

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur et de La Recherche
Scientifique
Tasdawit Mulud At Maamar



MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Mémoire présenté par BAYOU Naima et ABOUDIL Nesrine

Facultés des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie

Préparé dans le Laboratoire Pédagogique de Biochimie

**Étude phytochimique et évaluation in vitro de quelques
activités biologiques de l'extrait foliaire du goyavier
(*Psidium guajava L.*)**

Devant le jury composé de

Mme SENANI OULARBI N.	MCA	UMMTO	Président
Mme SI AHMED ZENNIA S.	MCA	UMMTO	Rapporteur
Mr SEBBANE H.	MCB	UMMTO	Examineur

Année universitaire 2023/2024

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de mémoire. En premier lieu, nous sommes profondément reconnaissantes envers notre promotrice Mme SI AHMED ZENNIA S, Maitre de Conférences à l'Université M.MAMMERY de Tizi-Ouzou (UMMTO), qui nous a fait l'honneur de nous inspirer ce sujet passionnant, pour sa guidance, son soutien sa patience et ses conseils tout au long de ce travail.

Nous sommes très reconnaissantes à Madame SENANI-OULARBI N, Maitre de Conférences à l'université M.MAMMERY de Tizi-Ouzou (UMMTO) pour son précieux apport dans notre cursus et pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury.

Nous remercions également Mme AMAR KHOUDJA ingénieur de laboratoire de Biochimie pour son accueil, pour les moyens et les conditions favorables mis à notre disposition pour la réalisation de notre expérimentation. Nos remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire de recherche (LABAB), en particulier Mme BOUADJELA L ainsi que tous les doctorants (tes) et les enseignants chercheurs pour leur aide précieuse et leur orientations.

Nous désirons aussi remercier tous les enseignants intervenant dans la spécialité « Master Biochimie Appliquée » qui nous ont fourni les outils nécessaires et les clés de la réussite dans nos études universitaires.

Un chaleureux remerciement à nos parents pour leur amour inestimables, leurs soutiens, leurs sacrifices et leurs encouragements. Nous remercions aussi tous les autres membres de famille pour leur encouragement constant et ceux qui ont contribué de près ou de loin, pour la réalisation de notre travail.

Enfin, nous tenon à exprimer notre reconnaissance envers tous les chercheurs et auteurs dont les travaux ont été une source d'inspiration et de référence pour ce mémoire.

Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Partie 1 : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Présentation de la goyave (*Psidium guajava* L.)

1.1. La présentation de la famille des <i>Myrtaceae</i> ou <i>Myrtacées</i>	2
1.2. La présentation de l'espèce (<i>Psidium guajava</i> L.)	2
1.2.1. La description botanique.....	2
1.2.2. La taxonomie	2
1.2.3. La composition chimique de la feuille.....	3
1.3. La répartition géographique du goyavier.....	3
1.3.1. Le goyavier en Algérie.....	3
1.3.2. La production mondiale du goyavier	4
1.4. Les effets thérapeutiques du <i>Psidium guajava</i>	4
1.4.1. L'activité antioxydante	4
1.4.2. L'activité anti-inflammatoire	4
1.4.3. L'activité anti microbienne.....	4

Chapitre II : Les métabolites secondaires

2.1. Généralités sur les métabolites primaire et secondaire.....	5
2.2. Classification des métabolites secondaires	5
2.2.1. Les composés phénoliques totaux (CPT).....	5
2.2.1.1. Classification des polyphénols.....	5
2.2.1.1.1. Les acides phénoliques	6
2.2.1.1.2. Les flavonoïdes.....	6
2.2.1.1.3. Les tanins	8
2.2.1.1.4. Les lignanes.....	8
2.2.1.1.5. Les stilbénes	9
2.2.2. Les composés terpéniques.....	9
2.2.3. Les composés azotés	9
2.2.4. Les hétérosides.....	10

Chapitre III : Les activités biologiques

3.1. L'activité anti inflammatoire.....	11
3.1.1. Les anti-inflammatoires.....	11
3.1.2. Les anti-inflammatoires d'origine végétale	11
3.2. L'activité antioxydante.....	11
3.2.1. Les antioxydants.....	12
3.2.2. Les antioxydants synthétiques	12
3.2.3. Les antioxydants naturels	12
3.2.4. Les antioxydants de <i>Psidium guajava</i>	12
3.3. L'activité antibactérienne	12

3.3.1. Les antibiotiques	13
3.3.2. Activité antibactérienne des plantes	13

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1.1. Matériel.....	14
1.1.1. Matériel biologique	14
1.1.2. Matériel de laboratoire	14
1.2. Méthode	15
1.2.1. Préparation de l'extrait brut	16
1.2.1.1. Extraction aqueuse.....	16
1.2.1.2. Extraction éthanolique	16
1.2.2. Rendement de l'extraction	17
1.2.3. Screening phytochimique	17
1.2.3.1. Révélation des saponines	17
1.2.3.2. Révélation des tanins	17
1.2.3.3. Révélation des flavonoïdes	17
1.2.4. Dosage des polyphénols	17
1.2.5. Dosage des flavonoïdes	18
1.2.6. Étude de l'activité antioxydante par le radical DPPH	19
1.2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	20
1.2.8. Activité antibactérienne	21
1.2.8.1. Préparation des inoculums.....	22
1.2.8.2. Standardisation des souches	22
1.2.8.3. Ensemencement	22
1.2.8.4. La détermination de la concentration minimale inhibitrice	22
1.2.9. Activité antibiofilm	23

II. Résultats et discussion

2.1. Rendement d'extraction.....	24
2.2. Étude phytochimique.....	24
2.3. Dosage des polyphénols des feuilles du <i>Psidium guajava</i>	26
2.4. Dosage des flavonoïdes	27
2.5. Activité anti-oxydante.....	27
2.6. Activité anti inflammatoire	28
2.7. Activité antibactérienne	30
2.8. Sélection des souches formatrice de biofilms	31
Conclusion générale	33
Perspectives	33
Références bibliographiques	

Résumé

Psidium guajava, arbre fruitier de la famille de *Myrtaceae* très répandu dans l'ensemble de l'Amérique tropicale et dans le nord de l'Algérie, il est utilisé par la population locale en raison de ses vertus médicinales. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des feuilles de goyave récoltées dans la région de Tizi-Ouzou. L'objectif de ce travail consiste à évaluer la capacité anti-inflammatoire, antioxydante, antibactérienne et antibiofilm de l'extrait foliaire de *Psidium guajava*. Nous nous sommes intéressés d'abord à l'aspect phytochimique en faisant un criblage qui a révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires, en l'occurrence les flavonoïdes, les tanins et les saponines.

En second plan l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée par un test d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine quant à l'activité antioxydante elle a été démontrée par la méthode du DPPH. Les résultats montrent un pourcentage d'inhibition évalué à $74,87 \pm 4,83\%$ pour une des dilutions.

Enfin le dernier volet de notre étude a porté sur la l'évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'extrait éthanolique sur deux souches bactériennes (*S.aureus* et *E.coli*) via la méthode de diffusion sur gélose MH et RC.

Nos résultats montrent que notre extrait présente une activité anti-inflammatoires, antioxydants et antibactérien intéressantes, il serait intéressant de valoriser les feuilles de goyave et d'approfondir cette étude.

Mots clés : *Psidium guajava*, extrait foliaire, activité anti inflammatoire, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antibiofilm.

Summary

Psidium guajava, fruit tree of the Myrtaceae family, popular throughout tropical America and in northern Algeria, it is used by the local population because of its medicinal virtues. This work is part of the valorization of guava leaves produced in the Tizi-Ouzou region. The objective of this work is to evaluate the anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial and antibiofilm capacity of *Psidium guajava* leaf extract. We were first interested in the phytochemical aspect by carrying out a screening which revealed the presence of several secondary metabolites, namely flavonoids, tannins and saponins.

In the background, the evaluation of the anti-inflammatory activity was carried out by an ovalbumin denaturation inhibition test. As for the antioxidant activity, it was demonstrated by the DPPH method. The results show an inhibition percentage estimated at $74.87 \pm 4.83\%$ for one of the dilutions.

Finally, the last part of our study focused on the evaluation of the antibacterial and antibiofilm activity of the ethanolic extract on two bacterial strains (*S.aureus* and *E.coli*) via the diffusion method on MH and RC agar.

Our results show that our extract has interesting anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial activities; it would be interesting to enhance guava leaves and deepen this study.

Key words: *Psidium guajava*, leaf extract, anti-inflammatory activity, antioxidant activity, antibacterial activity, antibiofilm activity.

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CPT : Composés phénoliques totaux

CRP : Protéine C-réactive ; C-Reactive Protein

DO : Densité Optique

DPPH: 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

Ech : Echantillon

EQ : Equivalent de Quercétine

HHDP : Acide Hexahydroxydiphénique ; Hexahydroxydiphenic Acid

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

MH: Mueller Hinton

MS : Matière sèche

NOS : Oxydes Nitriques Synthases ; Nitric Oxide Synthases

PIA: Polysaccharide Intercellular Adhesion

PM: Poids Moléculaire

PP: Polyphénols

RCA: Rouge Congo Agar; Red Congo Agar

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROS : Espèces Réactives d'Oxygène

UFC : Unités Formant Colonies

Liste des Figures

Figure 1	Photographie de l'espèce <i>Psidium guajava</i> L.	2
Figure 2	Répartition de la Goyave dans le monde.	3
Figure 3	Les métabolites secondaires	5
Figure 4	Principales classes des polyphénols	6
Figure 5	Structure de base des flavonoïdes	6
Figure 6	Structure des lignanes	8
Figure 7	Structure de base des stilbénes	9
Figure 8	Structure chimique de quelques terpénoides	9
Figure 9	Les classes les plus importantes des alcaloïdes hétérocycliques	10
Figure 10	Structure d'une saponine.	10
Figure 11	Les échantillons de feuilles de goyave <i>Psidium guajava</i> L	14
Figure 12	Schéma récapitulatif des étapes de nos expérimentations	15
Figure 13	Les étapes des extractions aqueuses et éthanolique	16
Figure 14	Réaction de formation d'un complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (AlCl ₃)	19
Figure 15	Réduction du radicale libre DPPH en DPPHH	19
Figure 16	Schéma illustrant l'expérience sur l'activité anti-oxydante de l'extrait <i>Psidium guajava</i> L.	20
Figure 17	Schéma illustrant l'expérience sur l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de <i>Psidium guajava</i>	21
Figure 18	Schéma illustrant les étapes d'ensemencement	22
Figure 19	Aromatogramme sur gélose MH	23
Figure 20	Révélation des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique (A) et aqueux (B).	25
Figure 21	Résultat de la révélation des tanins sur l'extrait éthanolique	25
Figure 22	Révélation des saponines dans l'extrait éthanolique (A) et aqueux (B)	25
Figure 23	Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en équivalent d'acide gallique (ug/ml).	26
Figure 24	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides en équivalent de quercétine (ug/ml).	27
Figure 25	Histogramme représentant les pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>P.guajava</i> comparé au (BHT)	28
Figure 26	Histogrammes représentant les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Psidium guajava</i> L.	29
Figure 27	Les zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>Psidium guajava</i> L à différentes concentrations contre la souche <i>S. aureus</i> (10 ⁸ UFC) et la souche <i>E.coli</i> . (10 ⁷ UFC)	30
Figure 28	L'activité antibiofilme de l'extrait éthanolique de <i>Psidium guajava</i> sur la souche <i>S. aureus</i> (10 ⁸ UFC)	32

Liste des tableaux

Tableau I	Composés phénoliques des feuilles de goyavier.	3
Tableau II	Les différentes classes des flavonoïdes.	7
Tableau III	Les différentes classes des tanins.	8
Tableau IV	Les antioxydants du goyavier.	12
Tableau V	Effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par les extraits de feuilles de <i>Psidium guajava</i> L et l'acide acétylsalicylique	29

Introduction

Pendant des siècles, les plantes médicinales ont été la principale et la seule option pour traiter diverses maladies. Avec l'essor de la médecine moderne, ces remèdes naturels sont souvent remplacés par des produits synthétiques. Bien qu'ils soient souvent efficaces, les remèdes naturels présentent l'avantage d'avoir moins d'effets secondaires que ces derniers (**Cushnie et Lamb, 2005**). C'est d'ailleurs pour cette raison qu'environ 65 à 80 % des habitants des pays en développement s'appuient principalement sur les plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaires (**Haddouchi et al., 2016**).

Ces plantes offrent une vaste réserve de substances aux propriétés biologiques actives. En effet, leurs composés actifs, reconnus pour leurs activités biologiques intéressantes, sont le sujet de nombreuses recherches tant *in vivo* qu'*in vitro*.

Le goyavier, communément appelé la goyave, est l'un des fruits les plus populaires dans les régions tropicales. Il est souvent dégusté frais, en particulier pour ses variétés les plus juteuses et sucrées, ou transformé en jus et en nectars. En outre, ce fruit est largement utilisé dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés nutritionnelles bien établies, comme le confirment plusieurs études scientifiques (**Sanda et al., 2011 ; Jain et Nema, 2007**).

Des études pharmacologiques variées ont révélé que cette plante, notamment ses feuilles et ses fruits, possède de nombreuses activités telles que anti hyperglycémiant, anticancéreuse, soutien cardiovasculaire, anti-inflammatoire, anti diarrhéique, et bien d'autres encore (**Sanda et al., 2011 ; Vieira et al., 2001**) et cela en raison de la présence de molécules à activité antioxydants tels que les composés phénoliques (acides phénolique, flavonoïdes,...), vitamine C et caroténoïdes (**Borah et al., 2018 ; Soares et al., 2007**).

Dans ce cadre, notre étude se concentre sur l'analyse phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, antibactérienne et anti biofilm de l'extrait foliaire de *Psidium guajava*. Cette approche expérimentale vise à répondre à plusieurs interrogations, notamment :

- Quelle est l'abondance des polyphénols dans cette espèce ?
- La variété des molécules bioactives de cette plante confère-t-elle des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes ?

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
Présentation de l'Espèce

1.1. La présentation de la famille des *Myrtaceae* ou *Myrtacée*.

La famille des *Myrtacées* figure parmi les familles d'arbres fruitiers les plus importants pour le commerce mondial et cela pour ses diverses propriétés médicinales et nutritives.

Cette famille rassemble des dicotylédones, également appelées plantes angiospermes ou plantes à fleurs (**anonyme 1**). Ce sont des arbustes à grand arbre, à feuilles simples, opposées, avec des fleurs bisexuées, parfois polymorphe, actinomorphe présentant des étamines très nombreuses et des ovaires souvent inférieurs (**Mitra et al., 2012**).

1.2. La présentation de l'espèce (*Psidium guajava* L.)

1.2.1. La description botanique.

Le nom du genre *Psidium* vient du grec *sidion* qui signifie écorce de grenade (**anonyme 2**). Le goyavier, un arbre de taille moyenne à l'écorce brune blanchâtre pouvant atteindre dix mètres de hauteur (Figure 1A). Les feuilles sont de forme opposées le long des tiges présentant une nervure centrale (**Prabhudesai et al., 2019**). Les fleurs comportent 4 à 6 pétales blancs et des étamines blanches aux anthères jaunes (Figure 1B).

Le fruit de la goyave existe en plusieurs variétés, toutes consommables, mais qui se distinguent beaucoup les unes des autres par leur forme et leur saveur. La couleur de la peau et de la pulpe du fruit varie selon le cultivar. Elle est influencée par le type et la quantité des pigments (**El-Ahmady et al., 2013** ; Figure 1C).



Figure 1 : Photographie de l'espèce *Psidium guajava* L.
Arbre (A) ; fleur (B) ; fruit (C)

1.2.2. La taxonomie.

La classification scientifique de la goyave, selon **Dakappa et al (2013)** est la Suivante :

- ❖ Règne : *Plantae*
- ❖ Classe : *Magnoliopsida*
- ❖ Sous-classe : *Rosidae*
- ❖ Ordre : *Myrtales*
- ❖ Famille : *Myrtaceae*
- ❖ Genre : *Psidium*
- ❖ Espèce : *PsidiumGuajava* L

1.2.3. La composition chimique de la feuille.

L'analyse phytochimique des feuilles du goyavier en poudre a révélé la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des phénols, des alcaloïdes, des glycosides et des stéroïdes. L'analyse immédiate des feuilles a révélé des concentrations élevées en protéines, glucides et fibres (**Kamath *et al.*, 2008**). Les feuilles de goyave sont par ailleurs connues pour leurs richesses en composés phénolique (**Liu *et al.*, 2014**).

Tableau I : Composés phénoliques des feuilles de goyavier (**Kumar *et al.*, 2021**).

Composés	Teneur (mg/g)
Acide gallique	0.87
Acide chlorosénique	0.62
Acide caféique	0.11
Catéchin	2.25
Epicatechin	1.45
Epigallocatechin gallate	0.47
Quercetine	0.87

1.3. La répartition géographique du goyavier

L'origine géographique du goyavier est l'Amérique centrale, cependant cet arbre exotique est désormais localisé dans de nombreuses régions (**Singh, 2011** ; figure 2). En Afrique il s'installe sous forme de petits îlots forestiers à travers les savanes côtières de la Côte d'Ivoire.



Figure 2 : Répartition de la Goyave dans le monde (**Boutaghane et Tamaguelt, 2019**)

1.3.1. Le goyavier en Algérie.

Le goyavier a été introduit en Algérie par les Français en 1952, à Skikda, en 2010, trois autres arbres ont été plantés avec succès dans la même région (**Bouchoukh, 2021**).

La culture de la goyave en Algérie est très limitée. Hadj Ahmed Hamada est le seul agriculteur spécialisé dans cette culture, il récolte près de 3 tonnes de goyaves par an, vendues exclusivement à Fouka (**Anonyme 5**).

1.3.2. La production mondiale du goyavier

L'Inde est le plus grand producteur de mangue et de goyave dans le monde, avec 18 779 000 tonnes de volume de production par an. La Chine arrive en deuxième position avec 4 771 038 tonnes de production annuelle. L'Inde et la Chine produisent ensemble plus de 50% du total mondial (**Kumar et al., 2013**).

1.4. Les effets thérapeutiques du *Psidium guajava*

La goyave a toujours été connue comme une plante médicinale aux propriétés curatives bien connues depuis l'Antiquité. Elle est traditionnellement employée dans diverses régions du monde pour traiter la diarrhée, les troubles menstruels, les vertiges, l'anorexie, les problèmes digestifs, les rhumes, la toux et bien d'autres affections (**Ravi et Divyashree, 2014**). Un nombre important d'études rapportent que divers composants aux effets anti-inflammatoire, antioxydant et antimicrobien (**Rishika et Sharma, 2012**).

1.4.1. L'activité antioxydante

Des résultats récents ont indiqué que le *Psidium guajava* est une excellente source d'antioxydants qui est dotée d'une richesse en composés phénoliques tel que : l'acide gallique, le pyrocatechol, la taxifoline, l'acides ferrulique, les polysaccharides dotés d'une capacité à piéger les radicaux DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), ainsi qu'une action inhibitrice de la peroxydation lipidique et de la mort cellulaire oxydative induite par le H₂O₂ (**Kim et al., 2016**).

1.4.2. L'activité anti-inflammatoire

Psidium guajava est réputée pour son action anti inflammatoire. Il a été démontré que les extraits foliaire de goyave ont la capacité d'inhiber des chimiokines intervenant dans le processus inflammatoire tel que l'histamine, les prostaglandines et les kinines (**Ravi et Divyashree, 2014**). Et selon **Kwamin et al (2012)**.

1.4.3. L'activité anti microbienne

Les extraits de feuilles, d'écorces et de tiges de *P. guajava* ont montré une activité antimicrobienne grâce à sa richesse en flavonoïdes (**Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010**). Il a été rapporté que les feuilles de *P.guajava* ont une action contre *Vibrio choléra* multi résistant aux médicaments, et pourrait donc être efficace pour le contrôle des épidémies de choléra (**Abdelrahim et al., 2002**).

Ils ont été testés aussi pour leur potentiel antibactérien et se sont révélés efficaces contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Proteus spp*, *Shigella spp* et *Escherichia coli*, qui sont les principaux agents causant des infections intestinales chez l'homme (**Chah et al., 2006**).

Chapitre II
Les Métabolites Secondaires

2.1. Généralités sur les métabolites primaire et secondaire

Les plantes présentent un métabolisme secondaire qui produit des composés phytochimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de bases et qui sont de structure souvent complexe et avec des fonctions variées selon les espèces. Ces métabolites interviennent dans l'interaction des plantes avec leur environnement biotique et abiotique. Plus de 200000 métabolites secondaires ont été découverts et classés selon leurs appartenances chimiques (Labrani, 2022).

2.2. La classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être répartis en quatre grandes catégories : les composés phénoliques, les composés terpéniques, les composés azotés et les hétérosides (Figure 3). Chaque catégorie regroupe une grande diversité de composés.

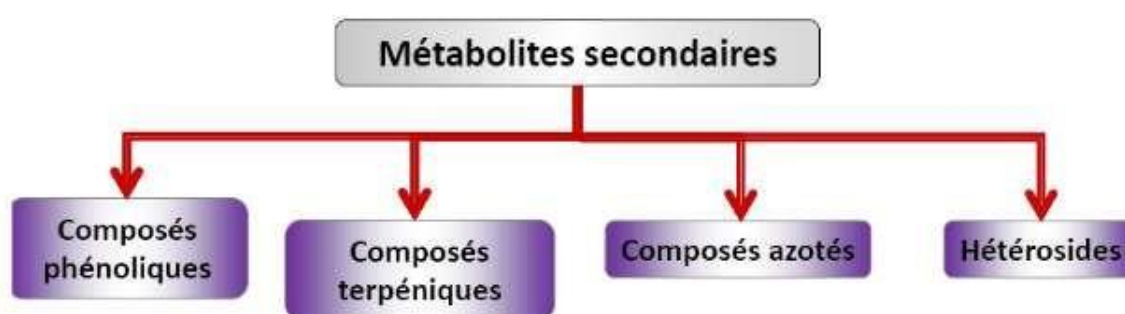


Figure 3 : Les métabolites secondaires (Ghedadba, 2021).

2.2.1. Les composés phénoliques totaux (CPT)

Les composés phénoliques, se trouvant dans toutes les parties des plantes (Lugasi *et al.*, 2003). Ils jouent un rôle crucial dans la défense des plantes contre les agressions environnementales et les attaques microbiennes éventuelles.

Ces métabolites secondaires, qui ont un poids moléculaire élevé, sont impliqués dans divers processus physiologiques tels que la croissance cellulaire (Boizot *et al.*, 2006). Leur structure de base se caractérise par la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont attachés un ou plusieurs groupes hydroxyles libres ou engagés dans d'autres fonctions (éther, ester). La concentration et la transformation des phénols sont responsables de la couleur, de l'arôme et de l'astringence des plantes (Sigla *et al.*, 2019).

2.2.1.1. La classification des CPT

Le nombre et la structure des cycles phénoliques, ainsi que les éléments structuraux qui leur sont attachés, donnent lieu à diverses classes et sous-classes de polyphénols (figure 4), telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes, les lignanes et les tannins (Li *et al.*, 2014).

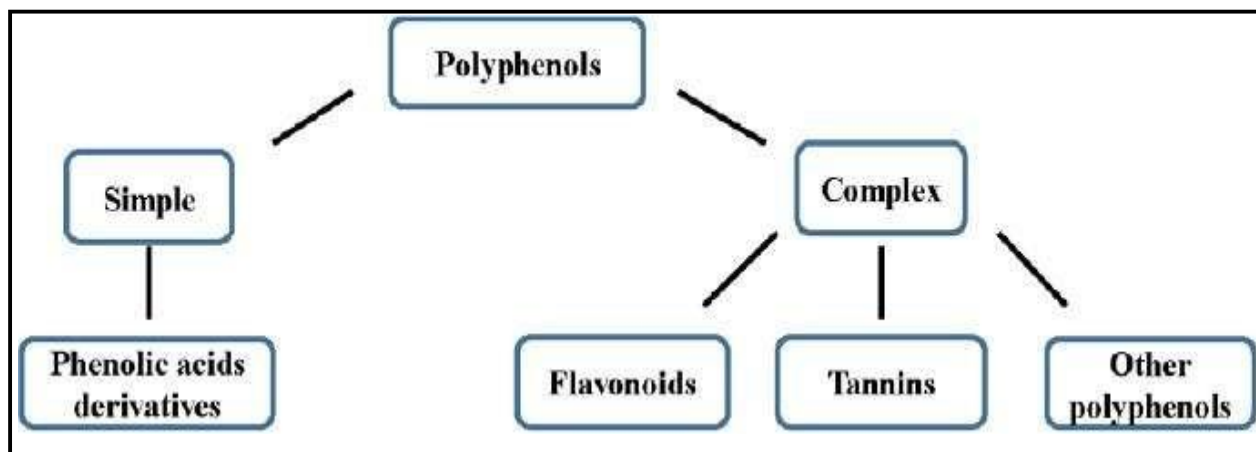


Figure 4 : Principales classes des polyphénols (Aline *et al.*, 2018)

2.2.1.1.1. Les acides phénoliques

Le terme acide-phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et une autre hydroxylique (Abedini, 2013). Nous distinguons deux sous-groupes : hydroxybenzoïque et les hydroxycinnamiques qui diffèrent par leur structure chimique.

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Un ou plusieurs groupes hydroxyle peuvent être attachés au noyau benzénique de ces structures.

2.2.1.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus vaste et le plus répandu dans le règne végétal. Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés à ce jour, et ils constituent des pigments responsables des colorations jaunes, orange et rouges dans divers organes végétaux.

Ces composés forment une large classe de molécules de faible poids moléculaire, caractérisées par un noyau flavane. La (figure 5) illustre les flavonoïdes, qui sont des dérivés du benzo- γ -pyranne. Leur structure chimique de base est un diphenylpropane à 15 atomes de carbone, composé de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (C) (Martínez *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes sont contenus dans divers composants de l'alimentation. Ils ont une action antioxydante puissante *in vitro* (Blanco et Blanco, 2017).

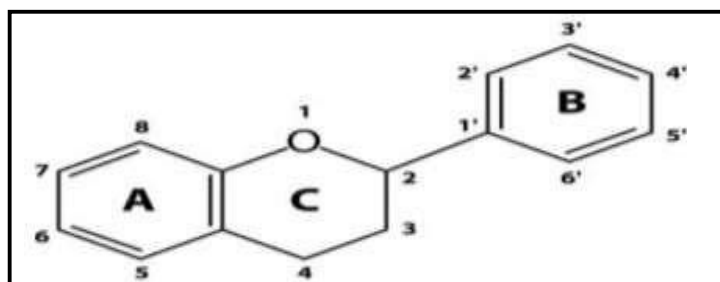
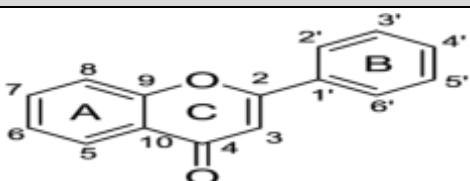
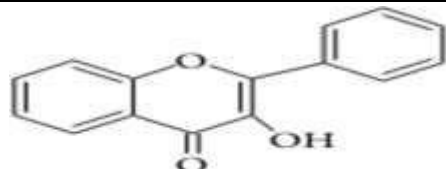
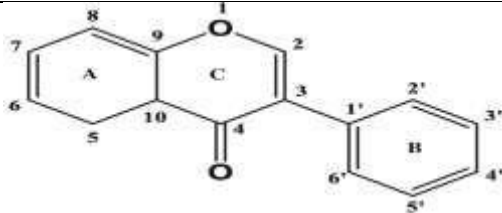
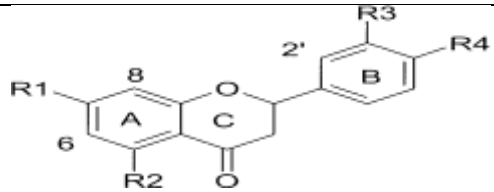
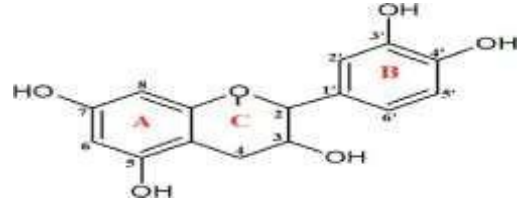


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (Cushnie *et al.*, 2005).

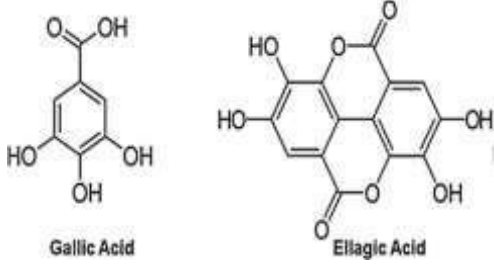
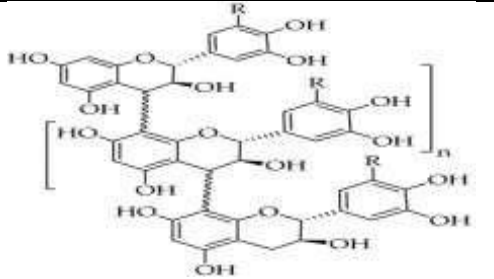
Tableau II : Les différentes classes des flavonoïdes

Classes et Description des flavonoïdes	Structure
<p>Les flavones : Présence d'un groupe carbonyle au C4. Le cycle B est attaché au cycle hétérocyclique au C2, et d'une double liaison entre le C2 et le C3. Les flavones les plus importants sont la lutéoline et l'apigénine (Singla et al., 2019).</p>	 <p>(Catarino et al., 2015)</p>
<p>Les Flavonoles : La substitution du squelette précédent en position 3 par un groupement hydroxyle nous donne le flavonol (Akroum, 2011). On retrouve par exemple la Quercétine.</p>	 <p>(Kumar et Pandey, 2013).</p>
<p>Les isoflavones : Les isoflavones diffèrent des autres flavonoïdes par la liaison du noyau phénolique B à l'hétérocycle C à la position 3. Parmi les isoflavones la génistéine.</p>	 <p>(Jung et al., 2020)</p>
<p>Les flavanones : Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturations au niveau de l'hétérocycle (Muanda, 2010)</p>	 <p>(Nikolic, 2004).</p>
<p>Les flavan-3-ols : Les flavan-3-ols ont une structure avec deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un cycle pyrane (C). Les flavan-3-ols se caractérisent par la présence d'un groupe hydroxyle en position 3 du cycle C. on retrouve par exemple La catéchine. (Abed et Ouis, 2015)</p>	 <p>(Anitha et al., 2020)</p>
<p>Les anthocyanes : La structure est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 (Ribereau, 1968). Les principaux sont : -La pélagonidine : possédant un OH en 4' et engendrant une couleur rouge-orange. -La cyanidine : possédant deux OH en 3', 4' ou en 4', 5' et engendrant une couleur rouge magenta. -La delphinidine : possédant trois OH en 3', 4', 5' et engendrant une couleur mauve. (Dahmani, 2018)</p>	

2.2.1.1.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un PM compris entre 500 et 3000 Da (**Bruneton, 2009**). Ils se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes et former des complexes insolubles (**Yeza et Bouchama, 2014**). Ils sont divisés selon leurs structures en deux principales catégories (**Jacob et Pignal, 1972**).

Tableau III : Les différentes classes des tanins

Description et classes de tanins	Structure
<p>Les tanins hydrolysables : Ils résultent des esters du D-glucose, de l'acide gallique ou de ses dérivés en particulier l'acide éllagique. Selon la nature de l'acide phénol on distingue :</p> <p>-Tanins galliques: par hydrolyse ils libèrent l'ose et l'acide gallique</p> <p>-Tanins ellagiques: par hydrolyse, ils libèrent l'ose, l'acide HHDP (acide hexahydroxydiphénique) et différents dérivés (acide ellagique et acide chébulique).</p>	 <p style="text-align: center;">(Alfei <i>et al.</i>, 2020)</p>
<p>Tanins condensés : Ce sont des polymères de flavonoïdes (Leopoldini <i>et al.</i>, 2011) ne possédant pas de sucres dans leurs structures. Ils sont obtenus par des liaisons C-C entre des unités de flavan-3-ols (Bruneton, 1999)</p>	 <p style="text-align: center;">(Darmadi <i>et al.</i>, 2021)</p>

2.2.1.1.4. Les lignanes

Ce sont des composés dérivés de la condensation de deux sous-unités C6-C3 ; il existe quatre groupes : les lignanes, les néolignanes, les oligomères et les norlignanes (**Krief, 2003**). La structure est démontré en (figure 6).

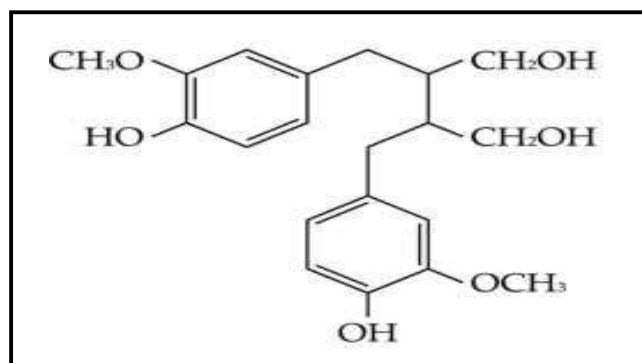


Figure 6 : Structure des lignanes (**Mrduljaš *et al.*, 2018**).

2.2.1.1.5. Les stilbènes

Les stilbènes représentés en (figure 7) forment une vaste famille de composés phénoliques comprenant des monomères et des oligomères. Leur structure de base relativement simple permet la création d'un grand nombre de composés qui varient par le nombre et la position des groupes hydroxyles sur les cycles phénoliques, ainsi que par la conjugaison avec des sucres et divers groupes fonctionnels (méthyles, méthoxyyles, etc.). De plus, des oligomères peuvent se former par condensation oxydative des monomères.

Le resvératrol est le stilbène le plus connu pour ses puissantes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Richard et al., 2014**).

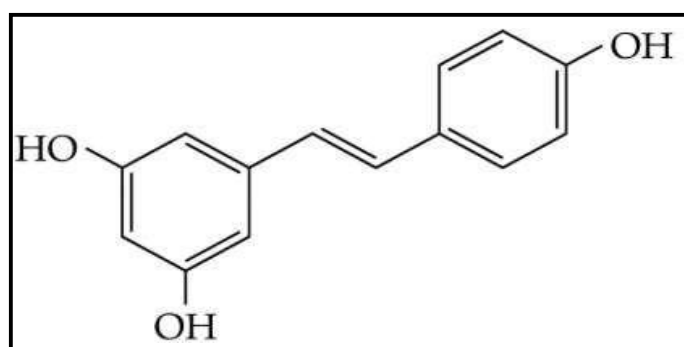


Figure 7: Structure de base des stilbènes (**Mrduljaš et al., 2018**)

2.2.2. Les composés terpéniques

Les terpènes sont une vaste classe de composés organiques, leur structure simple est basée sur des chaînes ou des cycles d'hydrocarbures (C_5H_8) répétées (figure 8). Ils sont également connus pour leurs activités biologiques et pharmacologiques variées : anti inflammatoire, antivirale, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (**Bruneton., 2009**)

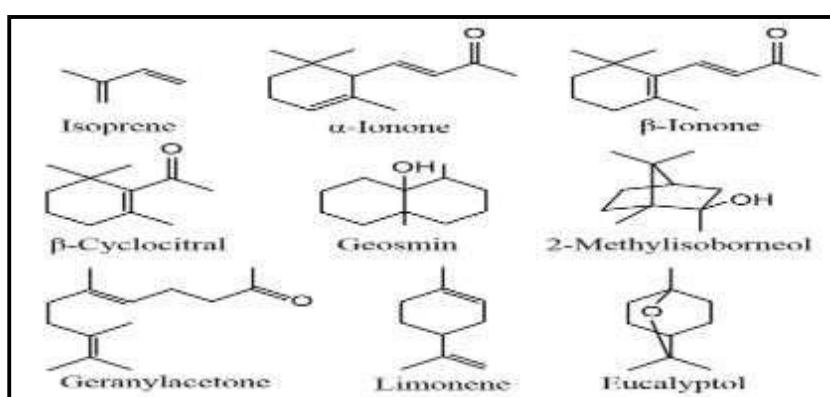
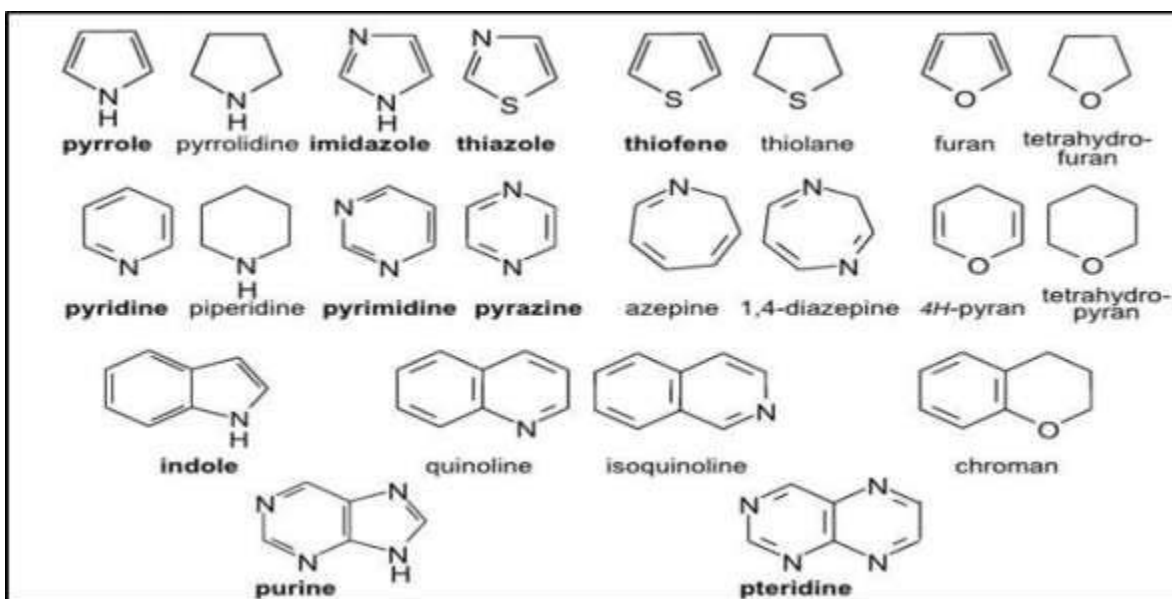


Figure 8: Structure chimique de quelques terpénoïdes (**Zuo, 2019**).

2.2.3. Les composés azotés

Les alcaloïdes, sont des composés complexes aux formules élaborées. Ils contiennent tous de l'azote, généralement inclus dans un hétérocycle, ainsi que de l'hydrogène et du carbone

(figure 9). La plupart renferment également de l'oxygène, comme par exemple la morphine ($C_{17}H_{19}NO_3$), la codéine ($C_{18}H_{21}NO_3$), l'atropine ($C_{17}H_{23}NO_3$) et la cocaïne ($C_{17}H_{21}NO_4$). Ces substances sont généralement des solides cristallisables, peu solubles dans l'eau, mais solubles



dans d'autres solvants. Leur réaction générale est alcaline, ce qui justifie leur nom "alcaloïde" (Merghem., 2019).

Figure 9 : Les classes les plus importantes des alcaloïdes hétérocycliques (Bousnane, 2021).

2.2.4. Les Hétérosides

Les hétérosides sont constitués d'un ou plusieurs oses liés par leur fonction réductrice à une molécule non glucidique appelée aglycone, la structure est illustrée en (figure 10). Les plus connus sont les saponines (Paris, 1954). Ces propriétés se traduisent par la formation de mousse par agitation dans l'eau (pouvoir aphrogène).

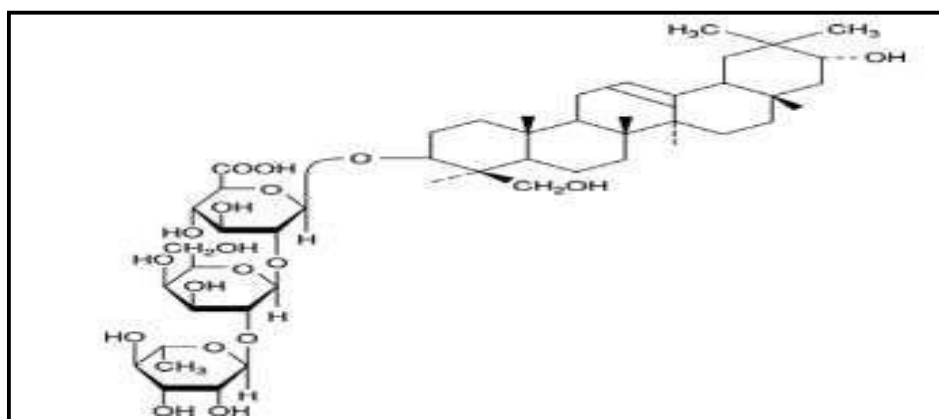


Figure 10 : Structure d'une saponine (Savage, 2003).

CHAPITRE III
Les Activités Biologiques

3.1. L'activité anti inflammatoire

Des recherches récentes ont clarifié que l'inflammation est un facteur majeur dans la progression de diverses maladies chroniques, y compris le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires...etc. La production de radicaux libres provenant de différentes sources biologiques et environnementales est due à un déséquilibre des antioxydants naturels, ce qui conduit à diverses maladies associées à l'inflammation (**Arulselvan et al., 2016**).

3.1.1. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des traitements symptomatiques. Ils diminuent la sensation de douleur, le gonflement et luttent contre l'inflammation. Ils ont pour rôle de bloquer la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation tel que les prostaglandines (**Orliaguet et al., 2013**).

Les anti-inflammatoires sont scindés en deux grands groupes : les AIS ou les corticoïdes et les AINS (**McGettigan et Henry, 2013**).

3.1.2. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis toujours pour traiter l'inflammation sans même connaître leur mode d'action au niveau biochimique. De nombreuses études indiquent que le nombre de composés phytochimiques trouvés dans le règne végétal est très vaste. Certains de ces composés tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les coumarines, les terpènes et les polysaccharides ont des propriétés anti-inflammatoires et permettent de traiter certaines maladies inflammatoires.

Parmi leurs modes d'action, est cité, l'inhibition de la production des ROS et d'enzymes pro-oxydantes comme les oxydes nitriques synthases (NOS) qui induisent l'élimination du radical responsable des dommages causés aux tissus et de l'inflammation (**Sonar et Purohit, 2016**). Ou en bloquant les voies de cyclooxygénase et la lipoxygénase, ainsi que par d'autres mécanismes (**Bourkhiss et al., 2010**).

3.2. L'activité antioxydante

Dans les circonstances quotidiennes, les ROS et les radicaux libres (O_2^- ; H_2O_2 ; OH^-) sont induits aléatoirement par divers mécanismes physiologiques : le métabolisme humain, la pollution, les rayonnements...etc. Le système immunitaire à l'état normal maîtrise la production des ROS et des radicaux libres et assure l'équilibre par un système de défense composé d'antioxydants et des enzymes.

Lorsque la production des ROS dépasse la capacité antioxydante des cellules, un stress oxydatif se développe, ce qui endommage les composants cellulaires (**Valeria et al., 2024**), pouvant provoquer de nombreuses lésions (**Desmier, 2016**), qui, dans le long terme, met l'organisme à risque de développer des pathologies chroniques tel que le diabète, les maladies cardiovasculaires (cancer) et dégénérescence neuronale (**Pincemail, 2013 ; Leverage, 2009**).

3.2.1. Les antioxydants

Les antioxydants sont toute substance que ça soit endogènes (enzymatiques) ou exogènes (vitamines, oligoéléments, poly phénols) ayant la capacité de protéger les systèmes biologiques et de réduire ou d'inhiber le phénomène d'oxydation naturelle ou induite (Leverve, 2009).

Ces antioxydants peuvent agir de plusieurs façons, soit en piégeant ces espèces, en les dismutants ou en les réduisant pour former un composé stable ou avec d'autre mecanismes.

3.2.2. Les antioxydants synthétiques

Ils sont généralement des composés phénoliques d'origine pétrochimiques comme l'acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxilique qui est un analogue de la vitamine E, il possède un fort potentiel antioxydant et sert souvent d'antioxydant de référence pour les tests biologiques, le BHT et le BHA sont utilisés comme conservateurs à faible concentration dans les industries agro-alimentaires, cosmétiques (Guo *et al.*, 2006)

3.2.3. Les antioxydants naturels

Ils comprennent majoritairement la vitamine E, la vitamine C (acide ascorbique) et les polyphénols issus des végétaux (les caroténoïdes, les composés phénoliques... etc.). La plupart de ces composants se trouvent en premier lieu dans l'alimentation (les fruits, les légumes...) (Bendif, 2017).

Les végétaux, ont la particularité de produire des substances biologiquement actives très variées, capables de maintenir des concentrations en ROS constantes et non nocives (Favier, 2003). Ceci est possible grâce à leurs métabolites dits primaires (glucides protides, lipides) et secondaires (flavonoïdes phénols, saponines...etc.) (Macheix *et al.*, 2016).

3.2.4. Les antioxydants de *Psidium guajava*

Des analyses ont démontré que les feuilles du goyavier sont très riche en plusieurs composés bioactifs qui leur valent leur propriété antioxydante, nous retrouvons les flavonoïdes , les tanins, phénols, trierypènes, saponines, caroténoïdes, lécithines, vitamines ,fibres, acides gras , résines... etc (Joseph et Priya, 2011).

Tableau IV: Les antioxydants du goyavier (Shabbir *et al.*, 2020 ; Nwozo *et al.*, 2014).

Antioxydants	Teneur en (mg/100g MS)
Vitamine C	103
Tannins	3.81
Flavonoïdes	5.03
Caroténoïdes	8
Composés phénoliques totaux	575.3

3.3. L'activité antibactérienne

Les micro-organismes pathogènes font l'objet de nombreuses infections microbiennes, qui se traduisent par des maladies et des épidémies souvent fatales, (Alwash *et al.*, 2013). C'est

pourquoi la thérapeutique fait appel aux antibiotiques pour inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries sans toucher aux autres organismes supérieurs.

Les recherches convergent vers la découverte de nouveaux agents antimicrobiens naturels qui seraient un palliatif à l'usage excessif et anarchique des antibiotiques ce qui amènera à diminuer le risque de développer ce phénomène récurrent de la résistance bactérienne.

3.3.1. Les antibiotiques

Un antibiotique est un composé chimique synthétisé par des micro-organismes, des dérivés synthétiques ou semi synthétiques dotés d'un pouvoir destructeur (bactéricide) ou inhibiteur de croissance bactérienne (bactériostatique) (**Sanchez et Demain, 2015**).

3.3.2. L'activité antibactérienne des plantes

L'utilisation fréquente et excessive des antibiotiques conduit généralement à l'apparition de population microbienne multi-résistantes et avec des effets secondaires délétères et agressifs sur le corps. Ce phénomène a conduit les chercheurs vers une alternative naturelle, d'une activité supérieure à celle des médicaments synthétiques et dépourvue de danger sur la santé, c'est l'utilisation des plantes médicinales qui possèdent des molécules bioactive avec des effets antimicrobiens tel que les polyphénols du goyavier (**Garcia-ruiz et al., 2008**).

PARTIE II
PARTIE EXPERIMENTAL

1. Matériel et méthodes

La partie expérimentale de notre travail a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de Biochimie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant la période comprise entre Mars et Mai de l'année 2024.

Ce travail a pour but la valorisation de l'extrait foliaire du goyavier (*Psidium guajava* L.). À travers l'évaluation de trois activités biologiques : l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, antibactérienne et antibiofilme.

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologiques

Pour le matériel végétal, les échantillons de feuilles du goyavier (*Psidium guajava* L.) utilisés au cours de cette étude ont été récoltés au mois de février 2024, dans le village de Bouhinoune situé au sud-est de la ville de Tizi Ouzou en Algérie. Ces feuilles ont été triées et lavées à l'eau du robinet puis séchées à température ambiante à l'ombre durant une 10^{ème} de jours, ensuite elles ont subi un broyage. La poudre obtenue est conservée dans des flacons en verre opaques, fermés hermétiquement et rangés à l'obscurité (figure 11).



Figure 11 : Les échantillons de feuilles de goyave *Psidium guajava* L. Fraîches (A) ; séchées (B) et réduite en poudre (C)

Les Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne et l'activité antibiofilme de l'extrait éthanolique de feuilles de *Psidium guajava* était isolé au laboratoire et sont : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

1.1.2. Matériel de laboratoire

Un ensemble de matériel, d'appareils et de produits chimiques usuels ont été utilisés au cours de l'expérimentation, l'ensemble est résumé dans le tableau VI.

Tableau VI : Tableau récapitulatif des produits et matériel utilisés

Appareils	Verrerie	Solvant	Produit chimique	Standards	Milieux de culture	OUTILS
-Spectrophotomètre - Lyophilisateur - Etuve - Broyeur Electrique - Centrifugeuse - Balance Analytique - Balance - Agitateur Magnétique - Vortex - Réfrigérateur	- Becher - Tubes a Essai - Eprovette - Fiole jaugée - Tube à centri - Entonnoir - Cristalliseur - Flacon teinté et non teinté	- Eau Distillée - Méthanol - Ethanol - H2SO4 - HCl	- Copeau de Magnésium Métallique - NaOH - FeCl3 - Na2CO3 - AlCl3 - Follin Ciocalteu - DPPH	- Acide gallique - Quercétine	-Chapman -Rouge congo -MH	- Micropipettes - Mortier - Coupelle - Spatule - Barreau Magnétique - Papier Wattman N°1 - Portoir - Eppendorfs - Aluminium

1.2. Méthodes

La méthodologie est scindée en deux parties : une partie biochimique qui consiste en premier lieu à l'étude phytochimique, suivie par l'évaluation de deux activités biologiques : l'activité anti inflammatoire et l'activité antioxydante, la partie microbiologique qui consiste à évaluer l'activité antibactérienne et antibiofilm. (Figure 12)

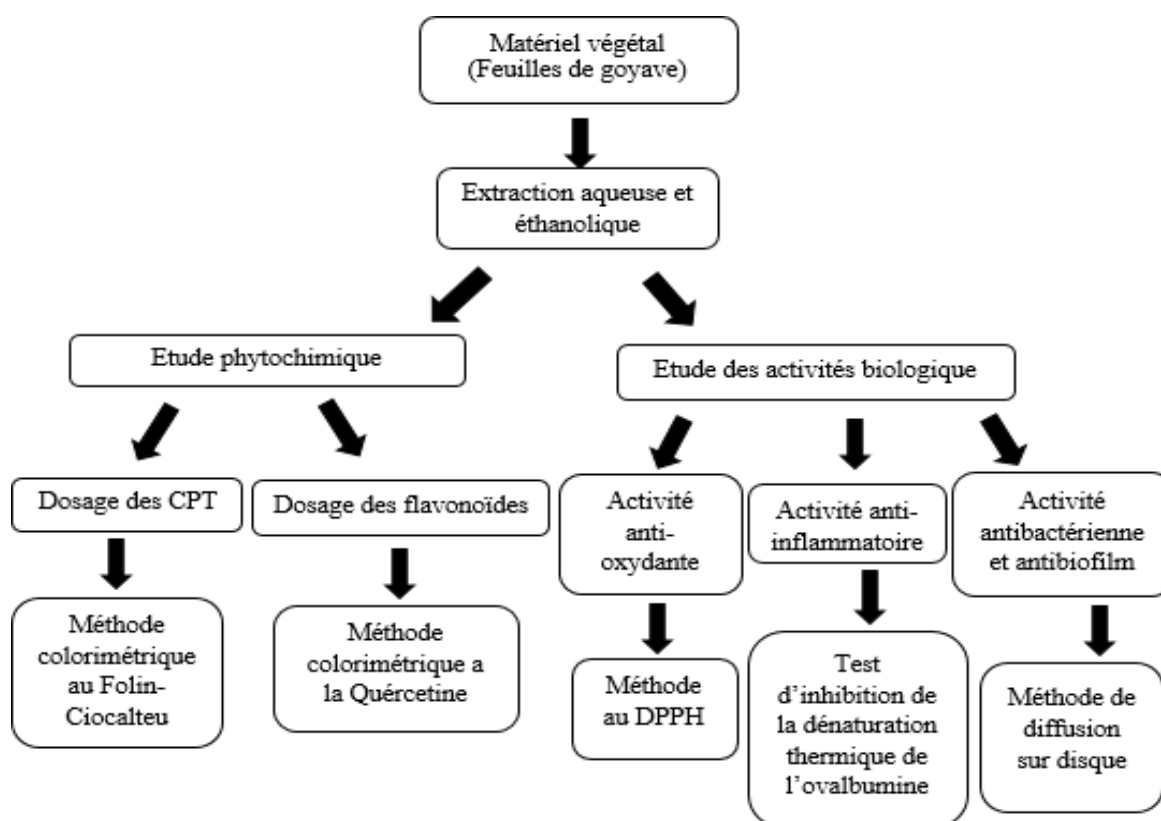


Figure 12 : schéma récapitulatif des étapes de nos expérimentations

1.2.1. Préparation de l'extrait brut

1.2.1.1. L'extraction aqueuse

Dans 200 ml d'eau distillé, 20g de poudre de feuilles de goyave ont été additionné et laissé macérer sous agitation continu pendant 24h à température ambiante. Le macéra est filtré à l'aide d'une passoire puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min à 4°C. Le surnagent est filtré sur papier Watman N°1 afin d'obtenir une solution limpide et homogène.

Afin de déshydrater notre extrait, on a eu recours à la lyophilisation à raison de 20ml de filtrat par cristalliseur de 15 cm de diamètre. Après obtention d'une couche sèche et mince, la surface des cristalliseurs sont grattés et conservée à 4°C dans des flacons en verre teinté hermétique préalablement lavée, stérilisée et séchée.

1.2.1.2. L'extraction éthanolique

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Cheurfa et Allam, 2015) en y apportant quelques modifications. L'extrait éthanolique est préparé par homogénéisation de 20 g de poudre de feuilles de goyave dans 200 ml d'une solution éthanolique (50 %) durant 24h sous agitation à température ambiante. L'extrait obtenu est filtré à l'aide d'une passoire, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min à 4°C, puis une filtration est effectuée à l'aide du papier Wattman N°1. Le filtrat est séché à l'étuve jusqu'à évaporation totale de l'éthanol. La poudre obtenue a été grattée et conservée comme cité précédemment. (Figure 13)

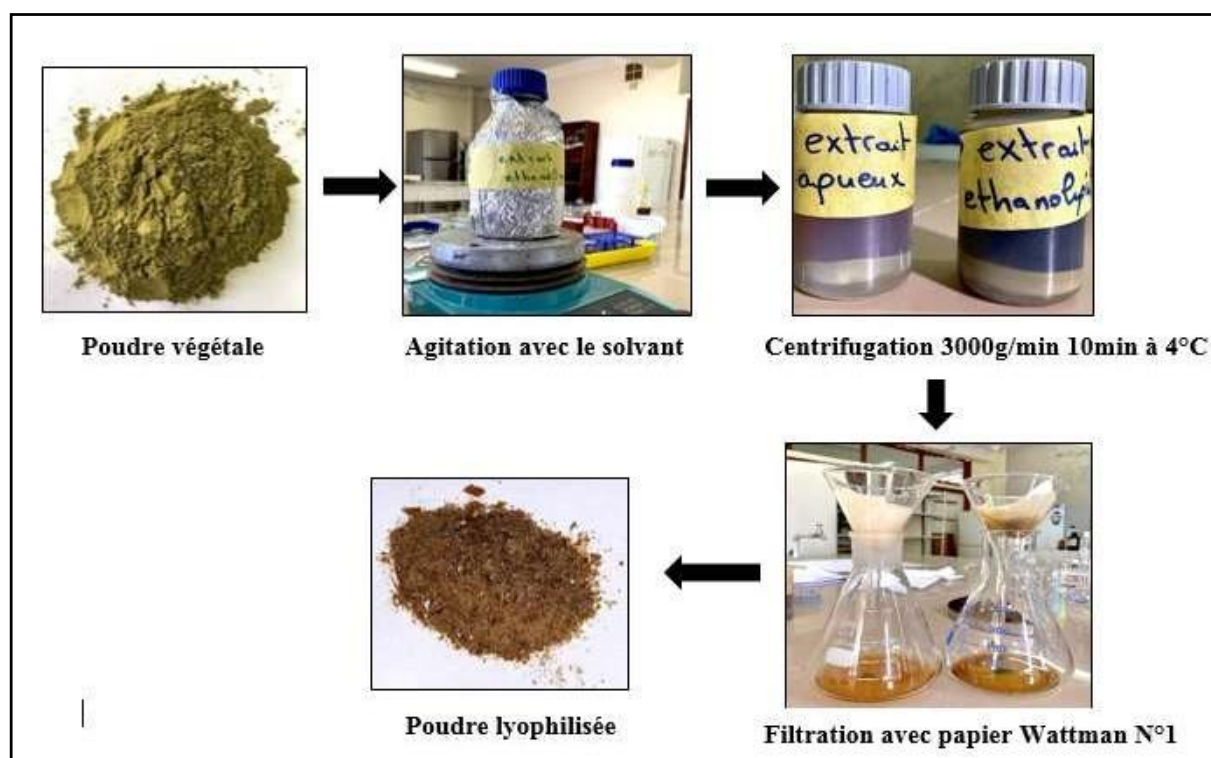


Figure 13 : les étapes des extractions aqueuses et éthanolique

1.2.2. Le rendement de l'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après lyophilisation, et exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction.

Il est calculé suivant la formule présentée ci-dessous :

$$R (\%) = (M / M_0) \times 100$$

R (%) : rendement exprimé en %

M : masse en gramme de l'extrait sec obtenu

M₀ : masse en gramme de la poudre végétale utilisée (20g)

1.2.3. Le screening phytochimique

Le screening phytochimique ou criblage phytochimique est une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes des phytocomposés (Alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides, composés réducteurs, composés cyanogénétiques...) dans une plante donnée.

Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de colorations et/ ou de précipitations. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié, elle est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule.

1.2.3.1. La révélation des saponines

Les saponines sont mises en évidence par le test de mousse. Dans un tube à essai, on introduit 2 ml de l'extrait à analyser auxquels on ajout 2 ml d'eau distillée chaude. Après agitation pendant 15 secondes, le mélange est laissé au repos pendant 15 minutes. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence de saponines (**Ammouri et Kasdi, 2016**).

1.2.3.2. La révélation des tanins

Un volume de 2ml de chaque extrait est mélangé avec 200 µl de la solution de FeCl₃ 1%. En présence des tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques (tanins hydrolysable) et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchique (tanins condensé) ; (**Rahmani et Elahcene, 2020**).

1.2.3.3. La révélation des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont mis en évidence par le test de Shibata. On met dans un tube à essai 5 ml d'extrait à tester, 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition après 3 minutes d'une coloration rouge ou rose indique la présence des flavonoïdes (**Ammouri et Kasdi, 2016**).

1.2.4. Le dosage des polyphénols

L'estimation de la teneur des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique de feuilles de *Psidium guajava L* a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**) en utilisant de l'acide gallique comme un composé phénolique standard (**Slinkard et Singleton, 1977**).

En présence du réactif Folin-Ciocalteu qui se compose d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune (**Boizot et Charpentier, 2006**), Les composés phénoliques agissent comme des agents réducteurs. Ils réduisent les complexes de molybdate et de tungstate, entraînant l'apparition d'une couleur bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon analysé et dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm (**Ribéreau-Gayon et al., 1968**).

200 μ l d'échantillon végétal à doser ont été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes essai, suivi de l'addition de 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu 1/10, ensuite on ajoute 800 μ l de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 4%. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité à une température ambiante pendant 1h30min, et la lecture est effectuée contre un blanc à 760 nm.

Les valeurs des concentrations sont déduites par extrapolation à partir de la droite de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique à des concentrations allant de 20 à 100 μ g/ml. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). (**Wong et al., 2006**)

1.2.5. Le dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait éthanolique issus des feuilles du goyavier utilisées a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium décrite par **Brighente et al (2007)** avec quelques modifications.

Le chlorure d'aluminium $AlCl_3$ ajouté à une solution contenant des flavonoïdes réagit spécifiquement avec des groupes hydroxyles présent sur les carbones 3,4 et 5 des flavonoïdes (Figure 14). Cette réaction se produit par substitution nucléophile, où les atomes d'oxygène des groupes hydroxyle des flavonoïdes attaquent l'aluminium, formant ainsi des liaisons covalentes. Cette réaction conduit à la formation de complexe stable flavonoïdes-aluminium (**Chang et al., 2002**).

Un volume de 0,5ml d'extrait préparé à 1 mg/ml dans du méthanol à différente concentration (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}), et de standard de Quercétine (préparée à 200 μ g/ml dans du méthanol) à différente concentration (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 μ g/ml) sont mélangés avec 0,5 ml d' $AlCl_3$ (2% dans du méthanol).

Les mélanges sont vigoureusement agités. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à $\lambda = 430$ nm contre un blanc préparé de réactif.

Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir d'une courbe d'étalonnage, les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) ; (**Bahorun et al., 1996**).

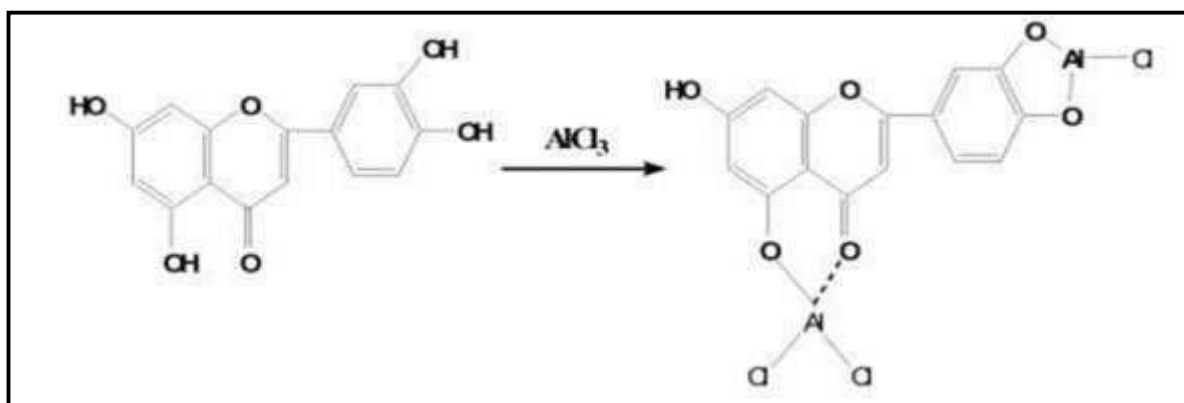


Figure 14 : Réaction de formation d'un complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (AlCl₃) (Anriani *et al.*, 2020)

1.2.6. La détermination de l'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH.

Le radical DPPH est généralement le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme de radicaire libre (bozin *et al.*, 2008). Le DPPH possède, en solution, une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm (Brand-Williams, 1995). Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydant, ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune (Figure 15).

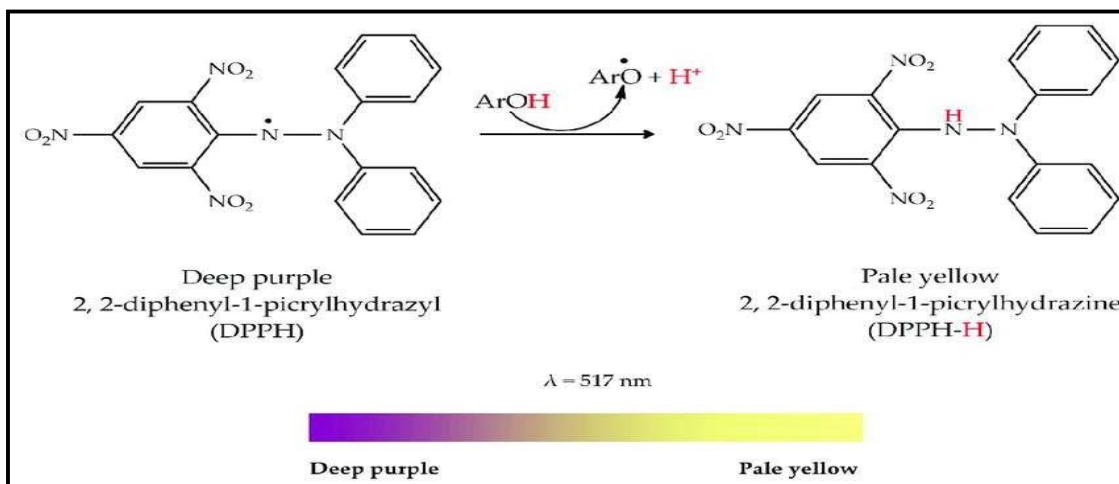


Figure 15: Réduction du radicaire libre DPPH en DPPHH (Sadeer *et al.*, 2020)

Pour évaluer l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique issus des feuilles du goyavier (*Psidium guajava L*), nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno (2002) avec quelques modifications (Figure 16).

La solution mère est préparée à une concentration de 1mg/ml dans du méthanol, à partir de cette solution on a préparé deux dilutions : 0.1 mg/ml et 0.01 mg/ml, puis 1ml de la solution méthanolique de DPPH préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans

100 ml de méthanol sont ajoutés à 500 µl de la première dilution (0.1mg/ml) puis sont ajoutés à la deuxième dilution (0.01mg/ml). Le mélange est laissé pendant 30min à l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol et la solution de DPPH. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions. L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH (I%) selon la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{\text{AbsC} - \text{AbsE}}{\text{AbsC}} \times 100$$

I(%) : le pourcentage d'inhibition (%).

Abs C : l'absorbance du contrôle (DPPH).

Abs E : l'absorbance de l'extrait.

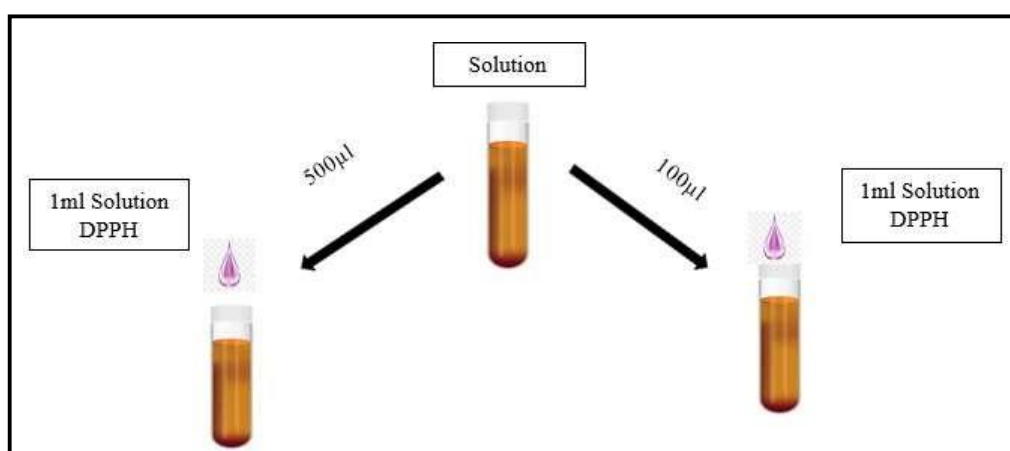


Figure 16 : Schéma illustrant l'expérience sur l'activité anti-oxydante de l'extrait *Psidium guajava* L.

1.2.7. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires, aboutissant à la production d'autoantigènes (Williams *et al.*, 2008). Le principe de cette technique est basé sur la capacité de l'extrait de *Psidium guajava* à réduire la dénaturation thermique de l'Ovalbumine choisie comme protéine de référence pour sa stabilité lors du processus anti-inflammatoire (Bouhlali *et al.*, 2016).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* est évaluée par la méthode de dénaturation des protéines décrite par Alhakmani *et al* (2013), avec quelques modifications. Dans cette méthode, l'acide acétylsalicylique (aspirine) est utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

Le test consiste en deux expériences. Dans la première, le mélange réactionnel est constitué de 2 ml d'extrait éthanolique à différentes concentrations, et 2.8ml d'eau distillée ajustée à pH=6.4 avec du HCl, puis on mélange avec 2 ml de solution d'ovalbumine à 2%, préparée dans

de l'eau distillée. On incube à 37°C pendant 15 minutes. Dans la deuxième expérience, l'extrait est remplacé par l'acide acétylsalicylique

Pour chacune des expériences, on prépare un témoin. Il est constitué de 2ml d'eau distillée à la place de l'extrait et l'acide acétylsalicylique, 2.8ml d'eau distillée et 2ml d'ovalbumine. La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain marie chauffé à 72°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660nm (Figure 17).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine est obtenu par la formule suivante :

$$\% d'inhibition = \frac{Abs\ du\ Témoin - Abs\ Ech}{Abs\ du\ Témoin} \times 100$$

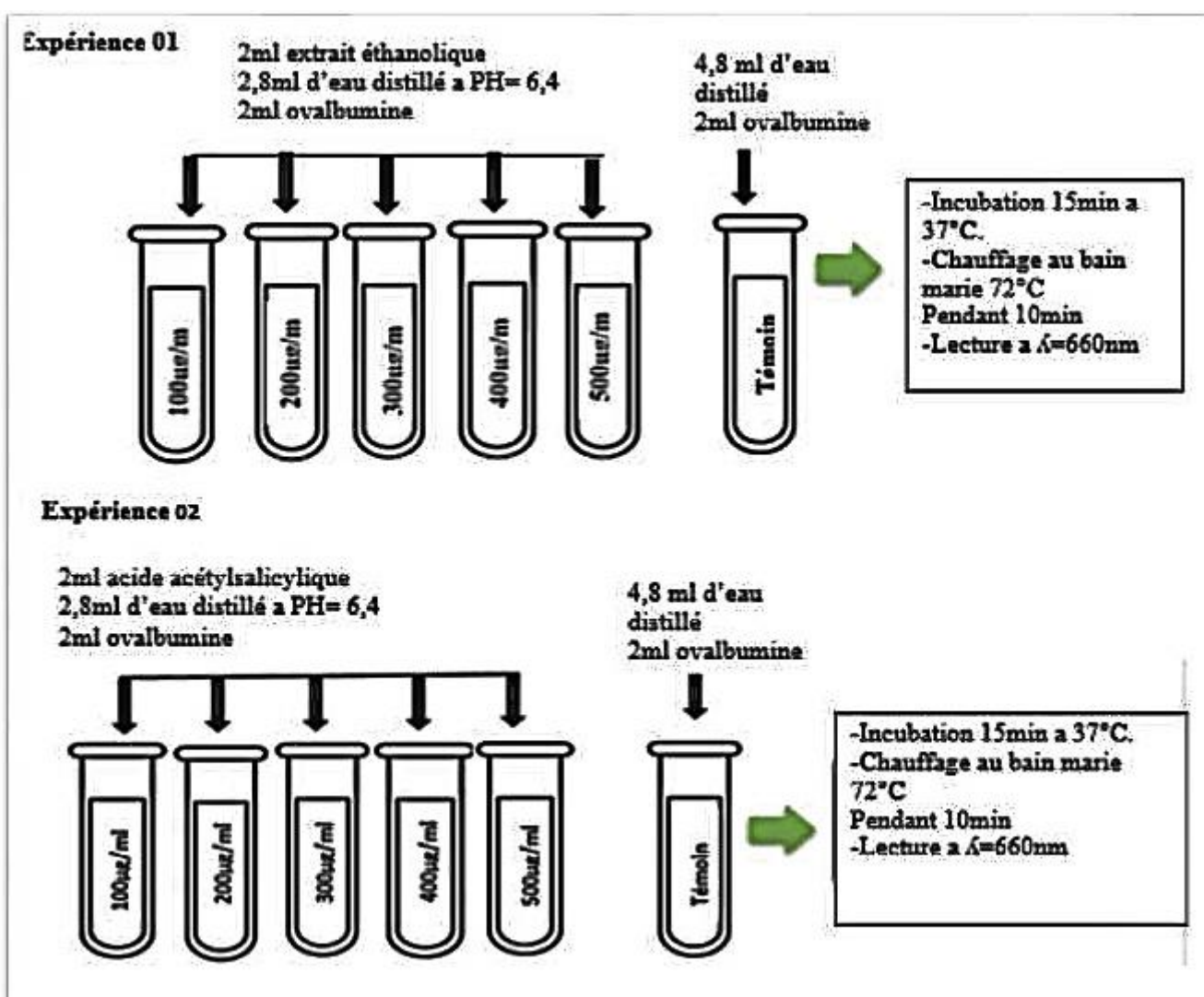


Figure 17 : Schéma illustrant l'expérience sur l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Psidium guajava*

1.2.8. L'activité antibactérienne

Ce test a pour but de tester l'activité antibactérienne de notre extrait végétale de *P. guajava* vis-à-vis des souches bactériennes (ATCC) Gram⁻ (*E. Coli*) et Gram⁺ (*S. aureus*), par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé.

1.2.8.1. La préparation des inoculums.

Après revivification des souches bactériennes *S.aureus* et *E.coli*, deux à trois jeunes colonies bien isolées de chaque souche ont été prélevées à l'aide de l'anse Pasteur à fil bouclé, puis dissoute dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile sans toucher la paroi du tube et homogénéiser.

1.2.8.2. La standardisation des souches

Afin de standardiser les inoculums à une charge bactérienne de 10^8 UFC/ ml, la (DO) doit être comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625 nm.

1.2.8.3. L'ensemencement

- Préparation d'une dilution de 10^{-1} à partir de chaque inoculum ;
- préparation de 02 boîtes de (MH) pour *S.aureus* et 02 autres pour *E.coli* ;
- ensemencement de l'inoculum sur la première boîte de chaque souche, et la dilution sur la seconde boîte ;

La (figure 18) illustre ces étapes :

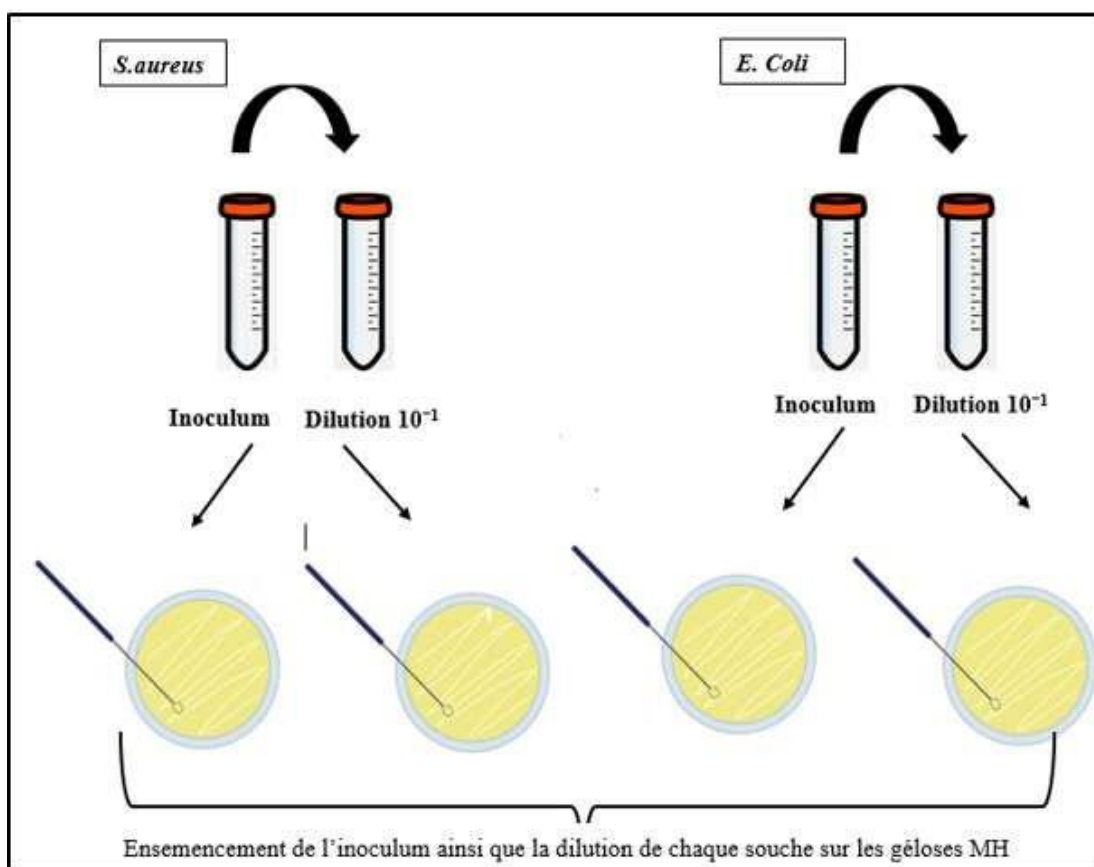


Figure 18: Schéma illustrant les étapes d'ensemencement

1.2.8.4. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par l'aromatogramme

La CMI est la plus faible concentration de l'extrait aqueux qui inhibe toute croissance bactérienne visible sur milieu solide dans des boîtes de Pétri de gélose MH. Les étapes sont les suivantes :

- Stérilisation de l'eau distillée.
 - Préparation de la solution mère dans un eppendorf à une concentration de 500mg/ml
 - Préparation d'une série de dilutions de 1/2.
 - 08 disques stériles sont disposés à la surface de chaque boîte ensemencée, puis chargés avec 25µl de chaque dilution.
 - Un disque est chargé avec 25µl d'eau physiologique considéré comme témoin négatif.
 - Un disque d'antibiotique (Gentamicine) est disposé comme témoin positif pour chaque souche.
 - Les boîtes sont ensuite scellées et préincuber une heure dans un réfrigérateur pour empêcher la croissance bactérienne, puis incuber à 37°C pendant 24h.
- La lecture s'effectue par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de croissance autour des disques (figure 19). Elle est exprimée en centimètre (Vincent 1991).

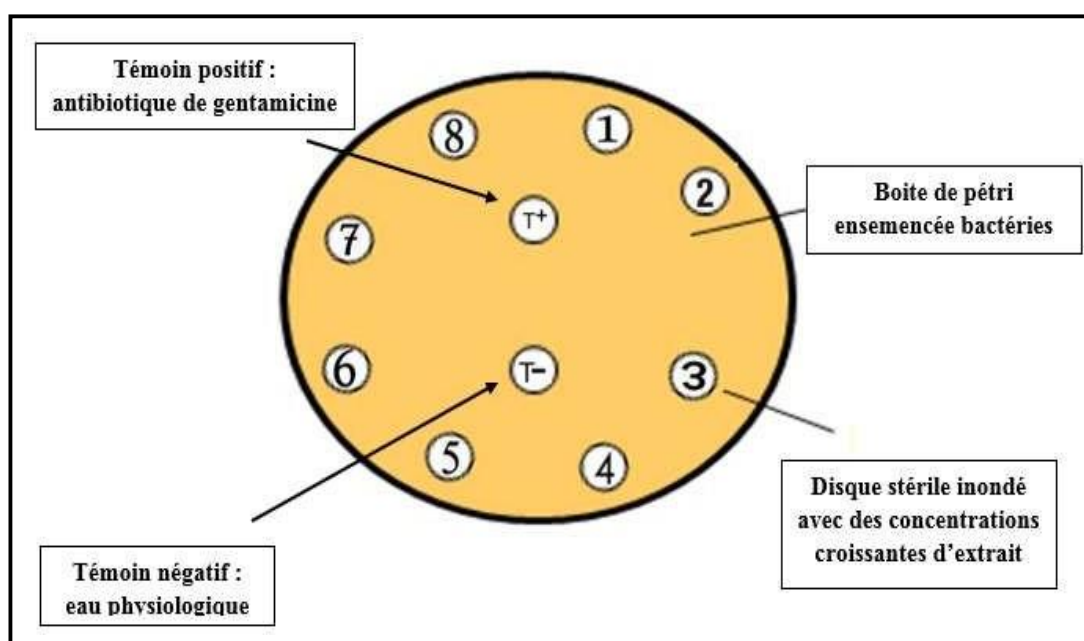


Figure 19: Aromatogramme sur gélose MH

1.2.9. L'activité antibiofilm

Dans le but de détecter les souches formatrices de biofilms, la méthode de sélection sur milieu solide RCA a été effectuée.

Les bactéries en général résident habituellement sous forme de biofilm (Nagant, 2013). Certains PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesion) bactériens peuvent interagir avec le Rouge Congo et forment un slime, ce qui donne des colonies noires avec une surface rugueuse, contrairement aux colonies non productrices qui apparaissent rouges et lisses (Bellifa *et al.*, 2016).

Les mêmes étapes, décrites précédemment, ont été effectuées en remplaçant le milieu (MH) par le milieu (RCA). Puis une lecture s'effectue par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de croissance autour des disques.

2. Résultats et discussion

2.1. Rendement d'extraction

Dans notre étude les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *P. guajava* sont obtenus par une macération de 20g de poudre dans 200ml du solvant (Eau ou Ethanol) à température ambiante pendant 24h, suivie d'une lyophilisation pour l'extrait aqueux et une évaporation à l'étuve pour l'éthanol.

Les résultats montrent un rendement d'extraction de l'ordre de 15,6% pour l'extrait éthanolique étudié (équivalent à 23,12g de poudre sèche), ce résultat similaire à celui obtenu par **Ammouri et Kasdi (2016)** qui ont obtenu un rendement de 15,43% pour *Pistacia lentiscus*.

Pour l'extrait aqueux, nous n'avons pas obtenu de lyophilisat (la texture était pâteuse et collante) ce qui ne nous a pas permis de calculer le rendement, cela est peut-être dû à la nature des composés présents dans notre échantillon qui sont majoritairement des composés apolaire. Cependant d'après **N'guessan-Irie et al (2012)** le rendement de l'extrait aqueux de *P. guajava* est estimé à 9.2%.

Dans notre cas, les molécules solubles dans l'éthanol sont présentes en quantité importante est sont l'une des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction avec de l'éthanol que nous jugeons que c'est la méthode la mieux adaptée.

D'après **Quy Diem Do et al., (2014)**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique reste le meilleur moyen d'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

Le rendement en extrait varie en fonction de différents facteurs comprenant la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, de l'espèce et l'origine géographique de la plante, des conditions et de la durée de stockage ainsi que de la période de récolte (**Ghedadba et al., 2015**).

2.2. Le screening phytochimique

D'après la littérature, la goyave est une source riche en composés phytochimique (polyphénol, flavonoïdes, tannins et saponines) qui sont reconnues comme agents actifs sur le stress oxydatif (**Issa et al., 2017**). Afin de mettre ces molécules en évidence, des tests ont été réalisés sur les l'extrait foliaire de *Psidium guajava*, ces réactions sont basées sur des phénomènes de coloration par des réactifs spécifiques.

2.2.1. Criblage des Flavonoïdes

Les résultats représenter dans (la figure 20), indique la présence des flavonoïdes dans nos extraits aqueux et éthanolique, indiqué par l'apparition d'une couleur rougeâtre pour l'extrait éthanolique et jaunâtre pour l'extrait aqueux en présence de l'acide chlorhydrique concentré et du magnésium

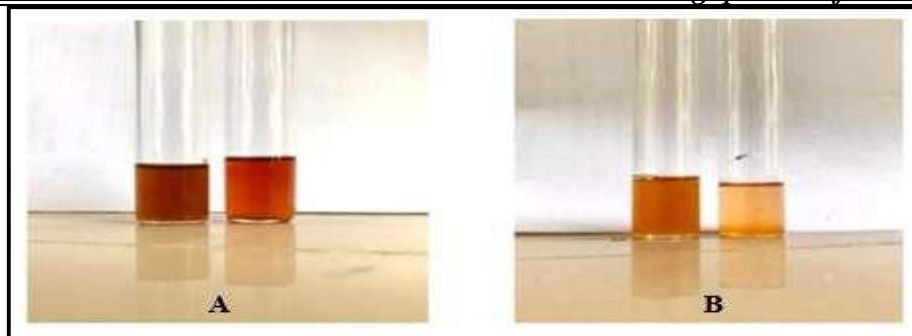


Figure 20 : Révélation des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique (A) et aqueux (B).

2.2. Le criblage des Tanins

Les résultats représentés dans la (figure 21), montrent que notre extrait éthanolique des feuilles de *P. guajava* est riche en tanins galliques, indiqué par l'apparition d'une couleur bleu noirâtre intense, en présence de l'acide chlorhydrique concentré et du FeCl_3 .



Figure 21 : résultat de la révélation des tanins sur l'extrait éthanolique

2.3. Le criblage des saponines

L'apparition d'une mousse d'environ 1cm après agitation pendant 15 secondes comme représenté dans la (Figure 22) indique la présence des saponines dans nos extraits aqueux et éthanoliques.



Figure 22 : Révélation des saponines dans l'extrait éthanolique (A) et aqueux (B)

1. Le dosage des polyphénols des feuilles du *Psidium guajava*

Les composés phénoliques CPT sont les dérivés antioxydants les plus actifs dans les plantes. L'analyse quantitative des CPT des deux extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* ont été déterminée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (**Tasioula et al., 2001**) (Figure 23).

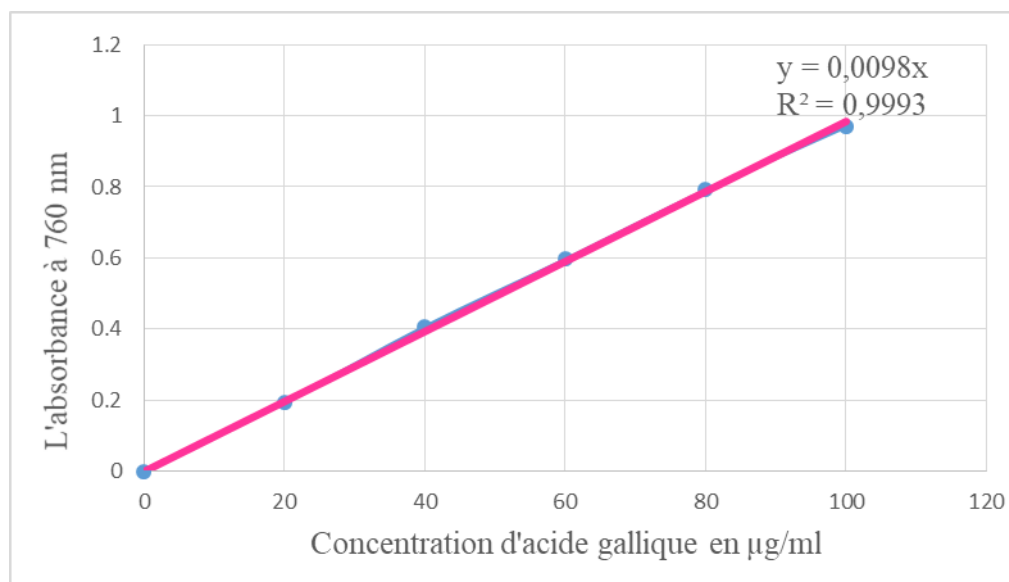


Figure 23 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux en équivalent d'acide gallique (ug/ml).

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *P. guajava* présente une teneur de 14,69 mg EAG/100 g MS. Celle-ci est supérieure à celle obtenue par **You et al (2011)** estimée à 12,95 mg EAG/100g MS pour le même extrait.

Pour l'extrait aqueux, nos résultats révèlent une teneur en CPT de 6,12 mg EAG/100g MS, inférieur à celle apportée par les mêmes auteurs cité précédemment, évaluée à 10,36 mg EAG/g MS. De ce fait, il est important de signaler que les taux de CPT varient avec la nature du solvant utilisé et de l'extrait obtenu.

Selon **Mohsen et Ammar (2009)**, l'éthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques suivis du méthanol et enfin l'eau, cela en raison de degré de leur polymérisation ainsi que leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles.

Ramakrishna et Gokare (2011) apportent que la synthèse des métabolites secondaires et leur nature est influencée aussi par les facteurs biotiques (sol et agents pathogènes) et les facteurs abiotiques (Température, humidité, lumière et salinité du sol).

Ces différences pourraient aussi être liées à la partie de la plante utilisée, la période et la région de récolte ainsi que la méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant. Il a été prouvé que les teneurs des phénols totaux sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat. Dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre (**Tim et Lamb, 2005**).

2.4. Dosage des flavonoïdes

La (Figure 24) représente les résultats du dosage des flavonoïdes qui a été réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium, est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. (Figure 24).

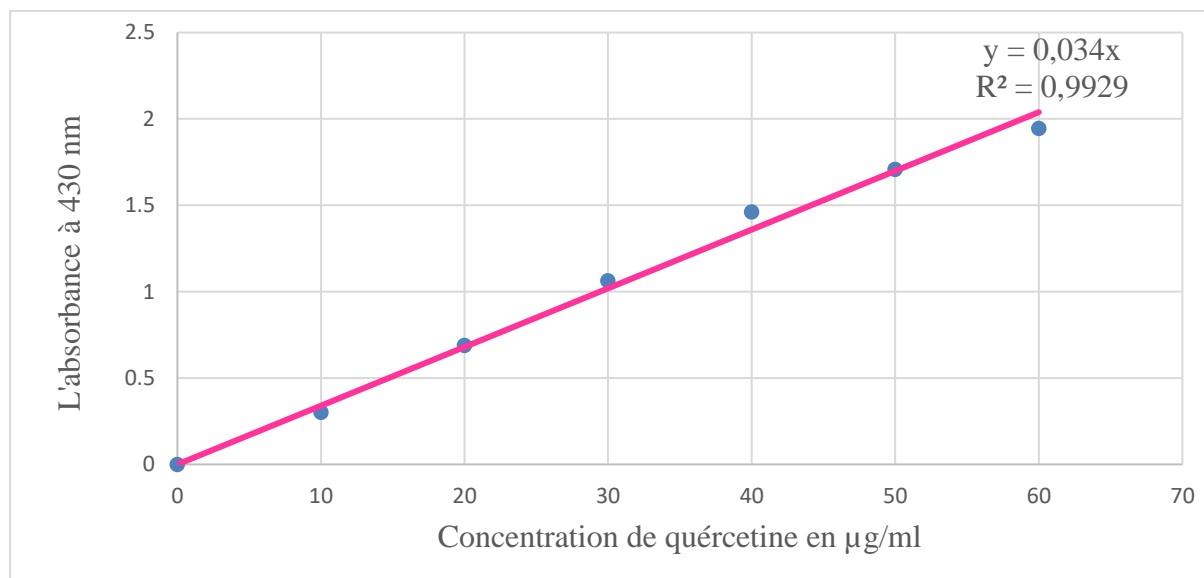


Figure 24 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en équivalent de quercétine (ug/ml).

Les résultats du dosage des flavonoïdes des feuilles de *P. guajava*, révèlent une concentration élevée de flavonoïdes dans l'extrait éthanolique des feuilles, atteignant 44,11 mg EQ/100 g MS.

Cette constatation est d'une grande importance, car les flavonoïdes sont des composés aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires bien documentées, et leur présence en quantités significatives renforce le potentiel thérapeutique de la plante.

Comparativement aux travaux de **Tensaout et Gaoua (2018)** ont révélé des concentrations beaucoup plus faibles de flavonoïdes dans leur extrait éthanolique de feuilles de *Psidium guajava*, avec seulement 2,01 mg EQ/100 g de matière sèche. Cette différence dans les concentrations peut être attribuée à divers facteurs, tels que les méthodes d'extraction utilisées, les conditions de croissance des plantes, ou même les spécificités des échantillons analysés.

2.5. Activité anti-oxydante

Le piégeage du radical DPPH est le test le plus utilisé pour l'évaluation directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa rapidité, sa sensibilité, sa commodité et de sa reproductibilité (**Nur Alam et al., 2013**).

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *P.guajava* en présence du radical libre DPPH a été exprimée en pourcentage d'inhibition pour deux dilutions effectuées et sont présentés dans la (figure 25).

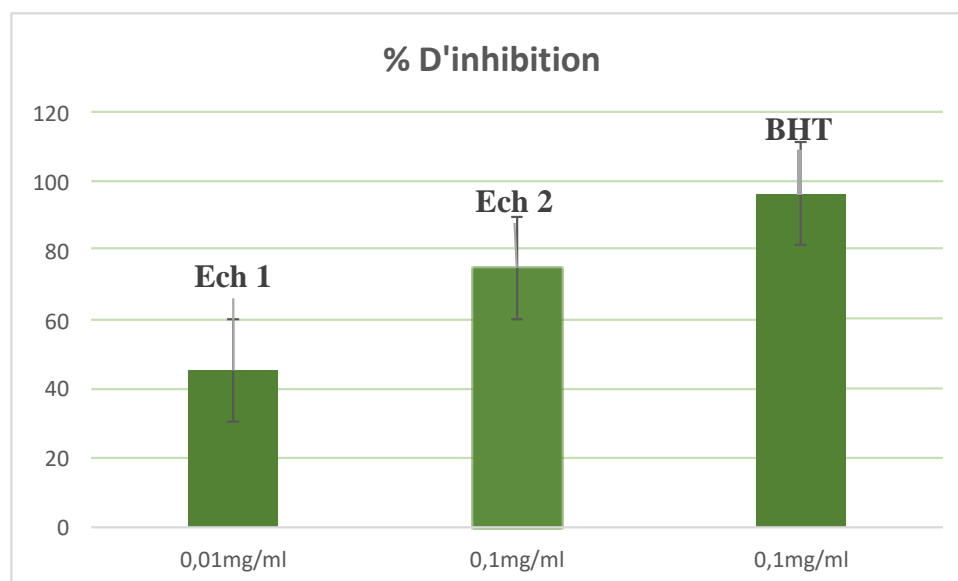


Figure 25 : Histogramme représentant les pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *P.guajava* comparé au (BHT)

Pour chaque dilution, il a été observé que le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration de l'extrait éthanolique, il est généralement plus faible en le comparant à celui de l'antioxydant synthétique BHT qui montre une activité antioxydante très élevée avec $96,45 \pm 0,41\%$ d'inhibition à une concentration de $100\mu\text{g/ml}$ (Rahman *et al.*, 2015), suivi des dilutions 1 et 2 qui présentent respectivement $45,36 \pm 5,64\%$ et $74,87 \pm 4,83\%$ d'inhibition.

Les résultats ont indiqué que le *Psidium guajava*, possède des propriétés antioxydantes remarquables, en particulier dans ses feuilles, grâce à la présence de plusieurs substances clés responsables de son activité antioxydante. Parmi ces composés: la quercétine, quercétine-3-Oglucopyranoside, acide ascorbique, caroténoïdes et les composés phénoliques (Wilberg *et al.*, 1995).

Cette découverte est d'une importance significative dans le domaine de la recherche sur les plantes médicinales, car elle met en lumière le potentiel thérapeutique de *Psidium guajava* en tant que source naturelle d'antioxydants, offrant ainsi des perspectives prometteuses pour son utilisation dans la prévention et le traitement de diverses affections liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré et certains types de cancers.

2.6. Evaluation in vitro de l'activité anti inflammatoire des extraits des feuilles de *P.guajava*

Otmani et Slimani (2018) indiquent que la méthode de dénaturation protéique est parmi les méthodes les plus utilisées pour l'évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux. L'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait éthanolique de feuilles de *P.guajava* en comparaison avec celle l'acide acétylsalicylique comme référence, est estimée par le calcul des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines. Les résultats sont résumés dans le tableau si dessous.

Tableau V: Effet inhibiteur de la dénaturation de l'ovalbumine par les extraits de feuilles de *Psidium guajava* L et l'acide acétylsalicylique

Concentration des extraits (µg/ml)	% d'inhibition Extrait éthanolique	% d'inhibition Acide acétylsalicylique
100	80.60 ± 2,35	95,77 ± 2,16
200	67.95 ± 4,44	93,62 ± 6,70
300	36.55 ± 3,179	86.08 ± 1,025
400	31,8 ± 3,22	84.61 ± 7,41
500	17,55 ± 1,412	74,27 ± 3,14

Selon les résultats obtenus, on constate que l'inhibition de la dénaturation des protéines est inversement proportionnelle aux dilutions, ceci est expliqué par la présence de composés ayant une activité anti-inflammatoire, mais qui ont été masqués par d'autres composés majoritaires (**Otmani et Slimani., 2018**). De ce fait, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 80.60 ± 2,35 % qui convient à la concentration de 100 µg/ml.

Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par **Williams et al., (2008)**, selon lesquels l'activité anti-inflammatoires des composés naturels isolés à partir des plantes est plus importante lorsque la concentration est faible. Et sont contradictoire avec ceux d'**Ammouri et Kasdi (2016)** qui estime que le pourcentage d'inhibition augmente de manière proportionnelle avec les concentrations.

Pour l'aspirine étant un standard, les pourcentages d'inhibition sont sensé augmenté de manière proportionnel avec les concentrations, ce qui n'est pas le cas dans nos résultats et cela peut être expliqué par la faible concentration de la solution mère préparée par l'acide acétylsalicylique. De ce fait on n'a pas pu comparer les pourcentages d'inhibitions de l'extrait au pourcentage d'inhibition d'acide acétylsalicylique. Ce test n'a pas pu être refait à cause de non disponibilité de d'ovalbumine. (Figure26)

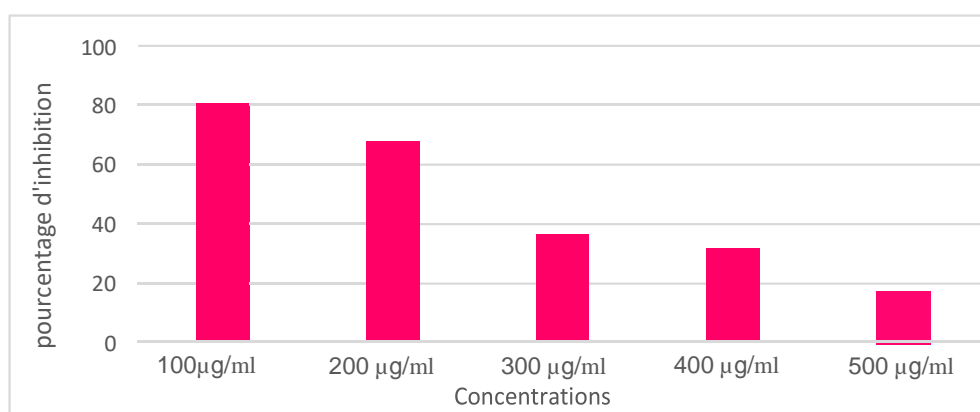


Figure 26 : Histogrammes représentant les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* L.

Les résultats montrent que l'extrait éthanoliques de *P.guajava* à une activité inhibitrice de la dénaturation thermique de l'ovalbumine car les processus de dénaturation des protéines sont liés à l'inflammation. Ces résultats nous permettent de supposer que l'extrait éthanolique de *P.guajava* à un pouvoir anti-inflammatoire qui est due à la richesse de notre plante des composés bioactifs. Cela pourrait être bénéfique dans le traitement de diverses maladies inflammatoires

telles que l'arthrite, les maladies inflammatoires de l'intestin, ou d'autres maladies où l'inflammation joue un rôle clé dans la pathogenèse.

A notre connaissance, il existe peu de travaux sur l'étude in vitro de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de *P.guajava*, la plupart des travaux consultés sur cette activité biologique sont effectués in vivo par la méthode de l'œdème plantaire de la patte de rat (Ammouri et Kasdi., 2016).

2.7. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava L* a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose (MH). Dans notre étude, les tests de sensibilité ont été effectués sur une souche Gram+ (*S.aureus*) et une souche Gram- (*E.coli*), à une concentration d'extrait de 500µg/ml. Les résultats que nous avons obtenus sont exprimés en (mm) sous forme de diamètres de zone d'inhibition variant d'une souche à l'autre (Figure 27).

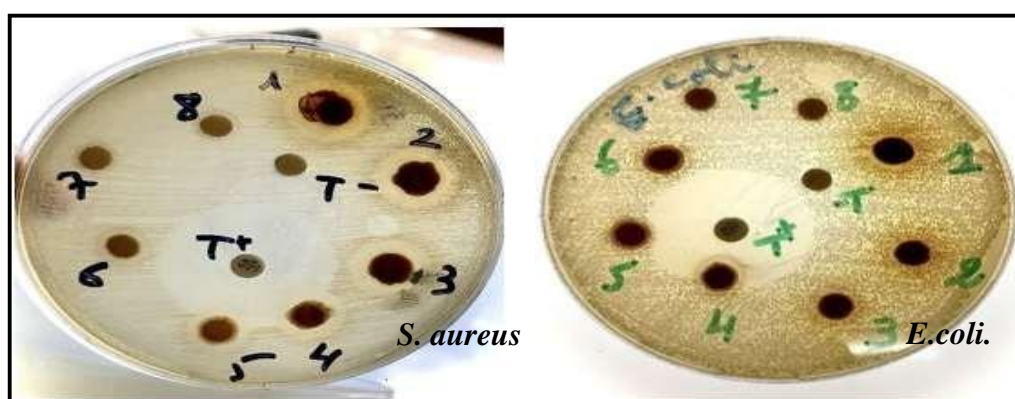


Figure 27 : les zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Psidium guajava L* à différentes concentrations contre la souche *S. aureus* (10^8 UFC) et la souche *E.coli*. (10^7 UFC)

D'après les résultats obtenus, l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava L* a montré une inhibition de la croissance bactérienne contre la souche *S.aureus*, contrairement à *E.coli* qui a présenté une certaine résistance à notre extrait de plante, et cela se traduit par l'absence de zone d'inhibition autour des disques.

L'absence de l'activité antibactérienne de l'extrait envers *Escherichia coli* pourrait être expliqué par beaucoup de facteurs liées à la nature de cette plante, la concentration de l'extrait et ou du principe actif. Selon certains auteurs, les molécules polyphénoliques comme l'oleuropéine pourraient s'hydrolyser, ce qui provoque une baisse dans l'activité antimicrobienne (Brainte et al. 2000).

Les résultats obtenu montre que l'extrait foliaire de *P.guajava L* inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* confirmé par l'apparition des zones d'inhibitions allant de 8mm à 14 mm, ceci indique que cette souche bactérienne est très sensible à cet extrait (Aouam et al.. 2021) ont trouvé un diamètre de 12 mm pour *S. aureus* qui est identique à notre résultat de la dilution 1/8 et 1/4.

La dilution 1/64 et 1/128 ne montre aucune activité antibactérienne sur la souche *S.aureus*, et cela permet de déduire la concentration minimale inhibitrice qui correspond à une CMI=15.62 g/ml avec un diamètre de 8 mm.

La taille des zones d'inhibitions dépend essentiellement de la capacité de diffusion dans le milieu gélosé des différents composés contenus dans les extraits végétaux. Cette capacité est associée à la polarité des substances diffusibles (**Carneiro et al., 2008**). L'activité antibactérienne observée dans l'extrait éthanolique foliaire du *P.guajava* L. pourrait être due à la présence de différentes classes de métabolites secondaires connues par leurs propriétés antibactériennes à savoir :

Les composés phénoliques : ils agissent souvent en perturbant la structure de la membrane cellulaire des bactéries.

Les tannins : qui sont des polyphénols qui se lient aux protéines et aux polysaccharides, ce qui peut entraîner la précipitation des protéines bactériennes et la dénaturation des enzymes, affectant ainsi la croissance et la survie des bactéries.

Les quinones : certains entre eux ont montré des activités antibactériennes en perturbant les processus métaboliques essentiels des bactéries, tels que la synthèse de l'ADN et des protéines. Ils peuvent également induire la formation de radicaux libres toxiques à l'intérieur des cellules bactériennes, entraînant des dommages cellulaires et la mort.

Les stérols et triterpénoides : Certains ont montré des activités antibactériennes en perturbant la structure et la fonction des membranes cellulaires des bactéries (**Usman et al., 2018**).

Cependant, il est important de souligner que les mécanismes exacts par lesquels ces métabolites interagissent avec les bactéries peuvent varier en fonction de leur structure chimique spécifique et de leurs concentrations dans l'extrait.

2.8. Sélection des souches formatrice de biofilms

La formation de biofilm est un mécanisme de défense des bactéries qui les rend résistantes aux antibiotiques et au système immunitaire de l'hôte.

L'activité antibiofilm de l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* L a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose (RCA). Dans notre étude, le test de sensibilité a été effectué sur la souche (*S.aureus*). Les résultats sont exprimés en (mm) sous forme de diamètres de zone d'inhibition.

Le milieu Rouge Congo est très convenable pour la détection des souches productrices de slime, car les souches présentant le PIA développent des colonies noires avec une surface rugueuse, contrairement aux souches à PIA négatif, donnent des colonies rouges et lisses. La couleur noire est le résultat d'une interaction entre le slime et le colorant Rouge Congo. Les résultats sont présentés dans la (figure 28) et résumés dans le tableau IX.

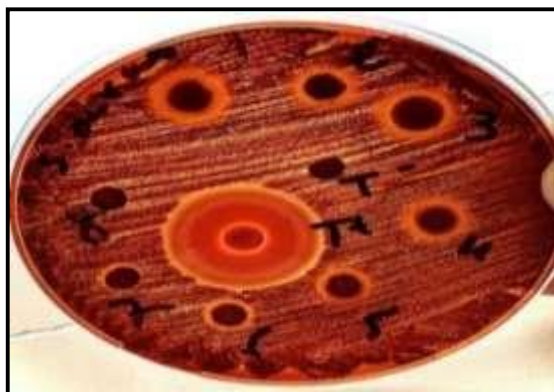


Figure 28 : L'activité antibiofilme de l'extrait éthanolique de *Psidium guajava* sur la souche *Staphylococcus aureus* (10^8 UFC)

D'après les résultats obtenus, l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* L'a montré des zones d'inhibitions allant de 7 mm mm à 12 mm, cela indique que l'extrait foliaire de *P.guajava* L. a une activité antibiofilme contre la souche bactérienne *S.aureus*.

De plus, les résultats de la dilutions 1/128 ne montre aucune activité antibiofilm contre la souche *S. aureus*, ce qui permet de déduire la concentration minimale inhibitrice qui correspond à CMI= 7.81 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de 7 mm.

Ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *Psidium guajava* L. possède une activité significative contre la formation de biofilm par la souche bactérienne *S. aureus*, avec une concentration minimale inhibitrice déterminée à 7.81 mg/ml. Cela pourrait avoir des implications importantes dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le traitement des infections bactériennes, en particulier celles causées par *S. aureus*. Les antibiotiques conventionnels rencontrent de plus en plus de résistance, et les biofilms bactériens représentent un défi supplémentaire dans le traitement des infections. Ainsi, la découverte d'agents naturels comme l'extrait de *Psidium guajava* L. avec des activités antibiofilm pourrait ouvrir de nouvelles voies pour le développement de médicaments antimicrobiens plus efficaces.

Dans un premier temps nous avons quantifié la totalité des composés phénoliques par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu a révélé la présence de quantités considérables en composés phénoliques de 14,25 mg EAG/100 g MS.

Dans un deuxième volet après s'être assuré de l'innocuité de notre extrait nous avons analysé l'activité anti-oxydante. Les résultats ont indiqué que le *Psidium guajava* est une excellente source d'antioxydant. Le test s'est reposé sur la méthode de DPPH dont le résultat est de $74,87 \pm 4,83$ %. Par la suite nous avons évalué le potentiel anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation protéique. Les pourcentages de protection contre la dénaturation ont atteint les $80.60 \pm 2,35$ %.

Les résultats ont indiqué que le *Psidium guajava* présente une activité antibacterienne et antibiofilm par excellence.

L'utilisation des feuilles de goyaves contribue à limiter le dommage oxydatif au sein de notre organisme humain, à empêcher l'apparition précoce de nombreuses maladies cardiovasculaires, du cancer, du diabète et limiter l'apparition de nombreuses maladies dégénératives associées au vieillissement.

En perspective ; il serait intéressant d'élargir l'étude à savoir :

- Doser les autres composants bioactifs des feuilles de goyaves.
- Identification des différents antioxydants de l'extrait de feuilles de goyave par des techniques plus avancées (HPLC, RMN...etc.)
- Réaliser la même étude sur la matière fraîche de la goyave et comparer les résultats à ceux obtenus dans la présente étude.
- Explorer d'autres parties de la matrice, la tige, les épiluchures, pulpes et les graines.

A

Abdelrahim, S.I., Almagboul, A.Z., Omer, M.E.A., Elegami, A., (2002). Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava L.* Fitoterapia 73, 713–715.

Abed.A. Oius.I., (2015). Contribution à l'étude des flavonoïdes des céréales de la région de Constantine et évaluation de leurs activités biologiques. Mémoire Master. Université des Frères Mentouri Constantine

Abedini A. (2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes ; Thèse de doctorat ; université de Lille ; France.

Akroum S. (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels ; Thèse de doctorat ; Université Mentouri ; Constantine ; Algérie

Alfei, S., Marengo, B., & Zuccari, G. (2020). Oxidative Stress, Antioxidant Capabilities, and Bioavailability: Ellagic Acid or Urolithins? *Antioxidants*, 9(8), 707.

Alhakmani F., Kumar S., Khan S A. (2013). Estimation of total phenolic content, in –vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(8). ELSIVIER. Pp623-627.

Alwash. (2013). Identification and Mode Of Action Of Antibacterial Components From *Melastoma Malabathricum* Linn Leaves. *American Journal of Infectious Diseases*, 9(2), 46–58.

Aline.F, Guylène.P, Bernard.F, Agnès.R. (2018). Natural polyphenols effects on protein aggregates in Alzheimer's and Parkinson's prion-like diseases. Invited Review. University of Poitiers.

Ammouri, N et Kasdi, Imen., (2016). Analyse phytochimique et evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *pistacia lentiscus L.* Université Mouloud Mammerie de Tizi-ouzou.

Anitha, S., Krishnan, S., Senthilkumar, K., & Sasirekha, V. (2020). Theoretical investigation on the structure and antioxidant activity of (+) catechin and (–) epicatechin – a comparative study. *Molecular Physics*, 118(17), e1745917.

Anriani. D., .Makuasa, Purnama Ningsih. (2020). Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata L.*) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods. Tadulako University, Jl. Soekarnohatta Km. 00, Palu 94119, Indonesia.

Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–15

B

B,Rehmani., R, Elahcene (2020). Etude phytochimique et propriété antioxydante de la goyave « *Psidium Guajava L* ». Mémoire fin d'étude. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Blida.

Bahorun T, Gressier B, Trotin F, et al (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arznein Forsch/ Drug Res* 46:1086–1095

Bellifa S., Hassaine H., Kara Terki I., Didi W., M'hamedi I., Lachachi M, Benamar I., Morghad T. et Gaouar S. (2016). Study of biofilm production and antimicrobial resistance pattern of *Klebsiella Pneumoniae* isolated from urinary catheter at the university hospital of Tlemcen. *American Journal of Microbiology and Biotechnology*. 3(2): 13-17.

- Bendif, H.**, (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae : Ajugaiva (L.) Schreb., Teucrium polium L., Thymus munbyanus subsp. Coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et Rosmarinus eriocalyx Jord & Fourr.
- Bibi Sadeer, N.**, Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). *The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. Antioxidants*,
- Blanco, A** and **Blanco, G.** 2017. Chapter 10-antioxidants. In: Medical Biochemistry, New York, Academic Press, 205-214.
- Boizot, N.**, Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fruitier. Dans Le cahier des techniques de l'INRA (pp. 79-82).
- Borah, U.**, Dash, B., and Chakraborty, j. (2018). Assessment of periodic dissimilarity of phytochemical and antidiarrheal activity of ethanolic extract of psidium guajavalinn (myrtaceae) leaves using wistar albino rats. Assessment; 11(1).
- Bouchoukh I.** (2021). contribution à l'étude de quelques espèces fruitières exotiques acclimatées de la région de Skikda en Algérie. Thèse de doctorat en sciences spécialité biologie végétale. Universités Badji Mokhtar. Annaba
- Bouhlali E.**, SELLAM K., BAMMOU M., ALEM C et FILALI-ZEHZOUTI, Y. (2016). In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 6 (05), 156-162.
- Bourkhiss, M.**, Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., Satrani, B., (2010). Propriétés antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles des différentes parties de TETRACLINIS ARTICULATA (VAHL) MASTERS DU MAROC. Bull. Société R. Sci. Liège. 141-154.
- Bousnane. N.** (2021). Polycopié de la matière : Biotechnologie et molécules d'intérêt. Université Mustapha Benboulaïd – Batna 2
- Boutaghane L** et Tamaghuelt W.(2019). Elaboration d'un yaourt brassé à base de goyave., Mémoire de Fin de Cycle., Université A. MIRA – Béjaïa.
- Bozin B.**, Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic L., Simin N., Samojlik L., Couladis M. (2008). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Achillea collina Becker ex Heimerl SL and A. pannonica Scheele essential oils. Molecules. 13(9), 2058- 2068.
- Brainte R**, Franceso L. C, Ferdinando F, Maurizio P., Roberto N. (2000). Hydrolysis of Oleuropein by recombinant b-glycosidases from hyper thermophilic Archea sulfolobus immobilised on chitosan matrix. J. Biotechnol. 71, 275-286.
- Brand-Williams W**, Cuvelier M.E and Berset C., 1995 - Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - Food Science and Technology, 28 (1): 25-30.
- Bravo, L.** (1998). polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. 317-333.
- Brighente IMC**, Dias M, Verdi LG, et al (2007) Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species. Pharm Biol 45:156–61
- Bruneton J**, 1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3 ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p
- Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Médicales internationales Ed : Tec & Doc, Cachan, p. 647-673.
- Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4e éd. Cachan: Tec & Doc. Lavoisier.

Bruneton J.(2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4 e éd., revue et augmentée. Paris,France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p

C

Carneiro, A. L. B., Teixeira, M. F. S., Oliveira, V. M. A. D., Fernandes, O. C. C., Cauper, G. S. D.B., Pohlit, A. M. (2008). Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 103(1), 31-38.

Catarino, M., Alves-Silva, J., Pereira, O., & Cardoso, S. (2015). Antioxidant capacities of flavones and benefits in Oxidative-Stress related diseases. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 15(2), 105–119

Chah, K. F., Eze, C. A., Emuelosi, C. E., et Esimone, C. O. (2006). Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 104(1-2): 164-167.

Chang, C. C., Yang, M. H., Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182

Chourfa M. et Allam R. (2015). Study of hypocholesterolemic activity of Algerian Pistacia lentiscus leaves extracts in vivo. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25 142–144.

Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356.

D

Dahmani M.M. (2018). Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamuscaeruleus* L (Asteraceae). Université Mohamed bouguerre ,Boumerdes

Dakappa, S. S., Adhikari, R., Timilsina, S. S., Sajjekhan, S. (2013). A review on the medicinal plant *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(2): 162-168

Darmadi, J., Batubara, R. R., Himawan, S., Azizah, N. N., Audah, H. K., Arsianti, A., Kurniawaty, E., Ismail, I. S., Batubara, I., & Audah, K. A. (2021). Evaluation of Indonesian mangrove *Xylocarpus granatum* leaves ethyl acetate extract as potential anticancer drug. *Scientific Reports*, 11(1)

Desmier, T., 2016. Les antioxydants de nos jours : définition et applications = Antioxidants today : definition and applications. Limoges.88.

Duarte O. and Paull R. (2015). Exotic Fruits and Nuts of the New World. CABI

E

El-Ahmady, S. H., Ashour, M. L., and Wink, M. (2013). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Psidiumguajava* fruits and leaves. *Journal of Essential Oil Research*; 25(6): 475-481

F

Favier, A., (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 55, 9–16.
flavonoides: propiedades y accionesantioxidantes. *Nutriciónhospitalaria* ; 17(6) :271-278.

G

García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, A. J., Pueyo, E., Martín-Álvarez, P. J., & Moreno-Arribas, M. V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19(9), 835–841.

Ghedadba N., Hambaba L., Ammar A., Mohamed-Cherif A., Bousselsela H., Oueld-Mokhtar S. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. *Phytothérapie* 13, 118–129.

Ghedadba N., (2021). Métabolisme secondaire chez les végétaux. Polycopie des cours. Université Batna 2

Guo, L., Xie, M.-Y., Yan, A.-P., Wan, Y.-Q., Wu, Y.-M., (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1881–1887.

Gutiérrez, R.M.P., Mitchell, S., Solis, R.V., 2008. Psidium guajava: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 117, 1–27.

H

Haddouchi, F., Chaouche, T.M., Halla, N., 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. 1-35.

J

Jacob F.H., Pignal M.C. (1972). Interactions levures-tanins, Croissance et survie de diverses levures dans des solutions tannantes, *Mycopathologia et Mycologia applicata*, vol.48 ,2-3, pag .121-142.

Jain, P. K. et P. K. Nema (2007). Processing of Pulp of Various Cultivars of Guava (*Psidium guajava* L.) for Leather Production., p. 9.

Jiménez, N., Santamaría, L., Esteban-Torres, M., de las Rivas, B., & Muñoz, R. (2014). Contribution of a tannase from *Atopobium parvulum* DSM 20469T in the oral processing of food tannins. *Food Research International*, 62, 397–402. doi:10.1016/j.foodres.2014.03.042

Joseph, B. and Priya, R.M. (2011) Phytochemical and Biopharmaceutical Aspects of *Psidium guajava* (L.) Essential Oil: A Review. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5, 432-442

Jung, Y. S., Rha, C.-S., Baik, M.-Y., Baek, N.-I., & Kim, D.-O. (2020). A brief history and spectroscopic analysis of soy isoflavones. *Food Science and Biotechnology*, 29(12), 1605–1617.

K

Kamath, J.V., Rahul, N., Kumar, C.A., Lakshmi, S.M., 2008. *Psidium guajava* L: A review. *Int. J. Green Pharm. IJGP* 2

Kara Terki I. (2014). Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen

Kim, S.-Y., Kim, E.-A., Kim, Y.-S., Yu, S.-K., Choi, C., Lee, J.-S., Kim, Y.-T., Nah, J.-W., Jeon, Y.-J., 2016. Protective effects of polysaccharides from *Psidium guajava* leaves against oxidative stresses. *Int. J. Biol. Macromol.* 91, 804–811.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS. Français

Kumar, B., Mistry, N. C., Singh, B., and Gandhi, C. P. (2013). Indian horticulture database 2010. Gurgaon, India: National Horticulture Board, Ministry of Agriculture, Government of India.

Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Nair, M.S., Maheshwari, C., Sasi, M., Prajapati, U., Hasan, M., Singh, S., Changan, S., Prajapat, R.K., Berwal, M.K., Satankar, V.,

2021. Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Foods* 10, 752.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–16.

Kwamin, F., Gref, R., Haubek, D., Johansson, A., 2012. Interactions of extracts from selected chewing stick sources with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *BMC Res. Notes* 5, 203.

L

Labrani. (2022). Le métabolisme secondaire. Université Frères Mentouri - Constantine

Lee, W.C., Mahmud, R., Pillai, S., Perumal, S., Ismail, S., 2012. Antioxidant Activities of Essential Oil of *Psidium Guajava* L. Leaves. *APCBEE Procedia* 2.

Leopoldini M., Russo N. et Toscano M. (2011). The molecular bases of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306.

Leverve, X., (2009). Stress oxydant et antioxydants *Cah. Nutr. Diététique* 44, 219–224

Li, T., Zheng, X., Dai, Y., Yang, C., Chen, Z., Zhang, S., Wu, G., Wang, Z., Huang, C., Shen, Y., & Liao, R. (2014). Mapping near-surface air temperature, pressure, relative humidity and wind speed over Mainland China with high spatiotemporal resolution. *Advances in Atmospheric Sciences*, 31(5), 1127–1135

Liu, C.-W., Wang, Y.-C., Lu, H.-C., Chiang, W.-D., 2014. Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for total phenols with anti-hyperglycemic activity from *Psidium guajava* leaves. *Process Biochem.* 10, 1601–1605.

Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4): 119-125.

M

Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Alemand, C. (2005). les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *italy*.12-67.

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., and Tuñón, M. (2002). Los

McGettigan, P., Henry, D., (2013). Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High-Income Countries. *PLOS Med.* 10, e1001388. 3-5.

Meghem. R., (2019). LES ALCALOÏDES. Support de cours Licence Biochimie. Université Constantine 1.

Mitra, S. K., Irenaeus, T. K. S., Gurung, M. R., & Pathak, P. K. (2012). TAXONOMY AND IMPORTANCE OF MYRTACEAE. *Acta Horticulturae*, (959), 23–34

Mohsen, S. ; Ammar, A. (2009). Contenu phénolique total et activité antioxydante des extraits de glands de maïs. *ELSEVIER*, 595-596.

Moualek, I. (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri). Tizi ouzou.

Mrduljaš, N., Krešić, G., & Bilušić, T. (2017). Polyphenols: Food Sources and Health Benefits. *Functional Food - Improve Health through Adequate Food*.

Muanda F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. these Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paul Verlaine-Metz

N

N, Ammouri, I, Kasdi (2016). Analyse phytochimique et évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de Pistacia Lentiscus L. Mémoire fin d'étude. Faculté des sciences biologique et agronomique. Tizi ouzou

N'guessan-Irié A. G., Kablan B. J., Siransy-Kouakou N. G., Konan A., et Datté Y. J. (2012). Propriétés bioactives de l'extrait aqueux des feuilles de Psidium guajava (Myrtaceae). Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine 16.

Nagant C. (2013). Contribution à la recherche de nouveaux agents antibactériens actifs sur les biofilms de *P. aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles d'Europe, France.

Nikolic, D. (2004). NEW METABOLIC PATHWAYS FOR FLAVANONES CATALYZED BY RAT LIVER MICROSOMES. Drug Metabolism and Disposition, 32(4), 387–397.

Nur Alam M.D., Sharififar F., Khatib M., Behravan E., Afzadi M.A. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 21, 143–152.

Nwozo, S.O., Awe, S., Oyinloye, B.E., 2014. In vitro antioxidant activity of extracts from leaves of ten commonly used medicinal plants – a comparative study -. Oxid. Antioxid. Med. Sci. 3, 211–215.

O

Orliaguet, G., Gall, O., Benabess-Lambert, F., (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Prat. En Anesth. Réanimation 17, 228–237.

Otmani, Y et Slimani, M., (2018). Activité antibactérienne et anti-inflammatoire des extraits des feuilles d'olivier (*Olea europea* L.) et du lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). Université mouloud mammerie de Tizi-ouzou.

P

Paris, R. (1954). Les hétérosides. Bulletin de La Société Botanique de France, 101(7-9), 457–475.

Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., de Araújo, F. F., & Pastore, G. M. (2020). A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. Food Chemistry, 306, 125630.

pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. Molecules, 13(11), 2717-

Pincemail J (2013). Stress oxydant et antioxydants. Liège : Testez Éditions. p. 1—286.

Prabhudesai A. P., Dinesh M., Biyani, Milind J. (2019). Umekar .Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. , 59(1), Article No. 21, Pages : 125-132

Prance, G.T. 2003. FRUITS OF TROPICAL CLIMATES. Fruits of Central and South America. In: Caballero, B. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 2810-2816.

R

Rahman, MM. Islam, MB, Biswas, M. et Khurshid Alam, AHM. (2015). Activité antioxydante in vitro et piégeage des radicaux libres.

Rahmani B., Elahcene R. 2020. Etude phytochimique et propriétés antioxydantes de la goyave " *psidium guajava* L". Mémoire de fin d'études. Université de Blida 1.

Ramakrishna A and Gokare A, R. (2017). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. University of New Orleans

Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P., 2010. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava* 4.

Ravi, K., Divyashree, P., 2014. *Psidium guajava*: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. Pharmacogn. Rev. 8, 96–100.

Ribéreau-Gayon P., Gauthert R.J., (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Edition Duodi, Paris, (254).

Ribereau G. P (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J.-C., Krisa, S., & Mérillon, J.-M. (2014). Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173–180.

S

Sanchez-Moreno C (2002) Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Internat J Food Sci Technol* 8: 121–37

Sanda, K. A., Grema, H. A., Geidam, Y. A., & Bukar-Kolo, Y. M. (2011). Pharmacological aspects of *Psidium guajava*: An update. *International Journal of Pharmacology*; 7(3): 316- 324

Savage, G. P. (2003). SAPONINS. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5095–5098.

Shabbir, H., Kausar, T., Noreen, S., Rehman, H. ur, Hussain, A., Huang, Q., Gani, A., Su, S., Nawaz, A., 2020. In Vivo Screening and Antidiabetic Potential of Polyphenol Extracts from Guava Pulp, Seeds and Leaves. *Anim. Open Access J. MDPI* 10, 1714.

Sigla, R.K. ; Dubey, A.K. ; Garg, A. ; Sharma, R.K. ; Fiorini , M. ; Ameen, S.M. ; Haddad, M.A. ; Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of. *Journal of AOAC International*, 1397-1400.

Singh A. (2016). Spatially coordinated replication and minimization of expression noise constrain three- dimensional organization of yeast genome; *DNA Res* 23(2): 155-69.

Singh, S. P. (2011). Guava (*Psidium guajava* L.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, 213–246

Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., ... Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397–1400.

Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos RA (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol* 299:152–7

Slinkard, K., et Singleton, VL (1977). Analyse du phénol total : automatisation et comparaison avec les méthodes manuelles. *Journal américain d'œnologie et de viticulture*, 28, 49-55.

Soares, F. D. T. Pereira, M. O. Maio Marques, A. R. Monteiro (2007). Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. *Food Chemistry*, vol. 100, no 1, p. 15- 21.

Sonar, K., Purohit, D., 2016. THERAPEUTIC EFFECT OF FLAVONOIDS AS ANTI-INFLAMMATORY AGENTS. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 5, 523–543.

T

Tasioula M., Otu. (2001). Simultaneous Determination of Phenolic Compounds and Tocopherols in Virgin Olive oil Using HPLC and UV Detection, *Food Chemistry*, 74(3), 377-383 Huang et al., 2013).

Tensaout et Gaoua, (2018) .Caractéristiques chimiques et propriétés antioxydantes delagoyave«*Psidium guajava*». Master université de Béjaia.

TENSAOUT et GAOUA., Caractéristiques chimiques et propriétés antioxydantes de la goyave « *Psidium guajava*»., MEMOIRE DE FIN D'ETUDE., UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA – BEJAIA., 2018.

Thomas, L.A.T., Anitha, T., Lasyaja, A.B., Suganya, M., Gayathri, P., Chithra, S., 2017. Biochemical and mineral analysis of the undervalued leaves–*Psidium guajava* L. *Int. J. Adv. Sci. Res.* 2, 16–21.

Thomas, L.A.T., Anitha, T., Lasyaja, A.B., Suganya, M., Gayathri, P., Chithra, S., 2017. Biochemical and mineral analysis of the undervalued leaves–*Psidium guajava* L. *Int. J. Adv. Sci. Res.* 2, 16–21.

Tim, T.P.C and Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26: 343-356.

U

Usman H., Kaigama A.U., Ibisagba O.O., Fulata A.M., Ahmed I.A. (2018). Phyto constituents' evaluation and antimicrobial efficacy of the crude flavonoids and spooning root bark extracts of *Terminalia avicennioides* and *Fichus polity*. *Journal of Herb med Pharmacology.* 7(2), 106-111.

V

Valeria A. Dmitrieva, Elena V. Tyutereva, Olga V. Voitsekhovskaja (2024). *Biologie et médecine des radicaux libres : Que peuvent nous dire les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sur le mécanisme d'action des herbicides et autres phytotoxines ?* Elsevier. Tome 220 ; 92-110.

Vieira, R. H. S. dos F., Rodrigues, D. dos P., Goncalves, F. A., Menezes, F. G. R. de, Aragao, J. S., & Sousa, O. V. (2001). Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43(3), 145–148

W

Wilberg, V. C., and Rodriguez-Amaya, D. B. (1995). HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *LWT-Food Science and Technology*;28(5):474-480.

Williams L., Connara O., Lator L., Dennis O., Ringer S., Whittaker J.A., Connard J., Volger B., Rosner H et Kraus W. (2008). The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Nonsteroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J.* 57 (4), 327- 331.

Wong, S.P., Leong, L.P., William Koh, J.H., (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.* 99, 775–783.

Y

Yeza S., et Bouchama S.(2014). *Index des métabolites secondaires végétaux*, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

You, D.-H. J.-W. Park, H.-G. Yuk, S.-C. Lee (2011).Antioxidant and tyrosinase inhibitoryactivities of different parts of guava (*Psidiumguajava* L.) .*Food Science and Biotechnology*;20(4) : 1095-1100

Z

Zuo, Z. (2019). Why Algae Release Volatile Organic Compounds—The Emission and Roles. *Frontiers in Microbiology*, 10.

Webographie

Anonyme 1: <https://www.gerbeaud.com/jardin/fiches/famille-myrtacees,3001.html>

Anonyme 2: https://fleurs-fruits-feuilles-de.com/psidium_guajava.php

Anonyme 3: <https://marilynperalta.com/2016/07/12/arbusto-de-guayaba-fresa/>

Anonyme 4: <https://www.afriquefemme.com/fr/sante/nutrition/96-sante/nutrition/3399-goyave-goyavier-et-remedes-naturels>

Anonyme 5: <https://www.djazairess.com/fr/infosoir/118600>