières organiques 80.55%, et ont confirmé l'existence des polyphénols et des tanins. Les profils de neutralisation ont montré que les extraits de grenade agissent par neutralisation sur les acides gastriques avec des pH régulés à 1.5 à une concentration de quelques mg. L'extrait de l'écorce a également prouvé une activité antioxydante atteignant très élevée et antibactérienne contre certain bactéries et champignons.

Mots clés. Grenades-extraction-activité biologique-antimicrobienne-antiacide-antioxydante

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

- A la mémoire de mon père ;
- A ma chère mère ;
- A mes sœurs ;
- A mes frères ;
- A toute ma grande famille ;
- A tous mes amis ;
- A tous mes collègues de travail ;
- A tous ceux qui nous sont très chers.

ALI

# *Avant Propos*

Ce travail a été réalisé au laboratoire 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».

Je remercie également le staff administratif du département de Génie Des Procédés pour cette opportunité offerte afin que je puisse m'insérer dans le système LMD

Aussi, je tiens à témoigner de ma profonde gratitude à mes responsables au niveau de mon lieu de travail au Direction Régionale du Commerce de Blida pour m'avoir autorisé et de bonne volonté pour poursuivre mon cycle de formation universitaire.

Aussi, je ne saurai oublier tous les enseignants du département et particulièrement ceux et celles qui ont assuré notre formation en S3 au cours de cette année en master 2 pharmacie industrielle.

Merci à tous(es) les membres du Jury qui ont bien voulu juger ce modeste travail,

Enfin Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, le staff technique du département et toute l'équipe du laboratoire de Génie Chimique

## TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....1

### Chapitre

I. Généralités sur la grenade ( <i>punica granaturme</i> ) :.....	3
I. 1. Origine géographique : .....	3
I. 2. Nomenclature : .....	3
I. 3. Historique de la grenade : .....	3
I. 4. Description botanique : .....	4
I. 4. 1. Arbre de grenadier : .....	4
I. 4.2. Feuille : .....	5
I. 4. 3. Fleur : .....	5
I. 4. 4. Le fruit : .....	5
I. 4. 5. Les graines : .....	6
I. 4. 6. L'écorce de grenade : .....	6
I. 5. Compositions chimiques de l'écorce de grenade : .....	7
I. 5.1. Composés phénoliques de la grenade : .....	8
I. 5.2. Polyphénols : .....	9
I. 6. Propriétés thérapeutiques des grenades ( <i>Punica granatum L</i> ) : .....	11
I. 6.1. Activités antioxydantes de la grenade : .....	11
I. 6.1. 1. Action préventive des maladies cardiovasculaires : .....	12
I. 6.1. 2. Inhibition de l'oxydation des LDL : .....	12
I. 6.1. 3. Action anticancéreuse : .....	12
I. 6.2. Activité antimicrobien : .....	13
I. 6.3. Prévention des maladies digestives : .....	14

## Chapitre II

II. Système digestif et ses composantes : .....	15
II.1. L'estomac : .....	15
II.1.1. La sécrétion acide gastrique: .....	16
II.1.1.1. Les cellules pariétales: .....	16
II.1.1.2. Mécanisme de la Sécrétion Acide.....	16
II.1.1.3. Les phases de la sécrétion gastrique : .....	17
II.1.1.3.1. La phase gastrique : .....	17
II.1.1.3.2. La phase intestinale: .....	18
II.2. Inhibition de la sécrétion acide gastrique : .....	18
II.2.1. Le mécanisme antral de retro-contrôle négatif pH-dépendant : .....	18
II.2.2. Les défenses de la muqueuse gastro-duodenale : .....	18
II.2.3. La barrière muqueuse: .....	18
II.2.4. La barrière mucus-bicarbonates: .....	18
II.2.5. La sécrétion de bicarbonates : .....	19
II. 3. Physiopathologie de la maladie ulcéreuse : .....	19
II.3.1. Mécanismes de l'ulcérogenese : .....	19
II.3.2. Hyperacidité : .....	20
II.3.3. Rôle pathogène du reflux duodenogastrique : .....	20
II.4. Les Anti-Acides : .....	21
II.4.1. Histoire des Anti-Acides : .....	21
II.4.2. Mécanisme d'action : .....	21
II.4.3. Principaux anti-acides : .....	22
II.4.3.1. Anti-acides anioniques : .....	23
II.4.3.1.1. Bicarbonate de sodium ou carbonate monosodique : .....	23
II.4.3.1.2. Carbonate de calcium: .....	23
II.4.3.2. Anti-acides cationiques : .....	24
II.4.3.2.1. Hydroxyde de magnésium: .....	24
II.4.3.2.2. Hydroxyde d'aluminium : .....	24
II.4.3.3. Métabolisme des Anti-Acides : .....	25
II.4.3.3.1. Anti-acides systémiques : .....	25

II.4.3.3.1.1. Carbonate monosodique: .....	25
II.4.3.3.1.2. Carbonate de calcium: .....	25
II.4.3.3.2. Anti-acides non systémiques : .....	26
II.4.3.3.2.1. Hydroxyde de magnésium: .....	26
II.4.3.3.2.2. Hydroxyde d'aluminium : .....	26

### **Chapitre III**

III . Matériels et méthodes : .....	27
III.1. Objectif d'étude : .....	27
III. 2. Matériel végétal : .....	27
III. 2.1 Préparation et conservation de la poudre de l'écorce du fruit de grenade : .....	27
III.3. Extraction solide-liquide : .....	28
III.4. Détermination de la matière sèche, minérale et organique : .....	30
III.4.1. La matière sèche (MS) : .....	30
III.4.2. La matière minérale ; les cendres (MM) : .....	30
III.4.3. La matière organique : .....	30
III.5. Méthodes d'analyses chimiques des extraits : .....	31
III.5.1. Réactifs de détection des familles chimiques : .....	31
III.5.1.1. Préparation des réactifs : .....	31
III.5.1.2. Tests de détection des constituants chimiques : .....	32
III.6. Méthode d'étude d'activité des antioxydants, Piégeage du (DPPH) : .....	33
III.6. 1. Piégeage du radical DPPH : .....	34
III.7. Méthode d'étude de l'activité antibactérienne : .....	35
III.7.1. Identification et isolement des souches : .....	35
III.7.2. Souches microbiennes utilisées : .....	35
III.7.3. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne : .....	35
III.7.4. Préparation des inoculums : .....	35
III.7.5. Ensemencement et dépôt des disques : .....	36
III.7.6. Lecture des antibiogrammes : .....	36
III.8. Caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade : .....	36
III.9. Caractérisation de l'activité anti-acide : .....	37



III.10. Extraction des polyphénols : .....	38
III.10.1. Extraction des tannins : .....	38

## **Chapitre IV**

IV. Résultat et discussion : .....	40
IV.1. Rendement d'extraction : .....	40
IV. 2. Tests phytochimiques : .....	40
IV. 2. 2. Taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique : .....	40
IV. 2.3. Résultats des tests de détection des constituants chimiques : .....	41
IV.3. Stabilité du pH des extraits en fonction du temps d'extraction : .....	42
IV. 3.1. pH de l'extrait obtenu par macération : .....	42
IV. 3.2. pH de l'extrait obtenu par décoction : .....	43
IV. 3. 3. Comparaisons de la variation des pH d'extraction (macération et décoction)....	43
IV. 4.Evaluation de l'activité antioxydante : .....	44
IV. 5.Evaluation de l'activité antimicrobienne : .....	45
.IV.6. Caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade : .....	46
IV. 7. Neutralisation avec les différents extraits : .....	46
IV. 7.1. Neutralisation avec l'extrait obtenu par macération : .....	46
IV. 7.2. Neutralisation avec l'extrait obtenu par décoction : .....	47
IV. 7.3. Comparaisons de la variation des pH de neutralisation (macération et décoction).....	48
IV. 8.Neutralisation avec extrait des tanins : .....	49

Conclusion

Bibliographie

Annexe

## Liste des figures

### Chapitre I

Figure I.1 : Fleurs et fruits du Grenadier ( <i>Punicagranatum</i> ) .....	4
Figure I.2: La fleur de grenadier. ....	5
Figure I.3: fruit de grenadier. ....	6
Figure I.4 : Cloisonnement interne.....	7
Figure I.5 : Ecorce externe.....	7

### Chapitre II

Figure II.1 : L'estomac. ....	15
Figure II.2 : schéma de fonctionnement de ATPase H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> sur la membrane sécrétoire de la cellule pariétale.....	16
Figure II.3 : Transport des ions H <sup>+</sup> et Cl <sup>-</sup> dans la cellule pariétale après stimulat.....	17
Figure II.4 : la barrière mucus-bicarbonates. ....	19
Figure II.5 : Titration par addition continu d'acide (Z : zone de pouvoir tampon.....	22

### Chapitre III

Figure III.1 : étape de préparation de la poudre d'écorce du fruit de grenade .....	28
Figure III.2 : photo de l'extraction par macération.....	29
Figure III.3 : photo du montage de l'extraction par décoction.....	30
Figure III.04 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH. ....	34
Figure III.5 : Montage expérimental de la formation du radeau. ....	37
Figure III.6: Montage du profil neutralisation.....	37
Figure III.07 : l'extraction solide-liquide des composés phénoliques (tanins) des écorces du grenade.....	39

### Chapitre IV

Figure IV.1 : Variation du pH en fonction du temps d'extraction par macération.....	42
Figure IV.2 : variation du pH en fonction du temps d'extraction par décoction.....	43
Figure IV.3 : pH en fonction du temps d'extraction par (macération et décoction) .....	43
Figure IV.4 : Evolution taux d'inhibition de DPPH l'extrait éthanolique du grenade.....	44
Figure IV.5 : Evolution du taux d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique. ....	44
Figure IV.6: Résultat du test de formation de radeau par les extraits de l'écorces de grenade. .....	46

Figure IV.7 : Profil de neutralisation avec l'extrait de l'écorce de grenade récupéré par macération. ....	47
Figure IV.8 : Profil de neutralisation du l'extrait de l'écorce de grenade récupéré par décoction. ....	48
Figure IV.9 : comparaison Profil de neutralisation avec l'extrait récupéré par macération et décoction. ....	48
Figure IV.10 : Profil de neutralisation par l'extrait des tanins l'écorce de grenade.....	49

### **Liste des tableaux**

Tableau I.1 : composition chimique de l'écorce de grenade . ....	8
Tableau I.2 : structures chimiques de la Pelletierine, Acide éllagique et L'acide gallique. ....	9
Tableau I.3 : Les structures chimiques des éllagitannins. ....	9
Tableau III.1 : les microorganismes utilisés. ....	35
Tableau IV.1 : Aspect, couleur et % du rendement des différents extraits d'écorces de la grenade.....	40
Tableau IV.2 : Taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique. ....	40
Tableau IV.3 : résultats des tests de détection des constituants chimiques dans les deux extrait (aqueux, éthanolique). ....	41
Tableau IV.4 :Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec Staphylococcus aureus à différentes concentrations de l'extrait.....	41
Tableau IV.5 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec Escherichia coli différentes à différentes concentrations de l'extrait .....	45
Tableau IV.6 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec Escherichia coli différentes à différentes concentrations de.....	45

---

## INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'antiquité des remèdes traditionnels à base de plantes furent utilisés sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX<sup>ème</sup> siècle, et en améliorant les connaissances des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapie officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à un type de molécule.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie pharmaceutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

Les métabolites font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques et antioxydants.

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants les anti-acides.

Les fruits du Grenadier (*Punicagranatum L*) ainsi que son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis des milliers d'années pour leurs propriétés médicinales et thérapeutiques dans plusieurs régions où cet arbuste est originaire (bassin méditerranéen, Moyen-Orient, sud de l'Asie et Amérique latine). Utilisé, de façon empirique dans les médecines traditionnelles, pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires.

C'est dans ce contexte précis que s'inscrit notre problématique dont l'objectif est de mettre en évidence l'activité anti-acide, anti-oxydant et antibactérienne du grenadier (écorce du fruit de grenade), et identifier les composants responsables de modification de

---

l'acidité gastrique par neutralisation.

Afin de structurer notre présent mémoire, il a été réparti en quatre chapitres, dans le premier chapitre nous avons donné des généralités concernant la grenadier et la compositions chimiques de l'écorce de grenade ainsi que les composés phénoliques (Tannins), et quelques Propriétés thérapeutiques de grenade (antioxydantes, anticancéreuse, antimicrobien ...etc).

Le deuxième chapitre, des généralités sur le fonctionnement du système digestif et de ses composantes ainsi que l'estomac et le Mécanisme de la sécrétion d'acide gastrique ont été présentés avec quelques notions théoriques sur la maladie ulcéreuse et gastrique avec leur mécanisme d'action.

Le matériel et les méthodes expérimentales et les résultats et discussion sont présentés dans le troisième et quatrième chapitre respectivement.

Enfin, cette étude a été achevée par une conclusion générale ou on expose les principaux résultats obtenus ainsi que des recommandations et perspectives pour la continuité de ce travail.

---

## I. Généralités sur la grenade (*punica granaturme*) :

### I. 1. Origine géographique :

La grenade (*Punica granatum L.*), en latins *pomus et granatus*, ce qui signifie une tête de série ou de pomme granulaire, originaire de l'Iran à l'Himalaya dans le nord de l'Inde (l'Asie centrale), où elle a été cultivée depuis des milliers d'années, mais comme le grenadier s'adapte très bien à un large éventail de climats et de conditions de sol, il est cultivé dans de nombreuses régions géographiques différentes, notamment le bassin méditerranéen, l'Asie et la Californie.

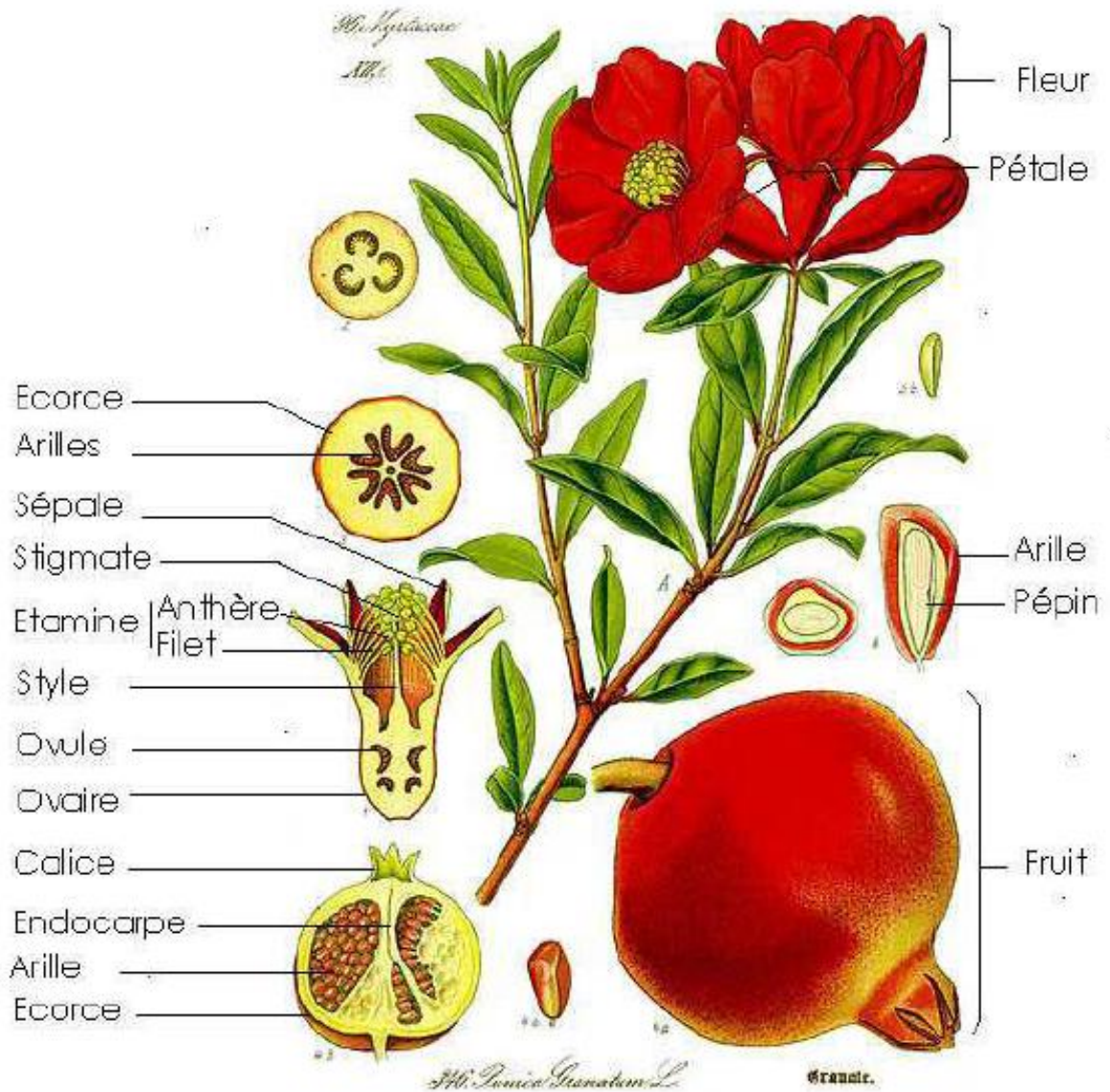
### I. 2. Nomenclature : la nomenclature de Grenadier est :

- ✓ Nom scientifique : *Punica granatum* ;
- ✓ Nom arabe : *Roman* ;
- ✓ Nom français : *Grenadier* ;
- ✓ Nom anglais : *Pomegranate* ;
- ✓ Nom espagnol : *Granado* ;
- ✓ Nom italien : *Melograno* ;

### I. 3. Historique de la grenade :

La grenade (*Punica granatum L, Punicaceae*) est une plante ancienne et bien appréciée, le nom «grenade» suit le nom latin du fruit *Malum granatum*, qui signifie «pomme granuleuse». La grenade et son utilisation sont profondément ancrées dans l'histoire humaine, l'utilisation se trouve dans de nombreuses cultures anciennes comme nourriture et comme remède médical. Malgré cela, la culture de la grenade a toujours été restreinte et généralement considérée comme une culture mineure.

Des découvertes scientifiques récentes corroborent l'utilisation traditionnelle de la grenade comme remède médical et indiquent que les fruits, fleurs, écorces et feuilles de grenade contiennent des substances phytochimiques bioactives qui sont antimicrobiennes, réduisent la tension artérielle et agissent contre les maladies graves comme le diabète et le cancer. Ces découvertes ont conduit à une plus grande sensibilisation du public aux bénéfices du fruit de la grenade, en particulier dans le monde occidental, et par conséquent à une augmentation importante de la consommation de ses fruits et jus [03].

**I. 4. Description botanique :****Figure I.1 :** Fleurs et fruits du Grenadier (*Punicagranatum*)**I. 4. 1. Arbre de grenadier :**

Le grenadier se présente comme un petit arbre de 3 à 4 m. de hauteur, donnant de nombreux rejets, on le trouve plus souvent sous forme de cépée, qu'avec une tige unique. Les rameaux sont grêles, parfois épineux.

#### **I. 4.2. Feuille**

Les feuilles du grenadier sont caduques, opposées, et disposées sur les rejets comme ils peuvent être en touffes sur les pousses courtes, glabres sur les deux faces. Caractérisées par la couleur verte foncée de la face supérieure et à nervure médiane nettement déprimée.

#### **I. 4.3. Fleur**

Les fleurs axillaires, solitaires ou parfois disposées par deux, présentent un calice épais, coriace, tubuleux et turbiné à 6 lobes triangulaires. La corolle d'un rouge éclatant est formée de 5 à 7 pétales obovales.



**Figure I.2:** La fleur de grenadier.

#### **I. 4.4. Le fruit**

Les fruits du Grenadier (*Punica granatum L*) ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis très longtemps par différentes civilisations anciennes qui lui ont attribués plusieurs vertus, la grenade possède des effets antioxydants très élevés, ainsi que plusieurs propriétés thérapeutiques, en relation avec la composition chimique riche en tanins et en polyphénols. La grande partie de ses composés chimiques se trouvent en outre dans l'écorce et les pépins qu'on considère comme déchets. [01]





**Figure I.3:** fruit de grenadier.

Le fruit du grenadier nommé grenade (*Punica granatum*), est une baie ronde à écorce dure, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm, divisée en neuf loges dont les cloisons membraneuses partent du réceptacle et renferment des semences entourées d'une pulpe succulente, ordinairement rougeâtre. Et selon la variété sa couleur diffère, blanc jaunâtre, jaune foncé, violet foncé ou rarement noir. A maturité, le fruit est facilement identifiable par le reste du calice qui lui surmonte, formant une couronne dentée.

#### **I. 4. 5. Les graines :**

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

#### **I. 4. 6. L'écorce de grenade :**

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée « *malicorium* », il s'agit de la partie externe dure de fruit. Elle représente environ 50% du poids total de la grenade. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtre sur la face intérieure concave, portant

souvent l'empreinte des graines qui y étaient incrustées. 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 de faisceaux fibro-vasculaires. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente [05].



**Figure I.4 :** Cloisonnement interne



**Figure I.5 :** Ecorce externe

### **I. 5. Composition chimique de l'écorce de grenade :**

L'écorce du fruit est très riche en flavonoïdes et en tanins. Il contient environ 25% d'ellagitanins tels que la Punicalline, la Punicalagine, la Corilagine, la Granatine A ainsi que la Granatine B. [02] et des flavonoïdes tels que: lutéoline, quercétine et punicalin, sont des ellagitanins spécifiques à la grenade. L'écorce contient aussi des polysaccharides complexes partiellement caractérisés. La présence d'alcaloïdes dans l'écorce est équivoque, positive par le test Dragendorff, mais négative par le test Mayer. [10]

L'écorce de grenade est une source très importante de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins (28% de l'épiderme du fruit), les proantocyanidines et les minéraux, essentiellement du potassium, de l'azote, du calcium, du phosphore, du magnésium et du sodium .

L'écorce de grenade se compose également, d'acide gras, de catéchines, de quercétines et de rutines. Toutefois, les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans l'écorce de fruit sauvage que dans celle des plantes cultivées.

En outre, l'écorce du fruit contient également deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide éllagique, elle renferme aussi des molécules de coloration jaunes et anthocyanidine, responsables de la couleur rouge des grenades [04]. Cette composition lui a conféré plusieurs propriétés aussi bien dans le domaine médical que le domaine agroalimentaire [05].

La composition chimique de l'écorce de grenade est donnée dans le tableau I.1.

**Tableau I.1** : composition chimique de l'écorce de grenade.

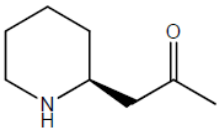
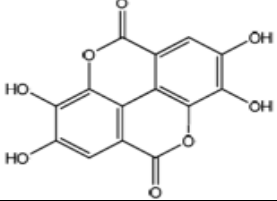
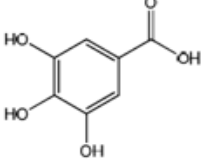
Partie du fruit	Composition
<p><b>La peau de la grenade</b> (Malicorium)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Acide hydroxybenzoïque:</b> l'acide gallique et l'acide ellagique</li> <li>• <b>Acide hydroxycinnamique</b></li> <li>• <b>Dérivés de flavones:</b> molécules de coloration jaune</li> <li>• <b>Anthocyanidines:</b> responsables de la couleur rouge des grenade</li> <li>• <b>nombreux ellagitanins:</b> tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B, ces <b>tanins</b> représentent jusqu'à 28% de la peau du fruit</li> <li>• <b>La pelletierine</b> pourrait aussi se trouver dans la peau de la grenade</li> </ul>

La teneur en K> N> Ca> P> Mg> Na, mis à part le calcium qui est plus abondant dans les écorces ainsi que le sodium qui lui a une teneur équivalente. Pour ce qui est des micronutriments présents dans les écorces de grenade, les teneurs sont équivalentes à celle du fruit et qui sont représentés par le Bore qui représente la plus grande concentration (environ 22,2mg/kg), suivis du Fe (14,5mg/kg). Les minimas concentration sont notées pour le Zn, le Cu et le Mn (11, 75, 8 et 6 mg/kg respectivement) [07] .

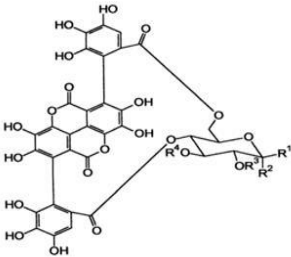
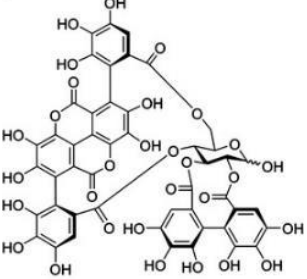
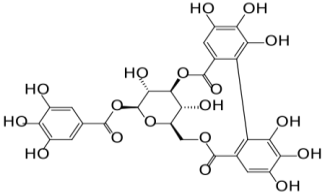
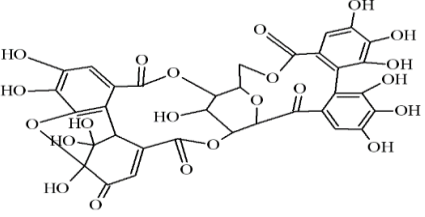
### **I. 5.1. Composés phénoliques de la grenade :**

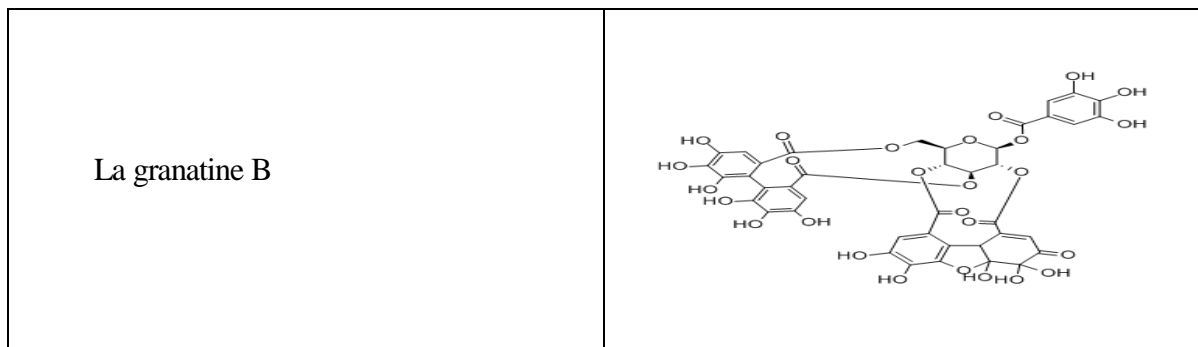
Les fruits de la grenade sont une source de divers composés biologiquement actifs, tels que les composés phénoliques comme l'acide ellagique, gallotannins, anthocyanines, qui sont connus pour agir en tant qu'antioxydants [07].

**Tableau I.2 :** Les structures chimiques de la Pelletièreine, Acide éllagique et L'acide gallique.

Molécules	Pelletièreine	Acide ellagique	L'acide gallique
Structures chimiques			

**Tableau I.3 :** Les structures chimiques des éllagitannins. [01].

Molécules	Structures chimiques
La punicalline	
La punicalagin	
La corilagine	
La granatine A	



### I. 5.2. Polyphénols :

Les polyphénols constituent un des groupes les plus communs et largement répandus dans les plants. Plus de mille polyphénols sont connus, ce sont des composés contenant un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles, ils peuvent être divisés en 15 grandes classes selon plusieurs structures chimiques. Certaines de ces classes sont des composés avec C6 aromatique, d'autres avec la structure C6-C1, et d'autres avec des squelettes plus complexes.

Ce sont des constituants importants à propriétés organoleptiques de grenade car ils donnent la couleur rouge attrayante et fournissent l'astringence douce qui est caractéristique de la saveur de la grenade.

Les polyphénols prédominants sont les flavonoïdes, les tannins condensés et les tanins hydrolysables [07]

#### a) Tannins

Les tannins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux, leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation. La grenade possède deux tannins à savoir l'acide ellagique et punicalagin qui ont un rôle important dans l'activité antioxydante [07].

#### a.1) Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acides phénols, ou de dérivés d'acides phénols, les molécules glucidiques est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. L'intérêt des tannins hydrolysables de grenade dans divers domaines scientifiques et commerciaux grâce à leurs propriétés antioxydants.

---

**a.2) Tannins condensés**

Les tannins condensés se retrouvent dans la peau. La plupart des activités des tannins condensés dépendant en grande partie de leur structure, en particulier leur degré de polymérisation.

**b) Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des polyphénols naturels et complexes, présents sous forme de dérivées glucosidiques. la grenade présente des principaux flavonoïdes à savoir la catéchine et la quercitrine, qui jouent un rôle important dans l'activité antioxydante [07].

**c) Anthocyanines**

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleu ou violet de la plupart des fleurs et des fruits. Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides) [07].

Les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans le écorces de fruits sauvages par rapport aux fruits cultivés [02].

**I. 6. Propriétés thérapeutiques des grenades ( *Punica granatum L* ) :****I. 6.1. Activités antioxydantes de la grenade :**

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

Les effets bénéfiques sur la santé qui sont attribués à la consommation de fruits et de légumes sont au moins en partie liés à leurs activités antioxydantes. En effet, chez les végétaux comestibles, nous comptons plusieurs centaines de molécules antioxydantes.

Parmi les plus connus de ces antioxydants naturels, nous trouvons la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène et lycopène) et les polyphénols (tanins, flavonoïdes, anthocyanes). Les grenades sont parmi les fruits les plus riches en vitamine

---

C et en composés phénoliques et surtout en anthocyanines et acides phénoliques.

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

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

La composition des différentes parties du grenadier a montré l'existence de plusieurs types de polyphénols ayant des propriétés antioxydantes très importantes à savoir les tanins que l'on trouve en concentration très élevée dans les tiges et l'écorce du grenadier. L'extrait aqueux de l'écorce de grenade est caractérisé par un pouvoir antioxydant, les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydante du jus de grenade et sont concentrés dans l'écorce, les membranes et les moelles du fruit [05].

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de grenade par le test de (diphénylpicrylhydrazyl) DPPH a révélé l'effet très actif de l'extrait comme piègeurs du radical DPPH. [09]

#### **I. 6.1. 1. Action préventive des maladies cardiovasculaires :**

L'activité protectrice des polyphénols apportée par l'alimentation contre les maladies cardio-vasculaires est due à leur capacité à inhiber l'oxydation des LDL, la formation des macrophages et l'athérosclérose.

#### **I. 6.1. 2. Inhibition de l'oxydation des LDL :**

Les polyphénols de jus de grenade protègent les LDL contre l'oxydation à médiation cellulaire via deux mécanismes qui mettent en jeu une interaction directe des polyphénols avec la lipoprotéine et/ou une action indirecte liée à l'accumulation des polyphénols dans les macrophages artériels. Il a ainsi été démontré que les polyphénols de grenade inhibent l'oxydation des LDL en détruisant les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.

---

Par ailleurs, les polyphénols de grenade augmentent l'activité paraoxonase sérique, ce qui entraîne l'hydrolyse des peroxydes lipidiques dans les lipoprotéines oxydées et dans les lésions athérosclérotiques. Ces propriétés antioxydantes et antiathérogènes des polyphénols de grenade ont été démontrées *in vitro* ainsi qu'*in vivo* chez l'être humain et chez la souris athérosclérotique déficiente en apolipoprotéine E.

### **I. 6.1. 3. Action anticancéreuse :**

Les cellules cancéreuses ont la capacité de redevenir des cellules saines par un processus appelé différenciation. Les flavonoïdes peuvent induire cette différenciation avec une toxicité plus faible que les rétinoïdes, ce qui les rend intéressants pour le traitement de la leucémie, mais aussi pour la lutte contre le cancer de la prostate, mais aussi contre d'autres types de cancer tels que celui de l'intestin et du sein , les fractions riches en polyphénols de grenade ont une activité anti- proliférative, anti-invasive, antiéicosanoïde, antiangiogène et pro-apoptotique sur des cellules cancéreuses de sein et de prostate. Une étude réalisée sur des promyélocytes humains de leucémie (HL-60) montre que des extraits riches en flavonoïdes, obtenus l'un à partir de jus de grenade fermenté et l'autre à partir de péricarpe de grenade, sont fortement promoteurs de différenciation, alors que l'extrait de jus de grenade frais a un effet plutôt faible. Les extraits de grenade ont aussi une action inhibitrice de la prolifération des cellules cancéreuses, les extraits de jus fermenté et de peau de grenade étant plus efficaces.

L'acide ellagique, l'acide caféique, la lutéoline et l'acide punicique sont des molécules présentes dans la grenade et elles sont testées en tant qu'inhibiteurs de la croissance *in vitro* de cellules cancéreuses humaines de prostate (PC-3). Chaque molécule et à une concentration de 4 mg/ml inhibe, de manière significative, la prolifération des cellules cancéreuses et lorsque l'acide caféique, l'acide pucinique et la lutéoline sont utilisés en combinaison aux mêmes concentrations, une inhibition supplémentaire est observée, par ailleurs, montré que les différents antioxydants du jus de grenade agissent de manière synergique, puisque le jus de grenade a une activité antioxydante plus élevée qu'un extrait de tanins totaux de grenade, que la punicalagine seule ou que l'acide ellagique seul. Ainsi, le jus de grenade a la plus forte activité antiproliférative sur des lignes cellulaires de cancer du côlon (inhibition de 30 à 100 %) [04].



### **I. 6.2. Activité antimicrobienne :**

L'analyse qualitative de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par chromatographie sur couche mince a montré, la présence des polyphénols totaux et l'analyse quantitative des polyphénols totaux a abouti à un taux de 18µg/mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme de l'extrait. Le test d'activité antimicrobienne de l'extrait s'est montré actif sur tous les germes et les zones d'inhibition augmentent en fonction de l'augmentation de la concentration en extrait [09].

Les polyphénols de grenade ont des effets antiviraux et antimicrobiens intéressants, une étude a été menée in vitro sur l'action de différents extraits d'écorce de grenade (péricarpe) sur six espèces bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*. Les extraits d'écorce de grenade employés sont obtenus à partir de solvants différents, permettant d'isoler les divers principes actifs de ce fruit. Ainsi, en utilisant comme solvant l'eau à température ambiante. Il y aura isolement des tanins et d'autres composés phénoliques, tandis qu'avec le méthanol, des tanins et des alcaloïdes sont extraits. Toutefois, le chloroforme permet d'extraire les alcaloïdes et enfin avec l'éther de pétrole, des stérols. Les résultats de cette étude ont montré que tous les extraits testés présentent une activité antibactérienne, quelle que soit l'espèce bactérienne cultivée. Néanmoins, l'extrait méthanolique semble posséder une activité antibactérienne plus importante que les autres extraits, essentiellement sur *S. aureus*, *P. vulgaris* et *B. subtilis* [03, 04].

### **I. 6.3. Prévention des maladies digestives :**

L'écorce, les feuilles sont utilisées pour calmer les perturbations gastriques et les diarrhées dus aux problèmes digestifs [05]. Les composés polyphénoliques présents dans la farine d'écorce de grenade sont libérés dans les différentes étapes de digestion gastro-intestinale et ils sont bio accessibles d'exercer une bio activité après leur absorption [08]. L'extrait aqueux de l'écorce de grenade contient des substances qui réduisent la diarrhée par inhibition de la motilité intestinale ainsi que l'accumulation de fluide intestinales.

Les écorces du fruit sont utilisées aussi contre les parasites intestinaux, en

particulier le vers solitaire (ténia) et la dysenterie amibienne. Elles contiennent des alcaloïdes, dont la pelletierine, vermifuge efficace contre le ténia, inscrit au Codex de la pharmacopée française depuis 1937 [05] .

## II. Système digestif et ses composantes :

Pour réaliser ce projet, il est essentiel de comprendre le fonctionnement du système digestif et de ses composantes, les organes composant le groupe du tube digestif qui sont la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac.

### II.1. L'estomac :

L'estomac est un organe en forme de poche qui mesure en moyenne 25 centimètres de long et 11 centimètres de large. Sa contenance est d'environ 1,5 L. Il est divisé en 3 parties : le **fundus**, partie supérieure qui contient toujours de l'air, le **corps**, zone de réception du bol alimentaire, l'**antre**, partie inférieure dans laquelle a lieu le brassage du bol alimentaire. La paroi de l'estomac est constituée de plusieurs couches de tissus : la muqueuse, la couche la plus interne qui secrète les sucs gastriques (mélange d'acides et d'enzymes) nécessaires à la digestion, la sous-muqueuse qui soutient la muqueuse, la couche musculaire qui permet à l'estomac de se contracter pour brasser le bol alimentaire, la couche séreuse, externe, qui délimite les contours de l'estomac.

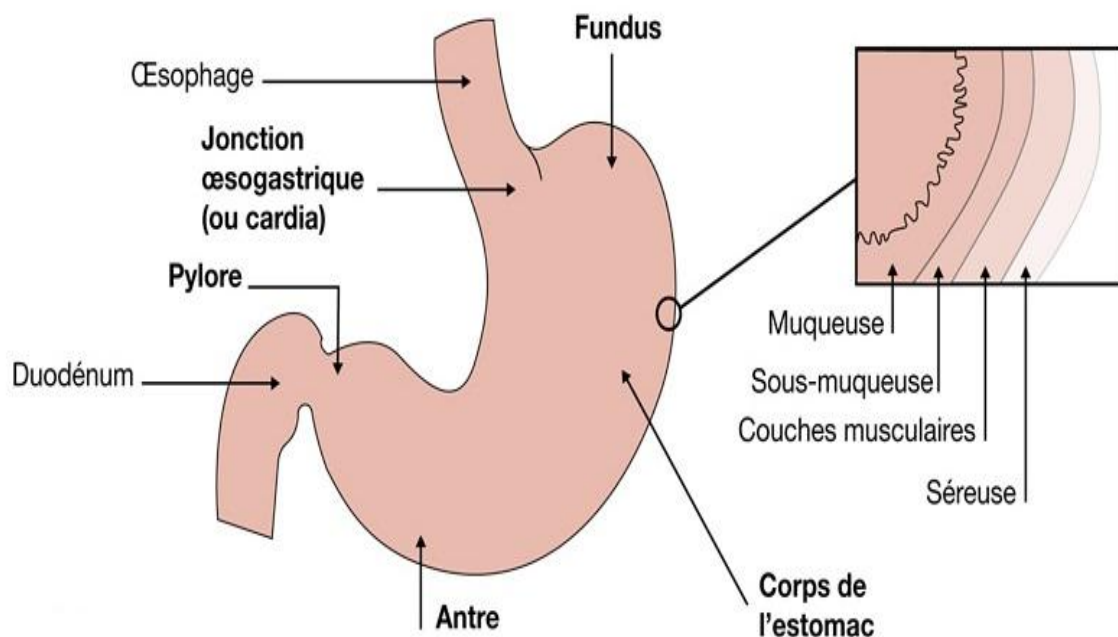


Figure II.1 : Schéma de l'estomac.

### II.1.1. La sécrétion acide gastrique:

#### II.1.1.1. Les cellules pariétales:

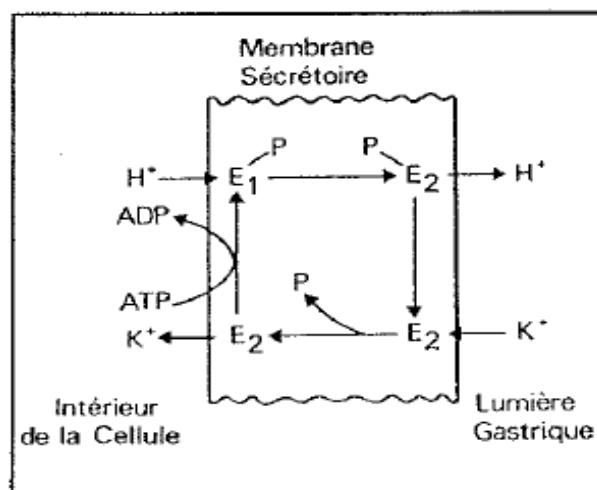
Les cellules pariétales, situées au niveau des glandes fundiques de l'estomac, sont au nombre d'un milliard environ chez l'homme. Elles sont le siège de la sécrétion acide gastrique.

- **cellule au repos** : le cytoplasme est occupé par un important système tubulovésiculaire, dérivé du réticulum endoplasmique lisse et en continuité avec la membrane apicale de la cellule

- **cellule stimulée** : lors de la sécrétion d'acide chlorhydrique, les tubulovésicules fusionnent avec la membrane cellulaire apicale et aboutissent à la formation de canalicules sécréteurs bordés de microvillosités.

#### II.1.1.2. Mécanisme de la Sécrétion Acide [12] :

Le rôle de la cellule pariétale est de fabriquer de l'acide chlorhydrique. Cette fabrication se fait grâce à un système enzymatique appelé "pompe à protons" ou  $H^+/K^+$ ATPase. Ce système permet la sécrétion d'un ion  $H^+$  dans la lumière gastrique, en échange d'un ion  $K^+$  qui pénètre dans la cellule. L'énergie requise pour réaliser cet échange d'ions est fournie sous forme d'ATP par une ATPase. Le fonctionnement de la pompe à protons fait intervenir deux états conformationnels : **E1** et **E2** (Figure II.2).

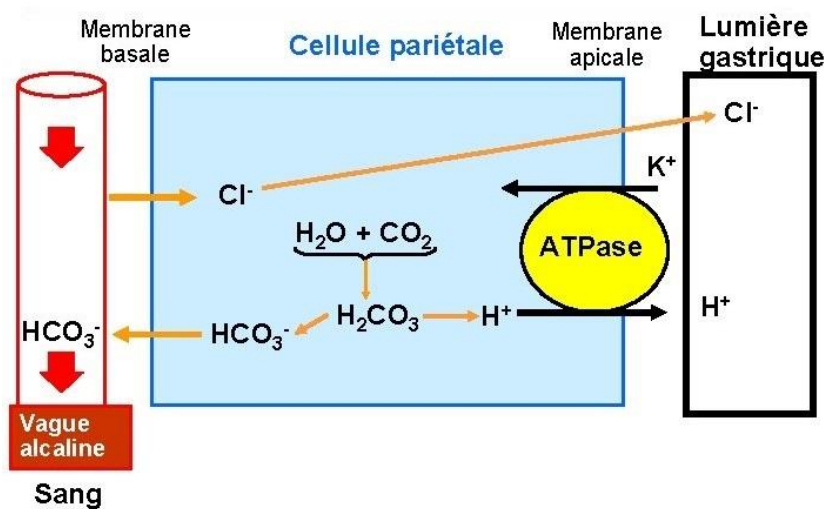


**Figure II.2** : schéma de fonctionnement de ATPase  $H^+/K^+$  sur la membrane sécrétoire de la cellule pariétale

- dans l'état E1, la pompe fait saillie dans le cytoplasme et elle fixe une molécule d'ATP et un ion  $H^+$ . Une réaction de phosphorylation provoque une modification conformationnelle de la pompe qui adopte l'état E2.

- dans l'état E2, la pompe fait saillie dans la lumière gastrique. L'ion  $H^+$  est libéré et la fixation d'un ion  $K^+$  provoque la déphosphorylation de l'enzyme qui reprend sa conformation initiale.

Pour chaque ion  $H^+$  secrété, un ion  $Cl^-$  est libéré de façon simultanée, leur union synthétisant une molécule d'acide chlorhydrique (HCL). (Figure II.3)



**Figure II.3 :** Transport des ions  $H^+$  et  $Cl^-$  dans la cellule pariétale après stimulation

### II.1.1.3. Les phases de la sécrétion gastrique :

Au moment des repas, la prise alimentaire déclenche une abondante sécrétion gastrique par augmentation du débit des cellules pariétales, Cette sécrétion passe par un maximum au bout de 2 heures pour s'abaisser en 4 à 5 heures [11].

On distingue trois phases successives, dites céphalique, gastrique et intestinale [13,14].

#### II.1.1.3.1. La phase gastrique

Elle est déclenchée et entretenue par la présence d'aliments dans l'estomac. Ceux-ci agissent par leur nature protéique et par la distension de la cavité gastrique qu'ils provoquent. Ceci met en jeu un réflexe vago-vagal entraînant la libération de gastrine. Il s'agit d'une phase neuro-hormonale, stimulante, puissante et prolongée qui ne diminuera que par la vidange transpylorique du contenu gastrique.

---

### **II.1.1.3.2. La phase intestinale:**

Elle correspond à l'extinction de la sécrétion. La vidange du repas de l'estomac vers l'intestin, entraîne une diminution de la sollicitation des récepteurs vagues et des cellules à gastrine antrales. On observe également une diminution du pouvoir tampon exercé par les aliments dans la lumière gastrique ainsi, le pH s'abaisse et la libération de gastrine est inhibée. Enfin, l'arrivée des aliments sur la muqueuse intestinale, provoque la libération d'hormones intestinales inhibitrices.

## **II.2. Inhibition de la sécrétion acide gastrique :**

### **II.2.1. Le mécanisme antral de retro-contrôle négatif pH-dépendant :**

C'est par l'intermédiaire de la gastrine que s'effectue le retro-contrôle de la sécrétion, la gastrine déclenche la libération d'ions  $H^+$  qui ont un effet inhibiteur sur la sécrétion gastrique lorsque le pH gastrique s'abaisse. La production de gastrine est donc supprimée au fur et à mesure que le pH devient de plus en plus acide, surtout lorsqu'il atteint une valeur inférieure ou égale à 2 [15].

### **II.2.2. Les défenses de la muqueuse gastro-duodénale :**

La muqueuse gastro-duodénale saine est capable de résister à des agressions tant endogènes (acide chlorhydrique et pepsine) qu'exogènes (médicaments ulcérogènes comme les AINS et l'aspirine, tabac,...). Cette tolérance est le fait des protections conjointes de "la barrière muqueuse" et de la "cytoprotection par les prostaglandines".

### **II.2.3. La barrière muqueuse:**

La protection de la muqueuse est constituée d'une double ligne de défense : la première est représentée par la couche de mucus riche en bicarbonates et tapissant l'épithélium, la seconde par le revêtement épithélial reposant sur la membrane basale [16] .

### **II.2.4. La barrière mucus-bicarbonates:**

Une couche continue de mucus, sous forme de gel mou et visco-élastique, adhère à la surface de la muqueuse. Ce mucus est constitué de glycoprotéines disposées en réseau, La glycoprotéine est un polymère constitué de 4 sous-unités jointes par des ponts disulfure reliant l'extrémité non glycosylée de leur chaîne protéique. Le mucus constitue une barrière protectrice contre la rétrodiffusion des ions  $H^+$  et la diffusion de la pepsine.

### II.2.5. La sécrétion de bicarbonates [15] :

Une sécrétion active de bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) par les cellules épithéliales s'effectue dans la couche de mucus. Les ions  $\text{HCO}_3^-$  tamponnent l'acidité en neutralisant les ions  $\text{H}^+$  qui tentent de traverser le gel de mucus.

A travers cette couche de mucus, il existe un gradient de pH qui résulte de la présence des ions  $\text{HCO}_3^-$  diffusant à la surface cellulaire et des ions  $\text{H}^+$  diffusant en direction opposée à partir de la lumière gastrique. Selon ce modèle, à la surface épithéliale le pH est égal à 6 ou 7, alors qu'il est de 2 ou 3 contre la face luminale du revêtement muqueux (Figure I4).

L'épithélium est ainsi protégé, non seulement de l'acidité, mais aussi de l'action de la protéolyse puisque la pepsine est inactive à pH élevé,

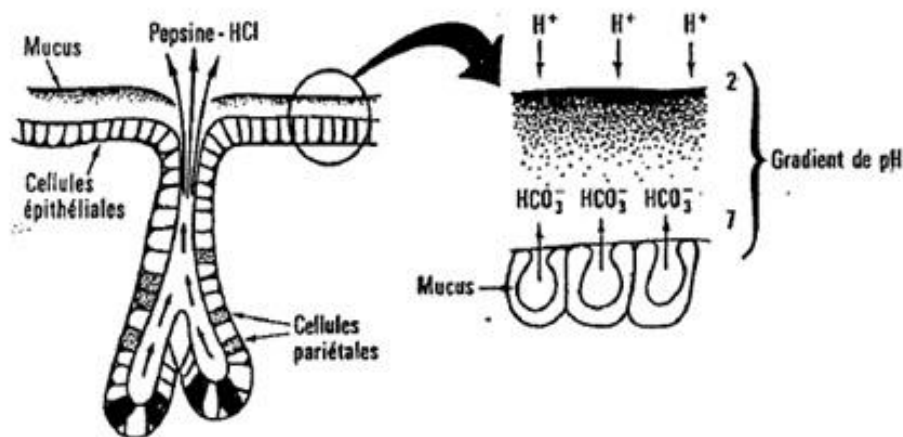


Figure II.4 : la barrière mucus-bicarbonates.

## II. 3. Physiopathologie de la maladie ulcéreuse :

### II.3.1. Mécanismes de l'ulcérogenèse :

L'ulcère se définit par une perte de substance siégeant au niveau de la muqueuse gastrique ou duodénale. Il réalise une lésion de la paroi digestive, amputant plus ou moins profondément le plan musculaire et limitée au fond par une réaction inflammatoire [11] .

La maladie ulcéreuse se caractérise par des poussées de douleurs post-prandiales quotidiennes pendant plusieurs jours ou quelques semaines, et séparées par des intervalles

---

de rémission se comptant par mois ou années [18] .

L'ulcère apparaît comme la conséquence d'une rupture d'équilibre entre l'agression chlorhydropeptique et la résistance muqueuse. On peut en concevoir deux causes [17] :

- une attaque accrue sans renforcement adéquat de la défense,
- un affaiblissement de la défense sans réduction proportionnelle de l'agression.

### **II.3.2. Hyperacidité :**

Le dicton de Schawarts "pas d'acide, pas d'ulcère", énonce une vérité intangible : la présence d'acide dans la lumière est nécessaire pour que la muqueuse puisse s'ulcérer [19] . En effet, le processus ulcéreux est déclenché par la rétrodiffusion et par la pénétration des ions H<sup>+</sup> dans la muqueuse. Ceux-ci entraînent une diminution du pH intramural qui, au-dessous d'un certain seuil, est associée à l'apparition d'ulcérations [16]. A souligner que la sécrétion acide nocturne est particulièrement dangereuse pour les muqueuses gastrique et duodénale, car à cette période du nyctémère, l'estomac s'est vidé de son contenu digestif [17] .

L'hyperacidité est toutefois très inconstante dans la maladie. En effet, les ulcères duodénaux s'accompagnent d'une normo-ou d'une hypersécrétion acide, alors que les ulcères gastriques s'accompagnent d'une normo-ou d'une hyposécrétion acide [20] .

### **II.3.3. Rôle pathogène du reflux duodenogastrique :**

Le reflux duodenogastrique peut entraîner l'installation d'une gastrite superficielle, évoluant vers une gastrite chronique atrophique. Cette gastrite peut favoriser l'apparition d'un ulcère gastrique [11] .

## **II. 4. Les Anti-Acides :**

Les anti-acides sont des médicaments qui réduisent la quantité d'ions H<sup>+</sup> libres dans le liquide gastrique sans interférer directement les processus sécrétoires gastriques [21].

### **II.4.1. Histoire des Anti-Acides [22] :**

L'usage des anti-acides remonte à des temps lointains. Il a longtemps reposé sur des principes empiriques : certaines terres sont utilisées depuis plusieurs siècles par différentes peuplades pour guérir les "affections abdominales".



---

L'indication rationnelle des anti-acides dans le traitement de la maladie ulcéreuse, débute probablement en 1851 lorsqu'un médecin londonien, William Brinton, emploie le bicarbonate de potassium en association avec des sels de bismuth dans l'ulcère gastrique.

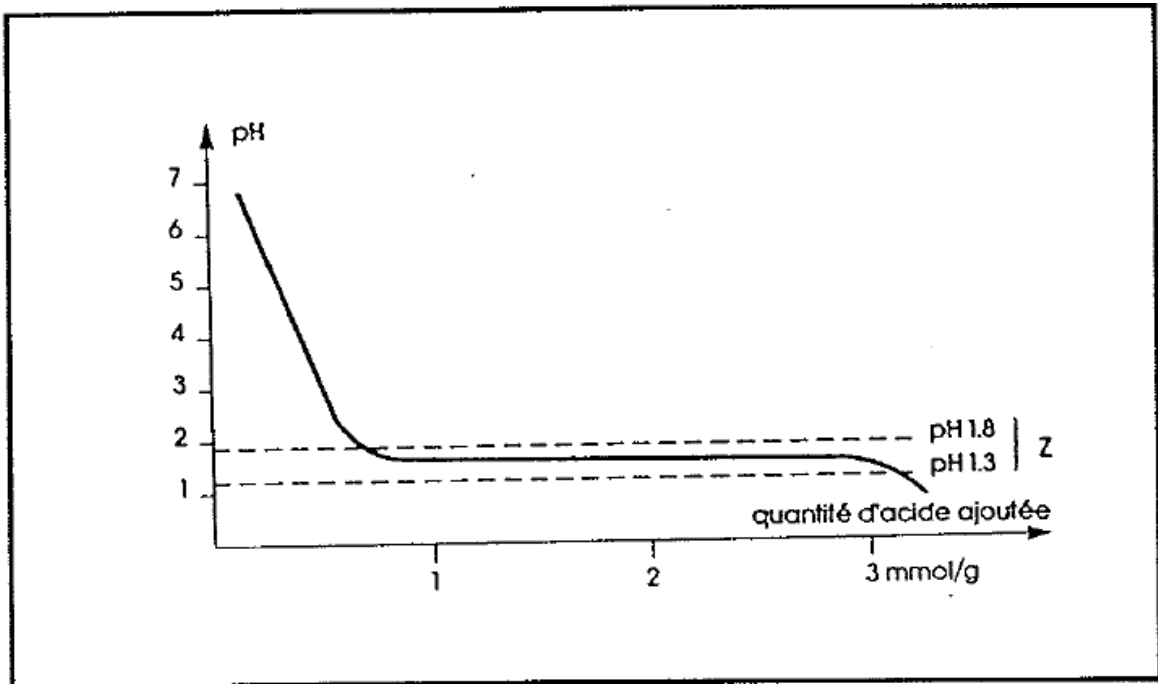
Les anti-acides sont alors largement développés et atteignent un grand degré de popularité quand, en 1952, Pickering déclare que la neutralisation du contenu gastrique soulage la douleur ulcéreuse, soulignant l'effet symptomatique des anti-acides.

Les premiers anti-acides employés, l'ont été sous forme de carbonate de calcium, de carbonate monosodique ou bien par le biais de l'alimentation lactée. Bien qu'ils se soient révélés être des agents puissants dans la sédation de la douleur, de nombreux effets secondaires leurs furent rapidement imputés, « alcalose métabolique liée à des désordres hydro-électrolytiques et rebond sécrétoire acide principalement ». L'emploi d'hydroxydes d'aluminium et de magnésium non absorbables, par Greenwold, a permis de contourner en partie ces difficultés. Après un engouement certain, l'emploi des anti-acides a subi, dans les dernières années, un déclin relatif en raison d'une part, de résultats pharmacologiques contradictoires lors de leur comparaison avec les placebos, et d'autre part, de l'apparition des antisécrétoires capables d'agir directement sur les cellules pariétales. Actuellement, ils subissent un renouveau d'intérêt, utilisés seuls ou en association avec les antisécrétoires. Il paraît vraisemblable que de nombreux travaux récents, permettant une meilleure connaissance de leurs propriétés pharmacologiques réelles et rendant plus rationnel l'emploi de ces médicaments en fonction du but thérapeutique que l'on cherche à atteindre, expliquent leur regain d'utilisation.

#### **II.4.2. Mécanisme d'action :**

Le mode d'action des anti-acides repose sur la réduction de l'acidité du liquide gastrique par un mécanisme passif de consommation de la sécrétion acide [23].

L'addition continue d'une solution acide permet de tracer la courbe de titration d'un anti-acide : cette courbe est l'expression graphique de la quantité d'ions  $H^+$  consommée pour parcourir une échelle de pH partant du pH de la solution anti-acide jusqu'à un pH proche de celui de la solution titrante (Figure II.5) [22] .



**Figure II.5 :** Titration par addition continu d'acide (Z : zone de pouvoir tampon)

- **Effet de neutralisation :** l'addition continue d'acide entraîne une variation continue du pH, Cet effet correspondant à la neutralisation d'une base par un acide.

- **Pouvoir tampon:** l'addition d'acide n'entraîne pas de variation de pH dans des limites assez larges. La mise en évidence d'une zone de pouvoir tampon présente un grand intérêt car elle est en soi un potentiel anti-acide bien que le pH reste constant. Elle peut avoir une valeur prédictive de l'absence d'effet rebond lorsqu'elle se situe à un pH inférieur à 4,5.

#### II.4.3. Principaux anti-acides :

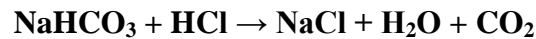
La réactivité des anti-acides vis-à-vis de l'acide chlorhydrique dépend de leur structure chimique et de leurs propriétés physiques.

On distingue classiquement deux catégories chimiques d'anti-acides, selon que leur réactivité dépende de la portion anionique (carbonate monosodique, carbonate de calcium) ou de la portion cationique (sels d'aluminium et de magnésium) de la molécule. [21,22] .

---

**II.4.3.1. Anti-acides anioniques :****II.4.3.1.1. Bicarbonate de sodium ou carbonate monosodique :**

Le carbonate monosodique en présence d'acide chlorhydrique fournit du chlorure de sodium, de l'eau et de l'anhydride carbonique, selon l'équation suivante :



La faible solubilité de l'anhydride carbonique dans l'eau, entraîne une perte de  $\text{CO}_2$  rendant ainsi la réaction irréversible. En raison de la grande solubilité du chlorure de sodium dans l'eau. L'ion  $\text{Na}^+$  est absorbé et il se produit un excès de base correspondant exactement à la quantité de carbonate monosodique ingérée, pouvant aboutir à un état d'alcalose métabolique.

**II.4.3.1.2. Carbonate de calcium:**

Le carbonate de calcium réagit avec l'acide chlorhydrique en formant du chlorure de calcium et du gaz carbonique :



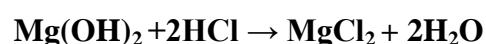
L'ion calcium peut réagir avec d'autres anions, tels que carbonates ou phosphates, conduisant à la formation de produits peu solubles.

Une absorption partielle du calcium par le grêle, limite les réactions d'insolubilisations, et l'excès d'anions alcalins peut entraîner l'apparition d'une alcalose métabolique,

Les anti-acides anioniques provoquent donc une neutralisation rapide et relativement irréversible de l'acide chlorhydrique, mais ils peuvent exercer des effets métaboliques indésirables (alcalose). La rapidité de la libération des sites de fixation des ions  $\text{H}^+$  se traduit par une cinétique brève et leur mécanisme d'action réside dans un simple effet de neutralisation.

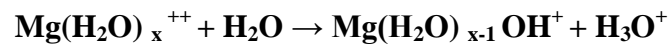
**II.4.3.2. Anti-acides cationiques :****II.4.3.2.1. Hydroxyde de magnésium:**

La réaction entre l'hydroxyde de magnésium et l'acide chlorhydrique aboutit à la formation de chlorure de magnésium et d'eau :



Au niveau du grêle, l'ion  $Mg^{++}$  réagit avec des anions phosphate et carbonate pour former des sels insolubles. Comme le magnésium n'est pas résorbé, contrairement au calcium, la formation de ces sels insolubles évite la résorption de la base et le risque d'alcalose.

Une réaction d'hydrolyse peut alors apparaître, conduisant à la production d'acide limitant ainsi le pouvoir de neutralisation:



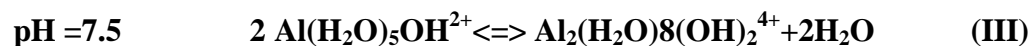
Cependant, cette réaction d'hydrolyse ne se produit qu'à des niveaux de pH assez éloignés des conditions physiologiques ( $pH > 8,5$ ) pour influencer notablement la capacité de neutralisation. Elle est donc sans importance pratique dans l'emploi des sels de magnésium.

#### II.4.3.2.2. Hydroxyde d'aluminium :

Le cation  $Al^{3+}$  peut réagir avec trois molécules d'acide chlorhydrique pour former un trichlorure d'aluminium selon la réaction de neutralisation suivante :



Cette capacité de neutralisation est limitée par des réactions d'hydrolyse qui jouent un rôle important, puisqu'elles apparaissent aux pH physiologiques et aboutissent à la formation de composés basiques d'aluminium :



Dans la lumière gastrique, les dérivés intermédiaires sont nombreux chlorures, hydroxydes complexes, hydroxychlorures d'aluminium...

Au niveau, du grêle, l'ion  $Al^{3+}$  réagit avec de nombreux anions, dont les phosphates, pour former du phosphate d'aluminium insoluble. Les acides gras peuvent également insolubiliser l'aluminium avec formation de savons d'aluminium insolubles.

La résorption de l'aluminium étant pratiquement nulle, l'insolubilisation de ce cation évite les risques d'alcalose.

---

La structure physico-chimique des anti-acides cationiques est un élément fondamental pour comprendre leur activité anti-acide. A pH inférieur à 4, les sels d'aluminium existent sous la forme de cations trivalents accrosés à 6 molécules d'eau, organisés en octaèdres, le produit d'hydrolyse de la réaction (II), Cette succession de désintégrations en particules de plus en plus petites, explique que l'activité anti-acide se développe avec une cinétique lente.

Ces réactions permettent en outre de comprendre la complexité du mode d'action de ces anti-acides, puisqu'ils agissent par simple effet de neutralisation jusqu'à des valeurs de pH de 2,5 à 3, puis par effet tampon dans les zones situées vers pH 2.

#### **II.4.3.3. Métabolisme des Anti-Acides [22] :**

Au point de vue de leur devenir dans l'organisme, les anti-acides peuvent être divisés en deux groupes, selon qu'ils exercent des effets généraux ou non.

**II.4.3.3.1. Anti-acides systémiques :** Ce groupe est représenté par les anti-acides anioniques.

##### **II.4.3.3.1.1. Carbonate monosodique:**

Cet anti-acide est capable de perturber l'équilibre hydroélectrolytique, au contact de l'acide chlorhydrique, le carbonate monosodique est transformé en chlorure de sodium soluble, qui est résorbé et qui entraîne une hypernatrémie .

- Le carbonate monosodique provoque une économie des bicarbonates d'origine pancréatique qui ne sont pas neutralisés au niveau du duodénum, puisqu'il n'y a plus d'acide. Ils sont donc à leur tour réabsorbés et éliminés par voie rénale, entraînant un risque d'alcalose métabolique,

##### **II.4.3.3.1.2. Carbonate de calcium:**

Au niveau gastrique, il est transformé en chlorure de calcium qui subit une nouvelle insolubilisation au niveau duodénal par les bicarbonates pancréatiques qui forment du carbonate de calcium. Une faible partie reste cependant sous forme de chlorure de calcium et est résorbée, Ce calcium non neutralisé par les bicarbonates correspond à une économie d'agents alcalins, entraînant un risque d'alcalose coexistant avec un risque d'hypercalcémie.

---

**II.4.3.3.2. Anti-acides non systémiques :**

Ils correspondent aux anti-acides cationiques et sont représentés par les hydroxydes d'aluminium et de magnésium. Au niveau gastrique, ces hydroxydes sont transformés en chlorures qui sont acheminés dans le duodénum pour y être métabolisés,

**II.4.3.3.2.1. Hydroxyde de magnésium:** Il est transformé en carbonates et en savons insolubles.

**II.4.3.3.2.2. Hydroxyde d'aluminium :**

Il donne des composés basiques et des carbonates qui à leur tour produisent des savons et des phosphates insolubles.

---

### **III. Matériels et méthodes :**

#### **III.1. Objectif de l'étude :**

L'objectif de cette étude est de contribuer à expliquer le mécanisme d'action d'une espèce végétale «grenade», connue depuis longtemps pour ses vertus thérapeutiques au traitement des troubles digestifs en médecine traditionnelle.

Elle comprend également des objectifs spécifiques, tel que l'étude chimique en vue d'établir une relation entre les substances chimiques identifiées dans la plante (écorce de grenade) et certaines propriétés thérapeutiques intéressantes, notre travail s'articule sur :

- ✓ Préparer les différents extraits à partir de l'écorce de grenade par différentes méthodes telles que la macération, la décoction et réaliser l'extraction des tanins,
- ✓ Caractériser les extraits par identification des principaux groupes et composants chimiques par dosage phytochimique ;
- ✓ Évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne ;
- ✓ Évaluation in vitro de l'activité antireflux et anti-acide des extraits obtenus par différentes méthodes.

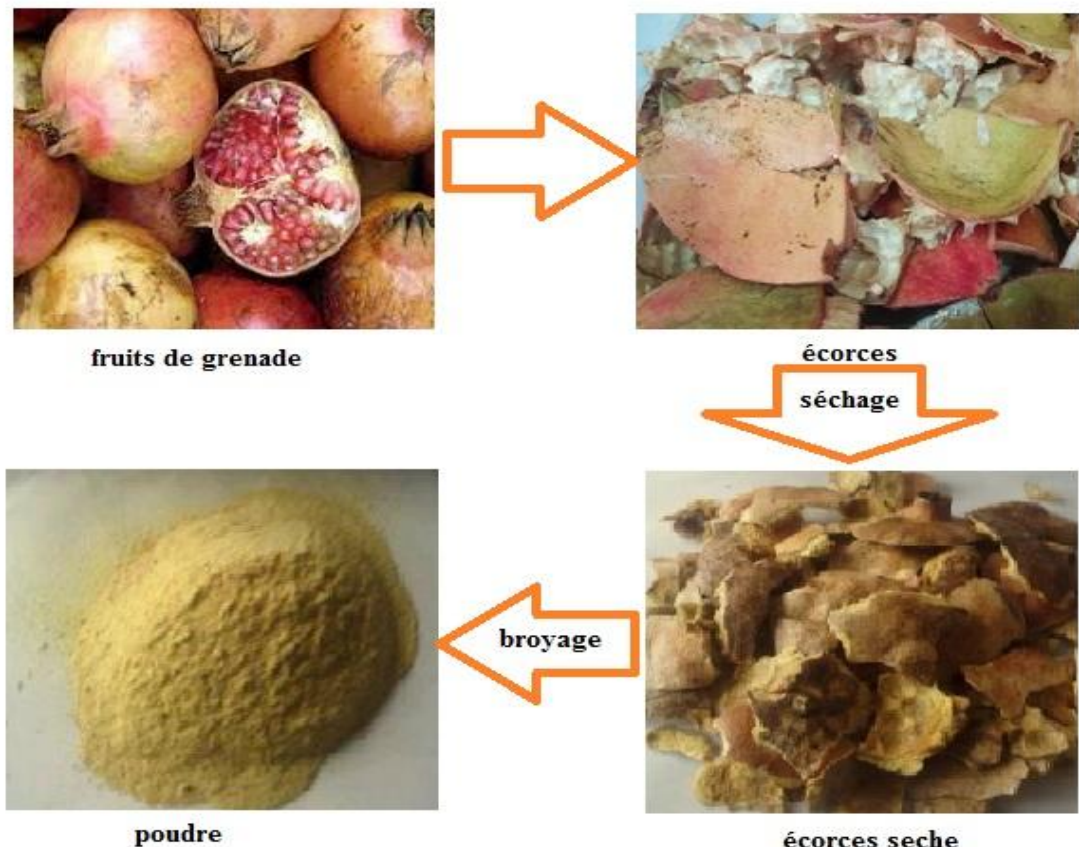
#### **III. 2. Matériel végétal :**

Le choix de la plante utilisée dans ce travail pour sa valorisation en tant que principe actif. La récolte des fruits a été réalisé au niveau de la Mitidja au mois de décembre 2020.

##### **III. 2.1 Préparation et conservation de la poudre de l'écorce du fruit de grenade :**

Les écorces des fruits ont été ramassées, triés et séchés dans une étuve à une température de 50°C pendant une durée d'une semaine. Une série de broyages a été entamée à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine nécessaire à la préparation de différents extraits, pour éviter toute sorte de contamination de la poudre

obtenue, elle est conservée à l'abri de l'air et de l'humidité. La figure ci-après illustre les étapes de préparation réalisées.



**Figure III.1** : étape de préparation de la poudre d'écorce du fruit de grenade

### III.3. Extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide consiste à faire passer une substance d'un solide vers un solvant à température ambiante, à chaud ou en ébullition dans lequel elle est soluble et dont elle sera facilement isolable. Le processus nécessite une durée de contact du solvant avec le solide préalablement broyé avant extraction. [11]

C'est une opération utilisée dans plusieurs domaines « l'agroalimentaire, pharmaceutiques, teintures, parfums » à différentes dénominations telles que la percolation, 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 un procédé qui consiste à laisser séjourner la poudre de la matière végétale dans un liquide froid pour en extraire les principes actifs solubles, C'est une extraction qui se fait à température ambiante. La méthode d'extraction utilisée est la macération successive par des solvants polaires « l'eau et alcools » ou la quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale.

Dans notre cas on a utilisé 10 g de poudre d'écores de grenade pour un volume de 150 ml du solvant éthanolique, de composition (éthanol 75 %), trois opérations d'extraction ont été effectuées, avec des mesures de pH en fonction du temps d'extraction pour les solutions obtenus.



**Figure III.2 :** Photo de l'extraction par macération

**b) Extraction par décoction :**

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs de la poudre végétale par dissolution dans l'eau en ébullition. C'est une extraction qui se fait à température élevée. On fait dissoudre 10 g de poudre de la poudre de grenade dans un 150 ml de solvant, on mesure la variation du pH en fonction de temps pour chaque extraction.

Le montage expérimental de l'extraction par décoction est illustré dans La figure ci-après.



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

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

Pour identifier des principaux composants de l'écorce de grenade, l'étude phytochimique, 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 (MS) :** La matière sèche est constituée d'un ensemble des substances organiques et inorganiques, contenues dans la matière végétale. On détermine La matière sèche par la pesée d'un échantillon de matière végétale  $E = 3\text{g}$  avant et après évaporation à  $105^\circ\text{C}$ . **MS** est exprimée en  $\text{g}/100\text{g}$  de poids frais.

#### **III.4.2. La matière minérale ; les cendres (MM) :**

Elle est déterminée par incinération de la matière végétale sèche dans un four à température de  $550^\circ\text{C}$ , jusqu'à une masse constante.

#### **III.4.3. La matière organique :**

La matière organique correspond à la différence entre le poids sec et les cendres (correspondant à la MM) qui en résultent. C'est la différence entre la matière sèche et la matière minérale.

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

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

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.

---

### III.5. Méthodes d'analyses chimiques des extraits :

Cette partie de notre étude a été réalisé au département de biologie à la faculté des sciences de la nature et la vie à l'université Blida 1

#### III.5.1. Réactifs de détection des familles chimiques :

**III.5.1.1. Préparation des réactifs :** chaque famille de composés chimiques nécessite un réactif de détection spécifique tel que :

- ✓ **Réactif de Dragendorff :** c'est un indicateur pour **les alcaloïdes**. On fait bouillir 14g d'iodure de sodium avec 5.2 g de carbonate de bismuth basique dans 50mL d'acide acétique glacial pour quelques minutes. On Laisse reposer durant une nuit et on sépare le précipité d'acétate de sodium du filtrat à 40mL du filtrat rouge-marron, et on ajoute 160mL et 1 ml d'eau, enfin on stoke cette solution à l'ombre. En cas de besoin, on ajoute 20mL d'acide acétique à 10 ml de cette solution puis on remplit jusqu'à 100 ml avec de l'eau.
- ✓ **Réactif d'Hager :** C'est une solution aqueuse standard d'acide picrique, utilisé pour déceler les alcaloïdes.
- ✓ **Chlorure ferrique alcoolique:** Utilisée pour déceler les **phénols**, C'est une solution à 5% M/V de chlorure ferrique dans 90% d'alcool.
- ✓ **Réactif de Mayer:** faire 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, Utilisé pour déceler les alcaloïdes .
- ✓ **Réactif de Molisch:** Utilisé indicateur des carbohydrates. Dissoudre 10g d'alpha-naphthol dans 100 ml d'alcool à 95%.
- ✓ **Réactif de Wagener:** 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.

---

**III.5.1.2. Tests de détection des constituants chimiques :**

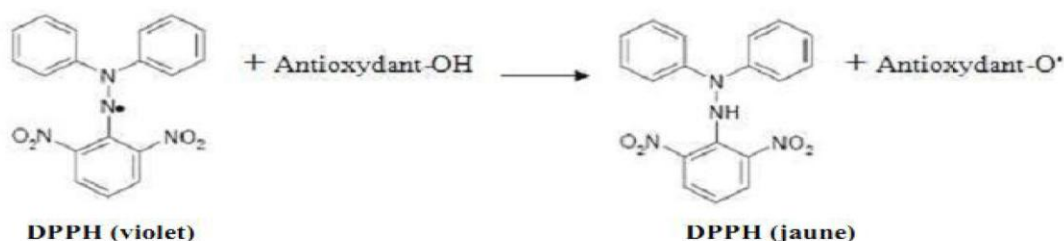
- ✓ **Test de détection des alcaloïdes:** faire mélanger une petite quantité d'extraits aqueux ou alcoolique séparément avec quelques gouttes de HCl dilué puis filtrer. Le filtrat est testé grâce à plusieurs réactifs des alcaloïdes. Le réactif de Mayer (précipité crème), le réactif de Dragendorff (précipité marron-orange), le réactif de Hager (précipité jaune), le réactif de Wagener (précipité marron-rougeâtre).
- ✓ **Test de détection des carbohydrates :** Dissoudre une quantité (200mg) de l'extrait aqueux et alcoolique séparément dans 5 ml d'eau distillée puis filtrer, le filtrat est testé avec le réactif de Million.
- ✓ **Test de Millon:** pour un volume de 2-3 ml d'extrait aqueux, Ajouter quelques gouttes d'alpha-naphtol en solution alcoolique, mélanger, Ajouter  $H_2SO_4$  concentré sur les côtés du tube. Un anneau violet se forme à la jonction des deux liquides.
- ✓ **Test de Fehling:** Faire 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:** On mélange 2 ml d'extrait avec 2 ml de chloroforme, ajouter 2ml d'anhydride acétique et 2 gouttes de  $H_2SO_4$  sur les côtés du tube à essai. Une couleur d'abord rouge, bleue puis verte apparaît.
- ✓ **Test de Legal :** On ajoute 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, on ajoute du  $H_2SO_4$  dil. Faire bouillir et filtrer, ajouter un volume égal de benzène ou le chloroforme, agitez bien. Séparez le solvant organique on ajoute 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  $\text{FeCl}_3$  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  $\text{NH}_4\text{OH}$ , un excès de solution de  $\text{AgNO}_3$  à 10%. Chauffer pour 20min dans un bain-marie bouillant : ppt blanc puis observer un miroir d'argent sur les côtés du tube à essai
  - ✓ **Tests pour les saponines:** test de mousse. [88]

### III.6. Méthode de détermination de l'activité antioxydante, Piégeage du (DPPH) :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits. [25]

L'activité antioxydante de l'extrait vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm (**Figure IV. 09**). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.



**Figure III.04 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

### III.6. 1. Piégeage du radical DPPH :

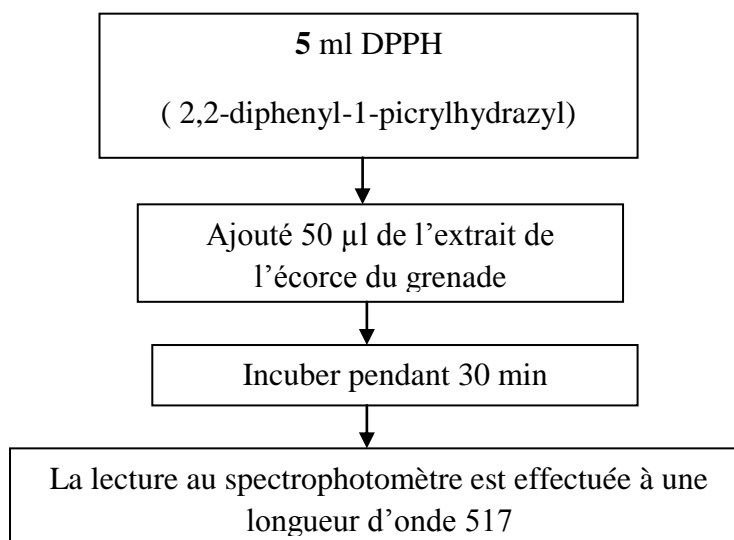
L'effet de l'extrait de l'écorce de grenade sur le (DPPH) est mesuré par la procédure décrite par **Sanchez et ces collaborateurs (1998)**. Un volume de 50  $\mu$ l de différentes concentrations de l'extrait (0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5 mg/ml) est ajouté à 1.950  $\mu$ l de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 min d'incubation à la température ambiante. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{[\text{DO}_{\text{témoin}} - \text{DO}_{\text{échantillon}}]}{\text{DO}_{\text{témoin}}} * 100$$

**Où : DO témoin :** représente l'absorbance du contrôle sans extrait après 30 min.

**DO échantillon :** représente l'absorbance en présence d'extrait après 30 min.

La variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait nous permet de calculer la concentration efficace (efficient concentration value : IC50). La valeur IC50 est la concentration du substrat qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH déterminée graphiquement.



**Diagramme III.1 :** Mesure de l'activité antioxydante.

### III.7. Méthode d'étude de l'activité antibactérienne :

#### III.7.1. Identification et isolement des souches :

Les souches ont été identifiées et isolées. Elles ont été conservées par la suite au réfrigérateur dans des tubes à essai contenant de la gélose inclinée ou sur milieu de conservation. Toutes les souches utilisées pour la préparation d'inoculum ont été auparavant repiquées sur gélose nutritive (bactéries) et OGA (champignons) dans des boites de pétri et incubées à 37° C pendant 18 à 24 heures.

#### III.7.2. Souches microbiennes utilisées :

**Tableau III.1** : les microorganismes utilisés.

Souches utilisées	
Bactéries à Gram(-) :	<i>Escherichia coli</i>
Bactérie à Gram (+) :	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Bacillus subtilus</i>
a- Levure :	<i>Candida Albicans</i>
	<i>Aspergillus niger</i>

L'extrait testé est l'extrait éthanolique de grenade il a été dissoud dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO). Le test a été effectué à différentes concentrations des extraits : 1g/ml (100%), 0.5g/ml (50%), 0.25g/ml (25%), 0.125g/ml (12.5%).

#### III.7.3. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques (Rahal et al. 2005).

#### III.7.4. Préparation des inoculums :

Dans la zone septique du bec bunsen et à partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement gélose nutritive, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son

---

opacité doit être équivalente à 0.5 MC Farland. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau distillée stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

### **III.7.5. Ensemencement et dépôt des disques :**

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont imprégnés ensuite d'une petite quantité des extraits (plus de 20 µl par disque) et déposés sur la surface de la gélose inoculée. Des disques de papier Whatman imprégnés de DMSO servant de témoin négatif, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures

### **III.7.6. Lecture des antibiogrammes :**

La lecture des antibiogrammes se fait à l'aide d'un pied à coulisse, elle se réalise à l'extérieur de la boîte pour les milieux MH et à l'intérieur de la boîte pour MH au sang. Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

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

La propriété d'un médicament anti reflux 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 de déterminer la capacité de formation du radeau par l'extrait de l'écorce de grenade, Nous mettons 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1M dans un bécher de 250 ml, on maintient à une température de 36,5°C à 37,5°C dans un bain-marie, avec la précaution d'ajuster le niveau d'eau du bain au même niveau que celui de l'acide dans le bécher, nous utilisant une seringue sans aiguille, une quantité équivalente à 20 ml de l'extrait de l'écorce de grenade précédemment agitée est prélevé et introduite rapidement au centre de bécher, la figure ci-après illustre le montage expérimental utilisé pour cette étape.





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

### III.9. Caractérisation de l'activité anti-acide :

L'activité anti-acide repose sur la neutralisation de l'acidité gastrique. On a effectué une étude basée sur le 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 du 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 injecté continuellement dans le bécher sous agitation constante, avec enregistrement du pH en fonction du temps afin de voir la cinétique de neutralisation. La figure ci-après illustre le montage expérimental réalisé pour le profil de neutralisation.



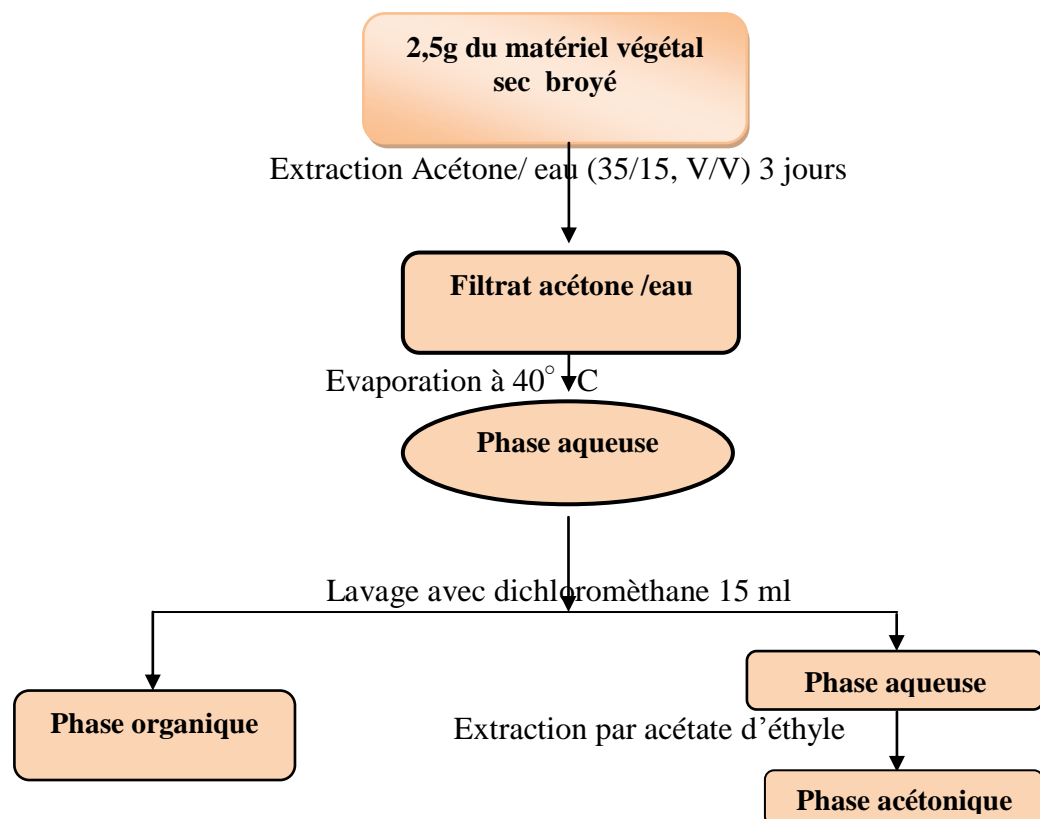
**Figure III.6:** Montage du profil neutralisation.

### III.10. Extraction des polyphénols :

#### III.10.1. Extraction des tannins :

On base dans cette étape de notre étude sur cette classe des composés chimique et leurs mécanismes d'actions. L'extraction des tanins a été effectuée selon la méthode adaptée par Zhang et al. [24]

2,5g de poudre de matériel végétal a été extraite par 50 ml du mélange acétone/eau distillée (35/15, V/V) et laissée durant trois (03) jours à une température ambiante. La solution est ensuite filtrée, suivi par l'élimination des solvants par évaporés à 40°C dans un rotavapeur type buchi r-200. 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 puis pesé et repris par 3 ml de méthanol. La procédure est schématisée ci-après (Figure IV.10).



**Diagramme III .2:** schéma du protocole d'extraction des tanins.

Après l'évaporation, on dissoud 2,5g dans 50 ml d'eau distillée, et on réalise l'expérience de la neutralisation.

		
Ecorce de grenade Nettoyées et Broyées	Macération : 2,5g du broyat dans 50 ml du mélange acétone/eau pendant 3 jours avec agitation périodique et filtration	l'élimination des solvants par évaporés à 40°C rota vapeur

**Figure III.07** : l'extraction solide-liquide des composés phénoliques (tanins) des écorces du grenade.

## IV. Résultat et discussion

### IV.1. Rendement d'extraction :

La préparation des extraits à partir des écorce de grenade a été effectuée par deux méthodes : macération à la température ambiante par solvants « l'éthanol 20% » et par décoction (eau bouillir) Ces méthodes permis d'obtenir deux extraits de couleur maron claire dont le rendement calculé selon la relation suivante :

$$R = (\text{poids de l'extrait obtenu} / \text{poids de la matière végétale totale}) \times 100,$$

Les résultats sont résumés dans le tableau IV.1

**Tableau IV.1 :** Aspect, couleur et % du rendement des différents extraits d'écorces de la grenade

Extraits	Aspect	Couleur	Rendement
Macération	Pâte collante	Brun	30%
Décoction	Pâte collante	Brun	30%

### IV. 2. Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur deux différents extraits éthanoliques et aqueux préparés à partir de l'écorce du fruit de grenade en utilisant des solvants de polarités différentes et des réactifs spécifiques de révélation. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Les résultats des tests réalisés sont résumés dans le Tableau IV.2.

#### IV. 2. 2. Taux de matière sèche, d'humidité et de matière organique :

**Tableau IV.2 :** 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%

La matière végétale, objet de notre étude présente une tendance organique importante avec un taux de 80.55%.

### IV2.3. Résultats des tests de détection des constituants chimiques :

Les tests effectués en vue d'établir une relation entre les substances chimiques identifiées dans la plante (l'écorce de grenade) et certaines propriétés thérapeutiques intéressantes tel que de l'activité anti-acide, anti reflux , anti oxydante et antimicrobienne.

les composés phénoliques existants dans la matière végétale ; l'écorce du fruit de grenade ont été vérifiés par plusieurs tests préliminaires. Les résultats illustrés dans le (Tableau IV.2) sont des tests phytochimiques qualitatifs des deux extraits éthanoliques et aqueux, nous montre clairement que les écorces de grenade sont riches en alcaloïdes et en tanins, alors que aucun test 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 IV.3** : résultats des tests de détection des constituants chimiques dans les deux extrait (aqueux, éthanolique).

	Tests	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
<b>1</b>	<b>Alcaloïdes</b>		
	Test de Dragendroff	-	-
	Test de Mayer	+	+
	Test de Hager	+	+
	Test de Wagner	-	-
<b>2</b>	<b>Carbohydrates</b>		
	Test de Fehling	+	+
	Test de Molish	+	+
<b>3</b>	Polyuronides (Mucilage/gomme/pectine)	-	-
<b>4</b>	<b>Tannin et Composés phénoliques</b>		
	Solution FeCl <sub>3</sub> 5%		+
	Solution de Gélatine	+	+
	Solution d'Acide Acétique	+	+
	Solution de Bichromate de Potassium	+	+
	Solution diluée d'Iode		+

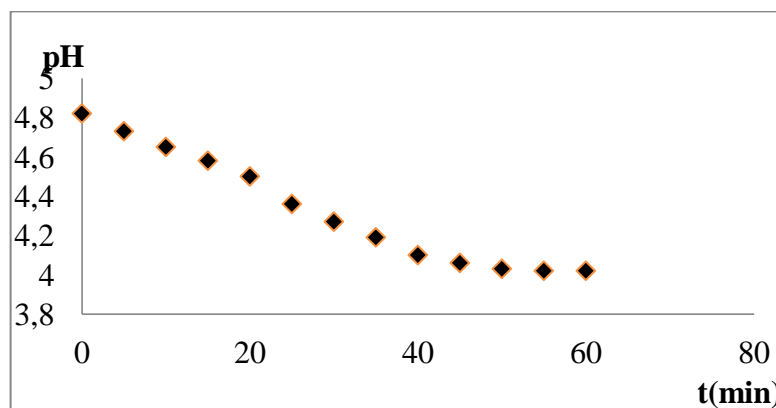
<b>5</b>	<b>Glycosides</b>		
	Test de Liebermann-Burchard	-	-
	Test de Legal	-	+
	Test de Borntrager	-	-
<b>6</b>	<b>Flavonoïdes</b>		
	Test de SHIBATA	+	-
	Test de Shinoda	-	-
<b>7</b>	<b>Saponines</b>		
	Test hémolytique	-	-
	Test de mousse	-	-
<b>pH</b>	<b>pH</b>	4.64	4.60

À la lumière de résultats obtenus précédemment qui nous donnent une explication du mécanisme d'action des extraits des écorces du fruit de grenade par différentes méthodes (neutralisation, formation de radeau et par oxydation) et leur rapidité de réaction contre l'acidité gastrique, il semble qu'il y a une forte probabilité que les polyphénols, tannins sont responsables de ses activités.

### IV.3. Stabilité du pH des extraits en fonction du temps d'extraction :

#### IV.3.1. pH de l'extrait obtenu par macération :

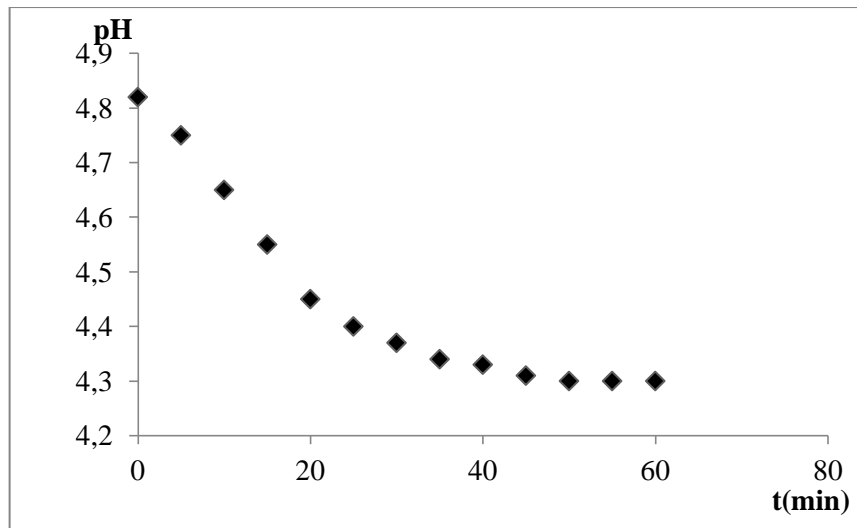
La figure ci-après montre clairement que le pH de l'extrait varie au cours du temps, par une décroissance d'une valeur pH= 4.9 au pH= 4, avec stabilisation dans cette dernière dans une durée de 60 min, cette valeur du pH est très comparable à celles des antiacides commerciaux, aussi c'est un indice pour considérer les extraits de l'écorce de grenade peuvent réagir par neutralisation.



**Figure IV.1 :** Variation du pH en fonction du temps d'extraction par macération.

### IV.3.2. pH de l'extrait obtenu par décoction :

La variation des pH de l'extrait en fonction du temps d'extraction sont représentés par la figure ci-dessous:

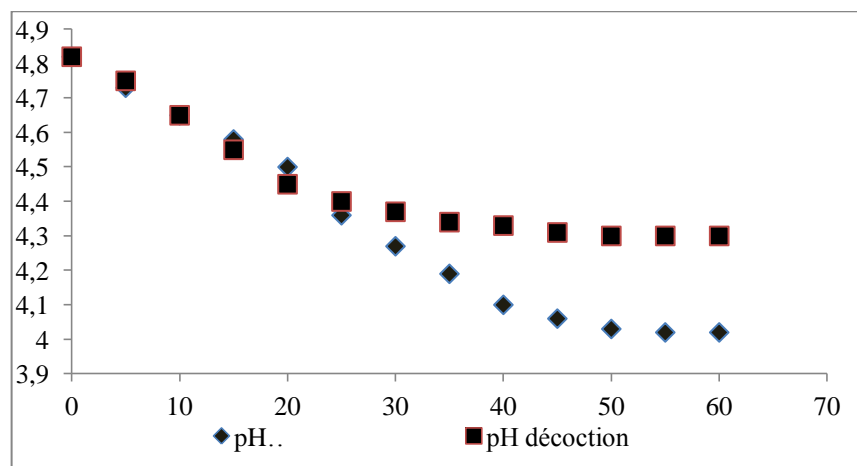


**Figure IV.2 :** courbe de variation du pH en fonction du temps d'extraction par décoction.

Le pH d'extrait a diminué de 4,9 à 4,3, avec une stabilisation dans cette dernière au bout de 60 minutes, et c'est une valeur comparable à celle des antiacides commerciaux.

En médecine traditionnelle Les tisanes préparées par les écorces de grenade ont le même principe. Après une boisson d'une tisane d'écorces de grenade, le patient sent un soulagement au niveau de son estomac au bout de une heure

### IV. 3. 3. Comparaisons de la variation des pH d'extraction (macération et décoction).



**Figure IV.3 :** pH en fonction du temps d'extraction par (macération et décoction)

La comparaison de la variation du pH au cours d'extraction des deux méthodes (macération et décoction) est presque de même résultats avec stabilisation du pH entre 4,3 et 4,1, donc la température d'extraction n'a pas d'influence directe sur le pH de l'extrait.

#### IV. 4.Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de grenade et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm.

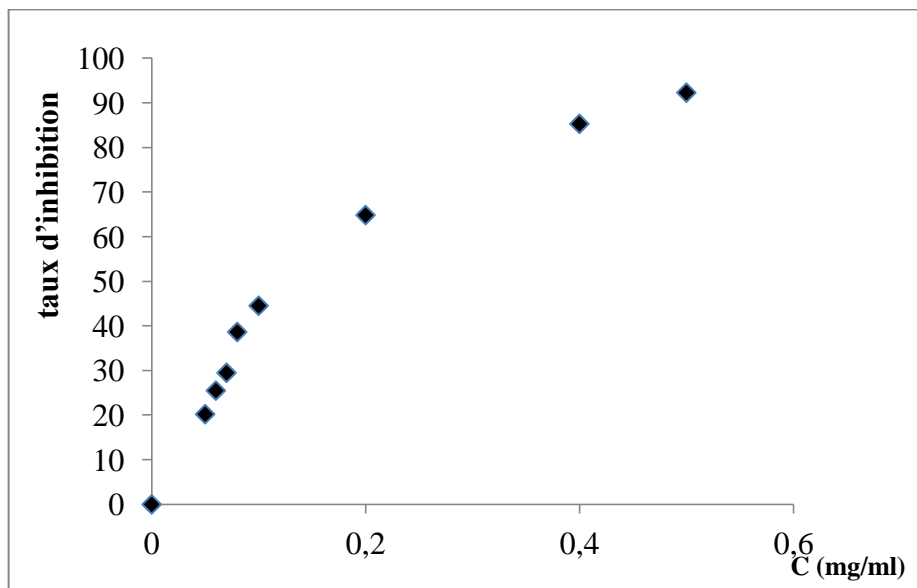


Figure IV.4 : Evolution du taux d'inhibition de DPPH par l'extrait éthanolique du grenade

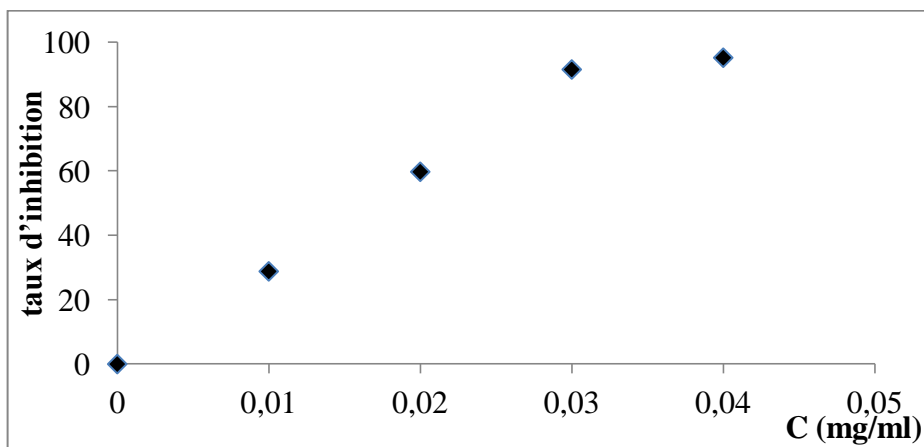


Figure IV.5 : Evolution du taux d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.



La détermination graphique de La valeur IC50, concentration du substrat qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH est égale a  $IC_{50} = 0.12 \text{ mg/ml}$

La courbe de régression (Figure IV.4) montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits de la plante étudiée jusqu'à un niveau maximal.

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'écorces de la grenade évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH a révélé que l'activité est très élevée, Il est à noter que plus la concentration de l'extrait est petite plus l'extrait est un bon antioxydant.

#### IV. 5.Evaluation de l'activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de extrait par la méthode de diffusion en milieu solide, cette activité a été révélée sur deux souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*)

**Tableau IV.5 :** Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations de l'extrait

Les extraits éthaloniques	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923			
	1	2	3	4
grenade	12±0.33	11±0.22	10±0.34	8±0.25

**Tableau IV.6 :** Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Escherichia coli* différentes à différentes concentrations de l'extrait

Les extraits méthaloniques	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536			
	1	2	3	4
grenade	12±0.33	10±0.32	8±0.31	-

Les analyses microbiologiques effectuées ont montré que ces écorces de fruits de grenade ont une forte activité bactériologique contre les (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) aussi ne contiennent pas des coliformes fécaux et totaux, ni bactéries ni germes de *staphylococcus aureus*, donc la présence de substances antibactériennes spécifiques est confirmée. Alors cette bonne activité bactériologique de l'extrait est en relation directe avec les propriétés de leurs composants chimiques.

#### **.IV.6. Caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade :**

Les résultats obtenus par l'expérience de formation de radeau, nous a montré que rien n'a été observé et aucun radeau ne s'est formé, on constate alors que les extraits des écorces de grenade ne présentent pas d'activité anti reflux. La figure ci-après montre la solution obtenue qui est limpide et laiteuse et ne montre aucun déphasage comme il est supposé se former avec un radeau.

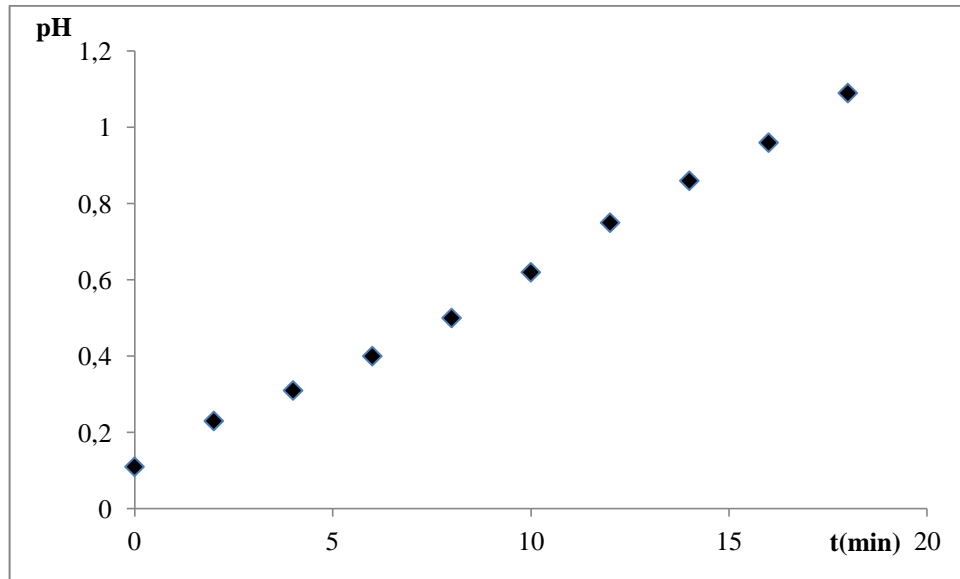


**Figure IV.6:** Résultat du test de formation de radeau par les extraits de l'écorces de grenade.

### **IV. 7. Neutralisation avec les différents extraits :**

#### **IV. 7.1. Neutralisation avec l'extrait obtenu par macération :**

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

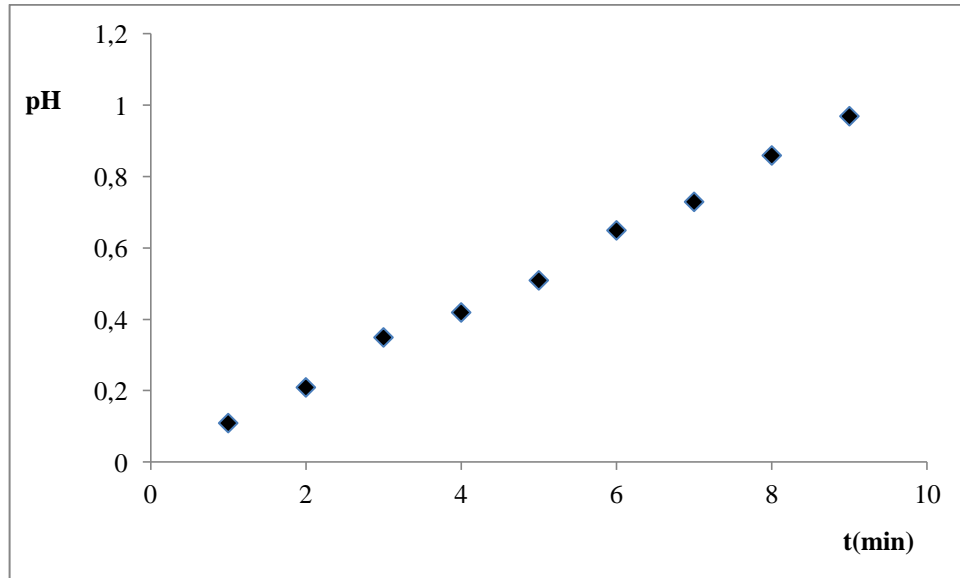


**Figure IV.7 :** Profil de neutralisation avec l'extrait de l'écorce de grenade récupéré par macération

A la lumière de cette figure, on remarque que l'effet de l'écorce de grenade récupéré par macération a provoqué une croissance du pH, d'une valeur  $\text{pH} = 0,11$  jusqu'au  $\text{pH} = 1$ , ce pH est presque le même que celle des antiacides commerciaux qui agissent par effet de neutralisation. Aussi on peut noter que dès les premières minutes, l'extrait agit sur les acides présents dans l'estomac pour atteindre une valeur supportable par le patient au bout de 60 minutes, pour qu'il se stabilise au pH d'un patient en bonne santé au bout de 100 min, action relativement lente du point de vue des souffrances causés par les acides gastriques.

#### **IV. 7.2. Neutralisation avec l'extrait obtenu par décoction :**

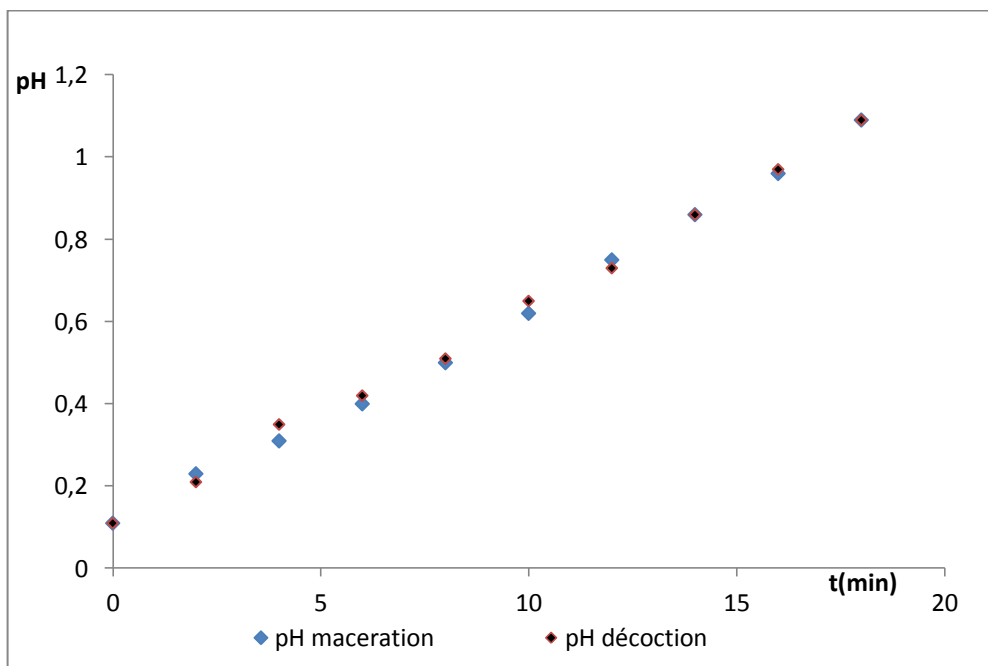
Le profil de neutralisation par les extraits de l'écorce de grenade obtenu par décoction est illustré sur la figure ci-après.



**Figure IV.8 :** Profil de neutralisation de l'extrait de l'écorce de grenade récupéré par décoction.

#### IV. 7.3. Comparaisons de la variation des pH de neutralisation (macération et décoction).

La figure ci-dessous illustre la variation du pH au niveau de l'estomac qui présente généralement un pH voisin de 1 .



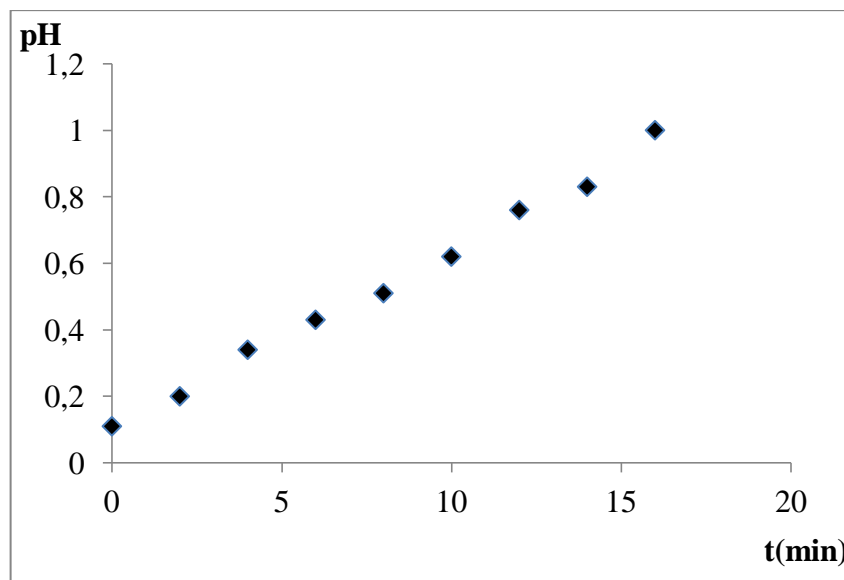
**Figure IV.9 :** comparaison Profil de neutralisation avec l'extrait récupéré par macération et décoction.

Les résultats montrent clairement que la neutralisation par les deux extraits récupérés par (macération et décoction) sont presque les mêmes et montre l'effet notable sur les acides gastriques au bout de 100 min. En effet, au bout de quelques minutes, le patient sentira un soulagement qui se manifeste par une augmentation du pH.

D'une autre part, la comparaison des résultats nous laissent supposer que les composés chimiques responsables de l'activité antiacides ne sont pas affectés par la chaleur, le cas de l'extrait récupérés par décoction.

#### IV. 8. Neutralisation avec les extraits des tanins :

La figure ci-après montre bien le profil de neutralisation par les tanins et la variation du pH en fonction du temps de neutralisation. Au bout de 10 min, le pH passe de la valeur  $\text{pH}=0.11$  à  $\text{pH}=1$ . Donc au bout de 60 min, le pH de l'estomac devient normal avec une valeur de  $\text{pH}=1$ , à cette valeur le patient se sentira très à l'aise. Aussi, en comparaison avec les extraits bruts, c'est profil le plus rapide, dès les premières minutes et s'éloigne des effets indésirables causés par les sécrétions gastriques.



**Figure IV.10 :** Profil de neutralisation par l'extrait des tanins l'écorce de grenade.

A la lumière de cette figure, on remarque que l'effet des tanins extraits de l'écorce de grenade a provoqué une croissance rapide du pH, d'une valeur de 0.11 jusqu'à la valeur de  $\text{pH}=1$  dans un court laps de temps, ce dernier est très comparable à celle des antiacides commerciaux qui agissent par effet de neutralisation. Donc l'extrait agit sur les acides

présents dans l'estomac pour atteindre une valeur supportable par le patient au bout de 60 minutes.

## Conclusion Générale

Le présent travail avait pour objectif de contribuer à identifier le mécanisme d'action **anti-reflux, anti-acide, antioxydant et antimicrobien** des extraits de l'écorce du fruit du grenadier, de comparer la durée d'action à celle des antiacides commerciaux. Ainsi que l'action des tannins purs,

L'étude a porté sur trois échantillons des extraits d'écorces de fruit de grenade. L'extraction de la matière végétale a été réalisée par macération avec solvant (eau + éthanol), par décoction, aussi la séparation par une méthode chimique de l'extrait des polyphénol ( tanins).

En premier lieu, nous nous sommes intéressés à faire des tests de détection des constituants chimiques des deux extraits d'écorces de grenade (aqueux et éthanolique), qui a révélé la présence des **Composés phénoliques** et **Tannins** dans les deux extraits, Les tests de variation du pH en fonction du temps d'extraction ont montré la stabilisation du pH à une valeur comparable à celle des anti-acide commerciale (pH =1).

Les résultats des tests des activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) ont révélé de très fortes efficacités, ce qui laisse suggérer que les extraits sont très prometteurs pour leur utilisation en tant que principes actifs contre certaines pathologies.

Les résultats de l'expérience de caractérisation de l'activité anti-reflux des extraits de l'écorce de grenade montre que rien ne se passe au mélange en fonction du temps, pas de formation d'un radeau, donc les composant des extraits de l'écorce du fruit de grenade non pas une **activité anti-reflux**.

Concernant la neutralisation in vitro de l'acide chlorhydrique avec les extraits obtenus par macération et par décoction, les résultats obtenus ont montrent clairement l'influence de l'extrait sur le pH, qui a progressivement augmenté, en conséquence il ya une diminution des acides présents dans l'estomac, c'est un effet notable sur les acides gastriques au cours du temps, au bout des 15 minutes le pH atteindre une valeur ou on peut dire que le patient sentira un soulagement, et au bout d'une durée de 30 min pour atteindre un pH d'un patient en bonne santé, cette action est relativement lente du point de vue des souffrances causés par les acides gastriques.

Le même effet des extraits sur l'acidité, nous donne l'idée de dire que les composés chimiques responsables de l'activité antiacides ne sont pas affectés par la chaleur (l'extraction par décoction).

La rapidité d'augmentation du pH la neutralisation avec l'extrait des tannins, nous donne l'idée que cette classe chimique est responsable de l'action de neutralisation. C'est ainsi que le pH atteint la valeur normale de 1 au bout de 15 min, ce qui semble être très prometteur pour envisager une formulation à usage pharmaceutique.

.Les résultats de cette étude ont montré que l'écorce de fruit du grenadier contient des composants chimiques tels que les (tanins et polyphénols) qui sont responsables des activités **anti-acide** , **antioxydante et antimicrobienne**, aussi ce fruit peut être une source naturelle des principes actif.

Enfin, cette étude ouvre la voie pour une application thérapeutique des extraits des écorces des fruits de grenade, par réalisation des tests ciblés et qui se rapprochent plus des normes internationales, il s'agit de:

- Identifier les différentes classes de composés chimiques décrits dans cette espèce végétale par des méthodes spectroscopiques et physico-chimiques.
- Envisager d'autres applications thérapeutiques autres que les actions antiacides, l'antioxydant et antimicrobiennes mise en évidence dans cette présente étude.

Faire valoriser les espèces végétales existantes dans notre pays et faire un enrichissement de la base de données des plantes médicinales par de nouvelles espèces végétales non très étudiées telles que la grenade, aussi que les écorces peuvent servir en tant que remède médical au lieu d'être déchet solide nuisibles pour l'environnement.

Développer une forme galénique facilement administrable par voie orale constitue un axe très innovant.



## Références Bibliographiques

- [01] : ALHIJNA oldai Saleh Ali, BOURICH EI Habib « Grenade de Beni Snous , étude et caractérisation chimique des extraits de pépins, évaluation de l'activité microbiologique » . (2017) 16-33
- [02] : PRAKASH C, PRAKASH I. « Bioactive chemical constituents from pomegranate (Punicagranatum) » juice, seed and peel-A Review - IJRCE 1. ( 2011) 03
- [03] : DEBICHE Idir, STOUTAH Karim « Caractérisation d'une variété de grenade (Punica granatum L ) et essai de préparation de boisson de type cocktail à base de jus de grenade et de pomme » Université MOULOUD MAMMERI. (2018) 03-12
- [04] : ILHAM HMID « contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (punica granatum l.) caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Alimentation et Nutrition ». Université d'Angers. (2014) 27-30
- [05] : BENYAHIA HADJER, « Micro encapsulation de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) par coacervation complexe (pectine/caséine) » Université M'hamed Bougara Boumerdes. (2016) 06-07.
- [06] : ELODIE WALD « Le grenadier (punica granatum) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes » universite henri poincare - nancy 1. (2009) 63.
- [07] : BAKHTAOUI. H « Effet des extraits phénoliques des écorces de grenade (Punica granatum. L) sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un lait fermenté de type yaourt ». Université Abdelhamid Ben Badis-Mostaganem (2019) 16-17.
- [08] : Beatriz Gullon un et al « Digestion gastro-intestinale in vitro de farine d'écorce de grenade ( Punica granatum ) Modifications de la potentiel antioxydant et composés bioactifs stabilité » Journal of Functional Foods 19 (2015) 617–628.
- [09] : S. Lairini1 et al « Enhancement of the aqueous extract of the bark of Punica granatum fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities) J. Mater. Environ. Sci. 5 (S1) (2014) 2314-2318
- [10] : Angel Calin et al « Punicalagine - antioxydant naturel de la grenade - propriétés et bienfaits pour la santé » universidad miguel hernández, Département de Technologie Agroalimentaire. (2018) 06.
- [11] : FRANÇOISE BARBE « le traitementde l'hyperacidite gastrique et de l'ulcere gastro-duodenal » université dlimoges fculte de Pharmacie. (1993) 46-53.
- [12] : LEWIN M.J.M. « Secretion de l'acide chlorhydrique gastrique mecanismes de stimulation et medicaments inhibiteurs » in : Dive Ch. La maladie ulcereuse, Paris: Doin, 1990 : 25 – 34.

- [13] : MINAIRE Y. « Rappel de la physiologie de la secretion et de la motricite gastrique » in : Mignon M., gastroenterologie precis des maladies de l'appareil digestif, Paris: eds Marketing/ellipses, 1992 : 276 – 284.
- [14] : MIYOSm Aet al «The effect of omeprazole and famotidine on gastric ulcer» A double blind comparative study. Yakuri to chiryo 16 (suppl3) (1988) : 543 - 561
- [15] : MEUNIER Pet al « La digestion» Paris, ed. SIMEP, (1976): 37 – 58.
- [16] : DIVECh «Gastro-enterologie clinique. Oesophage - Estomac» Dinant -(Belgique) : Bourdeaux Capelle, (1986) : 139 .
- [17] : MIGNONM. « L'ulcere resulte d'un desequilibre entre agression et defense de la muqueuse » Med. Digest. et Nutr. (QM) n° special (SK & F) (1985): 11 – 17.
- [18] : RIGAUD D., MERROUCHE M. « La maladie ulcereuse est-elle periodique Gastroenterol » cue, BioI (1990) 14 : 727 -731.
- [19] : SOULE J.C « Mecanismes de defense de la muqueuse gastro-duodenale et physiopathologie de la maladie ulcereuse » in: Dive Ch., La maladie ulcéreuse, Paris: Doin, (1990) : 35 – 37.
- [20] : DELCHIER Joe « Traitement medical de la maladie ulcereuse gastro-duodenale » Notions fondamentales et pratiques. Editions techniques - Encycl. Med. Chir (Paris - France) Estomac - Intestin - 9023 B (1991) : 11 .
- [21] : VATIERJ et al « Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications therapeutiques » Paris: Frison - Roche, (1989) : 179 – 188.
- [22] : VATIER J et al. « Pharmacologie clinique bases de la thérapeutique » Paris Expension Scientifique française, 2°ed, (1988) : 1785 – 1798.
- [23] : VATIER J., NGUYEN PHUOC B.K « Bases pharmacologiques dans l'usage des antiacides » Med et Hyg, (1984) 42 : 257 – 263.

## Annexes

**Tableau:** le taux d'inhibition de l'extrait DPPH.

<b>C (mg/ml)</b>	0	0.05	0.06	0.07	0.08	0.1	0.2	0.4	0.5
<b>PI %</b>	0	20.23	25.52	29.51	38.66	44.55	64.88	85.33	92.33

**Tableau:** Taux d'inhibition de l'acide ascorbique DPPH.

<b>C (mg/ml)</b>	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08
<b>PI %</b>	0	28.82	59.77	91.57	95.23	96.18	96.37

**Tableau :** pH en fonction du temps de neutralisation avec extrait récupéré par macération

<b>t(min)</b>	<b>pH macération</b>
0	0,11
2	0,23
4	0,31
6	0,4
8	0,5
10	0,62
12	0,75
14	0,86
16	0,96
18	1,09

**Tableau :** pH en fonction du temps de neutralisation avec extrait récupéré par décoction.

<b>t(min)</b>	<b>pH</b>
0	0,11
2	0,21
4	0,35
6	0,42
8	0,51
10	0,65
12	0,73
14	0,86
16	0,97
18	1,09

**Tableau :** pH en fonction du temps de neutralisation avec extrait des tanins .

<b>t(min)</b>	<b>pH</b>
0	0,11
2	0,2
4	0,34
6	0,43
8	0,51
10	0,62
12	0,76
14	0,83
16	1

## Notations et abréviations

<b>pH</b>	Potentiel hydrogène ;
<b>HCL</b>	acide chlorhydrique ;
<b>RGO</b>	Reflux gastro-œsophagien ;
<b>MS</b>	taux de matière sèche ;
<b>MM</b>	matière minérale ;
<b>MO</b>	matière organique ;
<b>HC03<sup>-</sup></b>	bicarbonates ;
<b>Fécl<sub>3</sub></b>	Chlorure ferrique ;
<b>CHcl<sub>3</sub></b>	Chloroforme ;
<b>Hg<sub>2</sub> cl<sub>2</sub></b>	Chlorure mercurique ;
<b>DMSO</b>	diméthyl sulfoxyde ;
<b>E</b>	Masse de la matière végétale ;
<b>DPPH</b>	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ;
<b>IC50</b>	concentration efficace ;
<b>OMS</b>	organisation mondiale de la santé ;
<b>LDL</b>	lipoprotéines de basse densité.