



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La  
Recherche scientifique  
Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMQUES  
DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de

### Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### Thème

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire,  
antioxydante et antibactérienne de l'extrait  
foliaire aqueux de *Psidium guajava*. L

#### Réalisé par :

AOUAM Yasmine

CHABANE Meriem Dehbia

GHERRAS Sabrina

#### Membres du jury :

Mr HOUALI K.	Professeur	Président	UMMTO
Mr MOUALEK I.	Maître de Conférences classe A	Encadrant	UMMTO
Mme IRATNI G.	Maître de conférences classe B	Examinatrice	UMMTO

Année universitaire

2021/2022

## REMERCIEMENTS

*Nous tenons avant toute chose à remercier « ALLAH » le tout puissant qui nous a donné la force, la patience, la volonté et l'opportunité de mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre Encadrant, Mr MOUALLEK, pour l'intérêt qu'il a manifesté, pour la confiance et la liberté qu'il nous a donné, pour ses conseils et son écoute tout le long de ce travail qu'il a dirigé avec une grande rigueur scientifique.*

*Notre reconnaissance et nos vifs remerciements vont au professeur HOUALI.K tout d'abord pour avoir eu l'amabilité de nous ouvrir les portes de son Laboratoire ; pour sa bienveillance, son attention particulière et ses précieux conseils qui ont accompagné toute notre période de stage ; mais aussi pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury chargé d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à remercier Madame IRATNI pour la gentillesse dont elle nous a fait preuve, et pour l'honneur qu'elle nous a fait pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements vont également à monsieur MSEL.A et madame LAHSENE.S ainsi qu'à tout le personnel du laboratoire LABAB et du département BMC et toute personne qui a contribué chacune par son nom, de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

## DEDICACES

*Je dédie ce projet de fin d'étude*

*À mon feu père Brahim Aouam et chère mère Farida Idrès pour leurs indéfectible soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études, des anges qui n'ont jamais cessé de m'épauler et de m'encourager pour que je puisse atteindre mes objectifs. Ce travail est le l'aboutissement de votre dévouement constant, de vos sacrifices et surtout de vos prières. Vous m'avez comblé avec votre tendresse et affection puisse le tout puissant vous donnez santé, bonheur et longue vie à fin que je puisse vous combler à mon tour.*

*Amon frère Mohammed et mes deux sœurs Katia et Célia qui m'ont aidé et supporté dans les moments les plus dures, à mes amies Yasmine, Sabrina, Tania, Youssef et Younes et toute ma famille.*

*Yasmine AOUAM*

## DEDICACES

*Je dédie ce travail :*

*A la femme à qui je dois la vie et pour qui je dois tout, celle qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, la prunelle de mes yeux ma chère et tendre maman.*

*A l'homme qui m'a fait grandir et qui ne cesse de prier pour moi à chaque jour que dieu fait, mon cher papa.*

*Aucun mot ne saurait être assez éloquent pour vous exprimer ce qui vous rend justice pour tous vos sacrifices et votre dévouement depuis ma naissance, durant mon enfance jusqu'à aujourd'hui.*

*A mes très chers frères, mes protecteurs, mes piliers chez qui je trouve soutien en toute épreuve.*

*A mon petit ange, **Samy**, mon adorable neveu qui apporte la joie et le bonheur à notre foyer.*

*A tous mes amis, particulièrement **Anaïs, Mayas, et Dacine** pour le soutien moral qu'ils m'ont apporté tout au long de ce travail.*

*A toutes les personnes qui m'ont aidée encouragée et soutenue durant tout mon cursus*

*Puisse Dieu vous protéger de tous les maux.*

*Meriem.D CHABANE*

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail à ma famille, les personnes qui comptent le plus pour moi : mes chers parents ma première écoles de vie, ils m'ont appris à toujours essayer de faire mieux peu importe le degré d'excellence que je pourrais atteindre et les remercie pour le soutient qu'ils m'ont apporté durant toute ma vie et pas seulement durant la durée de ce travail. Une spéciale dédicace va également à ma chère sœur Meriem et à mon cher frère Nouredine, mes adorables neveux Ramzy et Racim, ainsi qu'à mes amies Neila, Meriem, Yasmine et Tania.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour et aucune dédicace ne saurai être assez éloquente pour l'exprimer, je prie dieu pour vous préserver et vous accorder santé et bonheur.*

*Sabrina GHERAS*

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

***Chapitre I : Présentation de Psidium guajava.L***

I. HISTORIQUE.....	3
II. Présentation de la plante .....	3
1. Description botanique.....	3
III. Composition chimique de la feuille.....	6
IV. Position systématique.....	7
V. Habitat .....	8
VI. Les différents usages de <i>Psidium guajava. L</i> .....	9
1. Usage traditionnel.....	9
2. Usage industriel .....	10
3. Usage cosmétique .....	11
VII. Activités biologiques : .....	11
1. Activité anti- toux.....	12
2. Action anti-inflammatoire .....	12
3. Activité anti-plaque dentaire .....	13
4. Activité antioxydante.....	13
5. Activité anti-diarrhée.....	13
6. Activité antidiabétique et hypoglycémiant .....	14
7. Activité anti microbienne .....	14
8. Activité cardio-vasculaire.....	14
9. Activité anticancer :.....	15
10. Activité Anti- allergique :.....	15
VIII. Toxicité de <i>Psidium guajava</i> :.....	15

**Chapitre II: Les composés phénoliques**

I. Généralités sur les Polyphénols : .....	17
II. Classification des polyphénols : .....	17
1. Acide phénolique :.....	18
2. Les flavonoïdes :.....	19
3. Les tanins :.....	21
4. Les non flavonoïdes :.....	22
III. La biosynthèse des polyphénols :.....	24
1. La voie de shikimate :.....	24
2. La voie d'acétate-malonate :.....	24
IV. Rôles et intérêt des composés phénoliques :.....	26
1. Chez les humains :.....	26
2. Chez les végétaux :.....	26
V. Les polyphénols des feuilles du goyavier : .....	27
1. Les phénols .....	27
2. Les flavonoïdes :.....	28
3. Les triterpénoides : .....	28
4. Les méroterpénoides :.....	28

**Chapitre III: Activités Biologiques**

I. Activité anti inflammatoire .....	31
1. L'inflammation.....	31
1.1 L'inflammation aigue.....	31
1.2. L'inflammation chronique .....	32
2. Les médiateurs de l'inflammation .....	33
3. Les pathologies inflammatoires.....	34
4. Les anti-inflammatoires .....	34
4.1. Anti-inflammatoires synthétiques :.....	34

4.2. Les anti-inflammatoires naturels.....	35
II. L'activité antioxydante .....	36
1. Le stress oxydatif.....	36
1.1 Conséquences moléculaires et pathologiques du stress oxydatif.....	36
2. Les radicaux libres.....	37
3. Les espèces réactives d'oxygène ERO .....	37
4. Les antioxydants .....	38
4.1. Les antioxydants enzymatiques d'origine endogène .....	39
4.2. Les antioxydants non enzymatiques d'origine exogène .....	40
4.2.1. Les antioxydants de <i>Psidium guajava</i> .....	41
5. Mécanisme d'action des antioxydants .....	42
III. Activité antibactérienne.....	42
1. Les infections microbiennes .....	42
2. Les Antibiotiques.....	42
3. Mode d'action des antibiotiques .....	43
4. Résistance antibactérienne.....	43
5. Activité antibactérienne des plantes .....	44

### ***Chapitre IV: Matériels et méthodes***

I. Matériels .....	47
1. Matériels biologiques : .....	47
II. Méthodes .....	48
1. Préparation de l'extrait de feuilles.....	48
2. Rendement d'extraction.....	48
3. Dosage des polyphénols totaux .....	49
4. Appréciation de l'activité anti-inflammatoire .....	50
4.1. Test d'innocuité de l'extrait vis-à-vis de des hématies .....	50
4.2. Test d'hémolyse .....	51

5. Test d'inhibition de dénaturation de l'ovalbumine..... 53

6. Appréciation de l'activité antioxydante..... 54

7. Appréciation de l'activité antibactérienne ..... 55

***Chapitre V: Résultats et discussions***

1. Rendement d'extraction : ..... 59

2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux ..... 59

3. Innocuité de l'extrait aqueux des feuilles de goyavier vis-à-vis des hématies :..... 60

4. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE ..... 61

    4.1. Tests de stabilisations de la membrane des globules rouges (activité anti hémolytique)  
    ..... 61

    4.2. Protection contre la dénaturation thermique de l'ovalbumine ..... 64

5. ACTIVITE ANTIOXYDANTE..... 66

6. Activité antibactérienne..... 69

Conclusion .....72

Bibliographie

Annexes

## Liste des abréviations

<b>ADN :</b>	Acide Désoxyribonucléique.
<b>AINS :</b>	Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
<b>AIS :</b>	Anti-inflammatoires stéroïdiens
<b>ATB :</b>	Antibiotique.
<b>ATCC :</b>	American Type Culture Collection.
<b>BHA :</b>	Butyl Hydroxy Anisole.
<b>BHIB :</b>	Brain Heart Infusion Broth.
<b>BHT :</b>	Butyl Hydroxy Toluène.
<b>BSA :</b>	Albumine sérique bovine.
<b>CAT :</b>	Catalase.
<b>CoA :</b>	Coenzyme A.
<b>COX :</b>	Cyclooxygénase.
<b>DDPH :</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
<b>DO :</b>	Densité optique.
<b>EAA :</b>	Equivalent acide ascorbique.
<b>EAG :</b>	Equivalent d'acide gallique.
<b>EAPG :</b>	Extrait aqueux de <i>Psidium guajava</i> .
<b>ED :</b>	Eau distillée
<b>ERO/ROE :</b>	Espèces réactives d'oxygène.
<b>Fe<sup>2+</sup> :</b>	Ion ferreux.
<b>Fe<sup>3+</sup> :</b>	Ion ferrique.
<b>FRAP :</b>	Ferric ions Reducing Antioxydant power.
<b>GN :</b>	Gélose nutritive.
<b>GPx :</b>	Glutathion peroxydase.
<b>GR :</b>	Globule rouge.
<b>HE :</b>	Huile essentielle.
<b>Hela:</b>	Henritter Lacks.
<b>HePG2:</b>	Hépatome humain G2.
<b>HPLC :</b>	Chromatographie liquide à haute pression
<b>IC50 :</b>	Concentration Inhibitrice à 50%.

<b>IL :</b>	Interleukines.
<b>LABAB :</b>	Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies.
<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharides.
<b>MCF-7:</b>	Michigan cancer foundation-7.
<b>mg :</b>	milligramme
<b>MH :</b>	Muller- Hinton
<b>ml :</b>	millilitre
<b>MS :</b>	Matière sèche
<b>NO :</b>	Oxyde nitrique.
<b>NOS :</b>	Oxyde nitrique synthase.
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PAMP :</b>	Pathogen Associated Molecular Patterns.
<b>PBS :</b>	Tampon phosphate salin.
<b>PGE2 :</b>	Prostaglandine E2.
<b>PLA2 :</b>	Phospholipases A2.
<b>PRR :</b>	Pattern Recognition Receptors.
<b>PT1B :</b>	Protéine tyrosine phosphate 1B.
<b>SOD :</b>	Superoxyde dismutase.
<b>TAC :</b>	Total Antioxydant Capacity.
<b>TNF- <math>\alpha</math> :</b>	Tumor Necrosis Factor alpha.
<b>UV :</b>	Ultra-violet.
<b>ZI :</b>	Zone d'inhibition.

## Liste des figures

FIGURES	TITRE	PAGE
<b>Figure 1</b>	Jeune arbre du goyavier	03
<b>Figure 2</b>	Les différentes parties de <i>psidium guajava</i>	04
<b>Figure 3</b>	La fleur du Goyavier à différents stades de croissance	05
<b>Figure 4</b>	Coupe d'une fleur de goyave	05
<b>Figure 5</b>	Les différentes couleurs de la pulpe de goyave	06
<b>Figure 6</b>	Distribution du goyavier dans le monde	09
<b>Figure 7</b>	Principales utilisations traditionnelles des feuilles de goyave dans les pays producteurs	10
<b>Figure 8</b>	Activités biologiques de <i>Psidium guajava</i>	12
<b>Figure 9</b>	Schéma récapitulatif des différentes classes et subclasses de polyphénols	17
<b>Figure 10</b>	Les différentes structures de l'acide hydroxybenzoïque	18
<b>Figure 11</b>	Structure chimique de quelques acides hydroxycinnamiques	18
<b>Figure 12</b>	Structure commune d'un flavonoïde	19
<b>Figure13</b>	Différents motifs structuraux de certains flavonoïdes en présence et en absence d'un composé osidique	20
<b>Figure 14</b>	Structure des différentes classes de flavonoïdes	21
<b>Figure 15</b>	Structure des deux types de tanins	22
<b>Figure 16</b>	Exemple de structure de la lignine avec des monoligands marqués et leurs liaisons les plus fréquentes	23
<b>Figure 17</b>	Structure des stiblènes trans- et cis- resvératrol et leurs glucosides.	24
<b>Figure 18</b>	Schéma récapitulatif de la synthèse des polyphénols par les deux principales voies : shikimate et acétate	25
<b>Figure 19</b>	Structure chimique des constituants phénoliques majeurs ainsi que des flavonoïdes présents dans la feuille de goyave.	27

<b>Figure 20</b>	Structure chimique de divers nouveaux squelettes de méroterpenoïdes biactifs inhabituels à base de sesquiterpénoïdes présents dans les feuilles de goyave	28
<b>Figure 21</b>	Étapes du déroulement de l'inflammation aiguë	32
<b>Figure 22</b>	Action des anti-inflammatoires non stéroïdiens	35
<b>Figure 23</b>	Maladies liées au stress oxydatif	36
<b>Figure 24</b>	Processus de formation des ERO	37
<b>Figure 25</b>	Représentation schématique des molécules intervenant dans la protection cellulaire	39
<b>Figure 26</b>	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques.	40
<b>Figure 27</b>	Mode d'action des agents antibactériens sur la cellule bactérienne.	43
<b>Figure 28</b>	Représentation schématique de la résistance antibactérienne	44
<b>Figure 29</b>	Aperçu général des méthodes expérimentales adoptées	47
<b>Figure 30</b>	Protocole de dosage des composés phénoliques totaux	49
<b>Figure 31</b>	Protocole de préparation des solutions végétales à différentes concentrations.	50
<b>Figure 32</b>	Protocole récapitulatif du test d'hémolyse induite par stress osmotique.	52
<b>Figure 33</b>	Diagramme des marches à suivre pour le test d'hémolyse provoquée par un stress thermique	53
<b>Figure 34</b>	Protocole du test de dénaturation de l'ovalbumine	54
<b>Figure 35</b>	Étapes d'isolation des colonies	56
<b>Figure 36</b>	Schéma récapitulatif des étapes nécessaires à la réalisation du test antibactérien	57
<b>Figure 37</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	59
<b>Figure 38</b>	Courbe représentant la densité optique du test d'hémolyse de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Psidium guajava</i> comparé à la saponine	60
<b>Figure 39</b>	Courbe représentative du pourcentage de protection de l'extrait aqueux de <i>psidium guajava</i> vis-à-vis d'un stress osmotique	61

<b>Figure 40</b>	Histogramme comparatif du pourcentage de protection de l'extrait aqueux de psidium guajava à un standard (acide acétylsalicylique) contre l'hémolyse induite par un traitement thermique.	63
<b>Figure 41</b>	Pourcentage de protection de l'ovalbumine contre une dénaturation par traitement thermique	65
<b>Figure 42</b>	Evaluation du pouvoir réducteur ferrique par l'extrait végétal	66
<b>Figure 43</b>	Réaction de Fenton	67
<b>Figure 44</b>	Capacité de l'extrait des feuilles de goyavier et vitamine C à réduire le molybdène	68

## Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
<b>Tableau I</b>	Composition des nutriments présents dans les feuilles de <i>Psidium guajava. L</i>	07
<b>Tableau II</b>	Composés phénoliques des feuilles de goyavier	07
<b>Tableau III</b>	Noms vernaculaires du goyavier	08
<b>Tableau IV</b>	Application commerciale de <i>Psidium guajava</i>	11
<b>Tableau V</b>	Effet et usages des composés phénoliques	26
<b>Tableau VI</b>	Médiateurs de l'inflammation et leurs effets	33
<b>Tableau VII</b>	Maladies inflammatoires.	34
<b>Tableau VIII</b>	Espèces réactives de l'oxygène moléculaire	38
<b>Tableau IX</b>	Antioxydants du goyavier	41
<b>Tableau X</b>	Souches bactériennes utilisées	48
<b>Tableau XI</b>	Diamètre des zones d'inhibition des bactéries	69

## Résumé

Les recherches focalisées sur les molécules d'origine naturelles douées d'activités biologiques augmentent de façon exponentielle, en vue de la richesse de la pharmacopée mondiale en plantes variées en fonction de leur écosystème et leur couvert végétal.

L'objectif de notre travail est d'évaluer la capacité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait foliaire de *Psidium guajava* récoltées dans la région de Tizi-Ouzou.

La première approche adoptée consiste en l'analyse phytochimique qui a permis de mettre en évidence la présence de quantités relativement importantes en composés phénoliques totaux dans les extraits foliaires à savoir  $211.58 \pm 4.73$  mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche. En second plan l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire s'est faite par 2 méthodes : l'étude de la protection de la membrane érythrocytaire via un test de stabilisation vis-à-vis d'un stress thermique et hypotonique (avec différentes concentrations en Na Cl), et un test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine. L'activité antioxydante a été démontrée par l'évaluation du pouvoir réducteur ferrique (FRAP) et la capacité antioxydante totale (TAC). Le dernier volet de notre étude a porté sur la détection de la capacité antibactérienne de l'extrait aqueux sur 4 souches bactériennes via la méthode de diffusion sur gélose MH (Mueller Hinton).

L'analyse des résultats des 3 activités ont montré respectivement un pouvoir anti-inflammatoire via l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine et la stabilisation de la membrane des globules rouges avec des pourcentage d'inhibition de 80.98% ; 86.11% et  $98.84 \pm 0.028\%$  pour chaque test ; une activité antioxydante relativement satisfaisante en vue de son activité réductrice ferrique (  $IC_{50} = 115.42 \pm 4.43 \mu\text{g/ml}$  ) et sa capacité oxydante totale (  $IC_{50} = 404.95 \pm 18.19 \mu\text{g/ml}$  ) ; ainsi qu'une activité antibactérienne modérée de par son pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne vis-à-vis des deux souches à Gram + à savoir *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.

Les résultats de nos travaux valident l'utilisation des feuilles de goyavier en tant qu'anti-inflammatoires, antioxydants et antibactériens.

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

## Abstract

Researches focused on natural origin molecules with biological activities is increasing exponentially, knowing the richness of the world pharmacopoeia in various plants depending on their ecosystem and their plant cover.

The aim of our work is to evaluate the anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial capacity of *psidium guajava* leaf extracts harvested in the region of Tizi-Ouzou.

The first approach adopted consisted on the phytochemical analysis which allowed to highlight the presence of relatively important quantities of total phenolic compounds in the leaf extracts namely  $211.58 \pm 4.73$  mg gallic acid equivalent/g of dry matter. Secondly, the evaluation of the anti-inflammatory activity was done by 2 methods: the study of the protection of the erythrocyte membrane via a stabilization test against a thermal and hypotonic stress (with different concentrations of NaCl), and an inhibition test of the denaturation of albumin. The antioxidant activity was demonstrated by the evaluation of the ferric reducing power (FRAP) and the total antioxidant capacity (TAC). The last part of our study focused on the detection of the antibacterial capacity of the aqueous extract on 4 bacterial strains via the diffusion method on MH agar (Mueller Hinton).

The analysis of the results of the 3 activities showed respectively an anti-inflammatory power via the inhibition of the thermal denaturation of albumin and the stabilization of the red blood cell membrane with percentage of inhibition of 80.98% ; 86.11% and  $98.84 \pm 0.028\%$  for each test ; a relatively satisfactory antioxidant activity in view of its iron reducing activity ( $IC_{50} = 115.42 \pm 4.43 \mu\text{g/ml}$ ) and its total oxidizing capacity ( $IC_{50} = 404.95 \pm 18.19 \mu\text{g/ml}$ ); as well as a moderate antibacterial activity due to its inhibitory power of the bacterial growth towards the two Gram + strains, namely *Staphilococcus aureus* and *Bacillus cereus*.

The results of our work validate the use of guava leaves as anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial.

Keywords : *Psidium guajava*, leaf extract, anti-inflammatory activity, antioxidant activity, antibacterial activity, polyphenols.

### Introduction

Depuis maintenant bien des siècles, les remèdes naturels à base de plantes médicinales étaient le principal, voir l'unique recours pour soigner les pathologies. Aujourd'hui avec l'arrivée de la médecine moderne ces remèdes sont souvent délaissés contre des produits synthétiques qui sont parfois tout aussi efficaces que les remèdes naturels qui eux ont le privilège d'engendrer moins d'effets secondaires (CUSHNIE ET LAMB, 2005).

Les limites thérapeutiques que connaissent les médicaments synthétiques ont motivé le développement de la recherche sur la plante en vue de l'obtention de phytomédicaments.

L'OMS estime qu'environ 65 à 80% de la population mondiale dans les pays en développement, ont recours essentiellement à des plantes médicinales traditionnelles pour leurs premiers soins (HADDOUCHI et al., 2016).

Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques leur conférant un intérêt médicinal particulier. Avec leur particularité de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent un grand réservoir de composés dotés d'une importante diversité chimique leur conférant un large éventail d'activités biologiques ; c'est le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-hémolytiques, antioxydants et antibactériens (GHEDADBA et al., 2015).

Toutes ces observations nous ont amené à étudier les feuilles de *Psidium guajava* ou goyavier. Une plante de la famille des Myrtacées. Son arbre fruitier au climat tropical et subtropical, pousse spontanément dans presque toutes les régions, mais il est très peu retrouvé en Algérie. Ce choix de plante a été motivé par sa richesse en activités diverses et l'écho dont elle fait preuve au sein du domaine de la phytothérapie et médecine traditionnelle dans les traitements de multiples troubles de la santé : réduction de glycémie, abaissement du cholestérol, traitement des maladies gastro-intestinales, etc (DIAZ-DE-CERIO et al., 2017).

Dans ce contexte, notre travail s'oriente vers l'étude photochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité anti inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait foliaire aqueux de *Psidium guajava*. L'étude expérimentale va nous permettre de répondre à certaines questions à savoir :

- Quelle est la richesse de cette espèce en polyphénols ?
- La diversité des molécules bioactives de cette plante lui donne-elle des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes ?
- Quels sont les paramètres à étudier pour évaluer ces activités

## **CHAPITRE I : Présentation de *Psidium guajava.L***

## I. HISTORIQUE

La goyave est originaire des tropiques américains. Son nom anglais goyave vient du nom haïtien guajaba. Les explorateurs espagnols ont apporté la goyave aux philippines et les portugais l'ont par la suite diffusée des Philippines à l'Inde. Elle s'est ensuite propagée au fur et à mesure à travers les tropiques grâce à l'abondance de ses graines de viabilité considérablement longue (METWALLY et al., 2011).

## II. Présentation de la plante

Le goyavier est une plante exotique appartenant à la famille des Myrtacées qui regroupe la muscade, girofle, bois d'Inde, eucalyptus, etc (Bourgeois et al. 1998). Elle est cultivée pour ses propriétés médicinales et nutritives ; cet arbre est peu exigeant en eau et pousse partout à l'état spontanée grâce à sa forte dissémination par les animaux (LAFON et al., 1988).

La goyave ou « pomme des tropiques » est considérée comme l'une des cultures fruitières les plus nutritives et les plus appréciées dans le monde ; elle surpasse largement les fruits tropicaux en termes de productivité et assure des rendements économiques très satisfaisants (GILL, 2016).

Le genre *Psidium* comprend 150 espèces et une centaine de variétés mais seulement 20 d'entre elles produisent des fruits comestibles ; ils sont répartis dans les régions tropicales et tempérées chaudes du monde (Afrique, Asie, Australie) (NOUGUEIRA et al., 2014).

### 1. Description botanique

Le goyavier est un arbre ou arbuste à fleur de taille moyenne à l'écorce brune blanchâtre mince épaisse et se décolle en flocons minces (figure 1). Il peut atteindre à des conditions d'humidité élevée les 10 m de hauteur avec 20 cm en diamètre (HEUZE et al., 2015).



**Figure 1** : jeune arbre du goyavier (*Psidium guajava*. L) (Photo personnelle).

Son système racinaire est ramifié et superficiel, son tronc dur et boisé. Les branches ont la capacité de monter, s'étendre ou s'affaisser en lui donnant différentes formes de canopées (POMMER et MURAKAMI, 2009).

La tige est dressée aérienne ligneuse ramifiée cylindrique et solide d'aspect glabre et de couleur blanche ou brune portant des feuilles aromatiques opposées courtes de 7 cm de large et 15 cm de long, de forme oblongue verte, simples avec un apex aigu et ovale à marge entière et une venation pennée et réticulée (figure 2). La nervure médiane est plus proéminente sur la face inférieure et les deux surfaces sont pubescentes (METWALLY et *al.*, 2011).



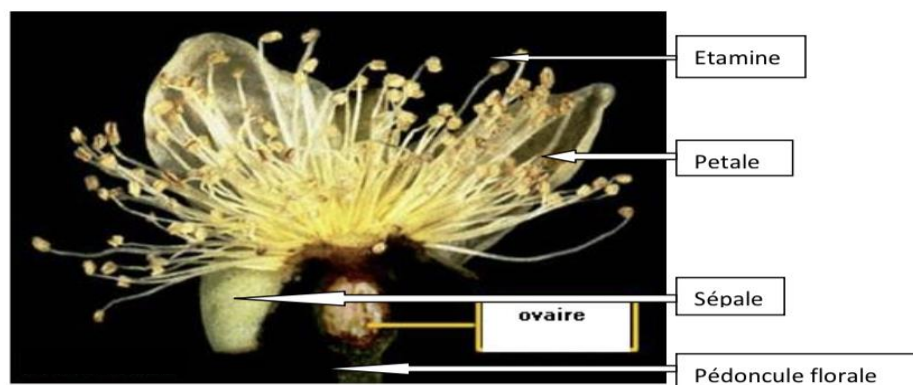
**Figure 2** : les différentes parties de l'arbre du goyavier (photo personnelle).

Cette plante est phanérogame porteuse de fleurs dialypétales à ovaires infères et inflorescence simple. Elles mesurent environ 25mm de diamètre portant sur une tige velue cinq sépales verts fusionnés à la base et quatre ou cinq pétales blancs (figure 3) (PRABHUDESAI et *al.*, 2019).



**Figure 3** : la feuille du goyavier à différents stades de croissance (photo personnelle).

Les étamines sont nombreuses, de filaments incurvés en bourgeons. sa coupe est représentée en figure 4



**Figure 4** : coupe d'une fleur de goyave (POMMER et MURAKAMI, 2009).

Le fruit de goyave est une baie de forme ronde ou ovoïde, mesurant 3 à 10 cm de diamètre avec un poids de 50 à 80g ; elle est vêtue d'une peau mince et molle, de couleur jaune à maturité et d'une pulpe interne pouvant présenter différentes coloris commençant par le blanc jusqu'au carmin en passant par des teintes, rose, saumon, jaune ou encore orange (figure 5) (BOURGEOIS et *al.*, 1998). A l'intérieur de la pulpe se trouvent de nombreuses petites graines en forme de haricot possédant une coque (PRABHUDESAI et *al.*, 2019).

Il existe de nombreuses variétés de goyavier qui se distinguent généralement par le fruit ; deux d'entre elles sont majoritaires : celles à pulpe blanche, sucrée et celle à pulpe rose ou

orange plutôt acide. La goyave est un fruit riche en eau ( 87g/100gMS) et pauvre en sucre (3.5g/100g MS), elle est caractérisée par une teneur exceptionnelle en vitamine C (5 fois supérieure à celle des agrumes) soit 80mg de vitamine C dans 100g de fruit (KAMATH et *al.*,2008).



**Figure 5 :** Le fruit de goyave et ses différentes couleurs de pulpe (BELACHEW, 2011).

### III. Composition chimique de la feuille

Les feuilles de goyave représentent une source variée de micro et macronutriments essentiels pour le maintien d'une bonne santé, ainsi que divers composés bioactifs. Elles contiennent 82,47% d'humidité, 3,64% de cendres, 0,62% de matières grasses, 8,53% de protéines, 12,74% d'hydrates de carbone, 103mg d'acide ascorbique et 1717 mg d'équivalent d'acide gallique (GAE/g de composés phénoliques totaux) (SHABBIR et *al.*, 2020).

- **Protéines :** en raison de leur richesse en protéines, glucides et fibres, les feuilles de goyave peuvent être utilisées comme source nutritionnelle hautement durable. Elles contiennent 16,8 mg de protéines et 8mg d'acides aminés/100g ( tableau I ) (KUMAR et *al.*, 2021).
- **Vitamines et minéraux :** la goyave est une source importante en fibres alimentaires de vitamine A, C acide folique et divers minéraux comme le potassium le cuivre et le manganèse (KAMATH et *al.*, 2008).

**Tableau I** : Composition des nutriments présents dans les feuilles de *Psidium guajava. L* (THOMAS et *al.*, 2017).

Nutriments	Concentration (mg/100g)
Amidon	6.3
Glucides	7
Protéines	16.8
Acides aminés	8
Vitamine C	103
Vitamine B	14.8
Calcium	1660
Fer	13.5
Magnésium	440
Potassium	1602
Phosphore	360

- **Composés phénoliques** : les composés phénoliques sont des métabolites secondaires représentant des éléments bioactifs clés, responsables des propriétés thérapeutiques attribuées aux feuilles de goyavier. En effets ces composés jouent un rôle majeur dans la régie des diverses activités métaboliques et physiologiques dans l'organisme (KUMAR et *al.*, 2021). Ils comprennent les flavonoïdes les acides phénoliques les triterpénoïdes, les sesquiterpènes, les glycosides, les alcaloïdes et les saponines. Soixante-douze composés phénoliques ont été répertoriés par HPLC et spectrométrie de masse dont certains sont résumés dans le tableau II (LIU et *al.*, 2014).

**Tableau II**: 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

#### IV. Position systématique

La classification scientifique du goyavier selon RAVI et DIVYASHREE (2014) est la suivante :

**Règne :** *Plantae*

**Sous-règne :** *trachéobionta*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous-classe :** *Rosidae*

**Ordre :** *Myrtales*

**Famille :** *Myrtaceae*

**Genre :** *Psidium*

**Espèce :** *Psidium guajava*. L

**Tableau III :** Noms vernaculaires du goyavier (GUTIERREZ et al., 2008).

<b>Français</b>	Goyavier, goyave, pied de goyave (La réunion), gouyave (Haïti)
<b>Anglais</b>	Guava
<b>Allemand</b>	Guave
<b>Italien</b>	Guava
<b>Arabe</b>	Djawafa
<b>Espagnol</b>	Guayabo

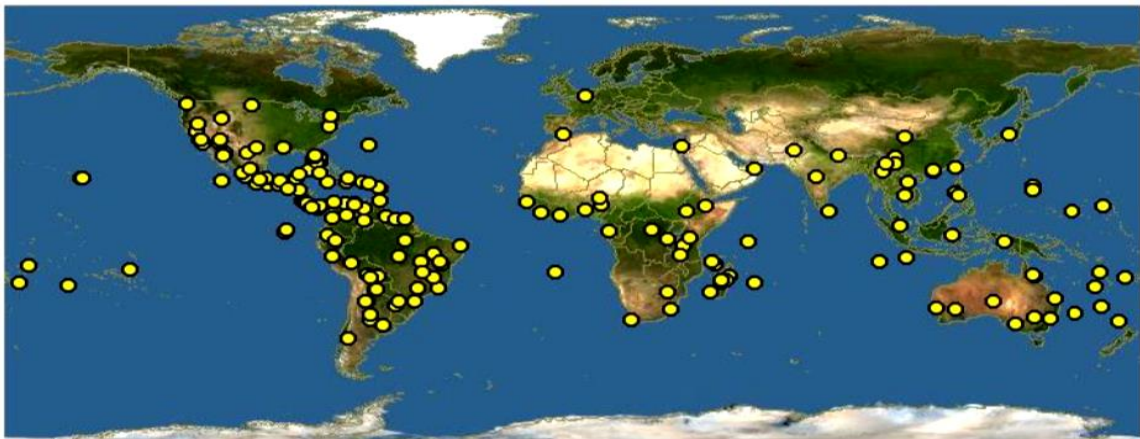
## V. Habitat

L'arbre de *Psidium guajava* prospère dans des climats à la fois humides et secs, à une altitude de 2740m au-dessus du niveau de la mer. C'est une plante qui préfère le soleil avec une lumière partielle. Il pousse à des températures estivales moyennes de plus de 15°C mais ne peut résister aux intenses chaleurs bien qu'il soit tolérant à la sécheresse ; d'ailleurs, il produit plus de fruits dans les régions où la saison hivernale est distincte avec des précipitations annuelles de 1000 à 20000 mm. Il tolère les zones humides mais préfère les sols avec un bon drainage, légèrement acides avec un pH de 4.5 à 9.4 tolérable et un pH optimum de 5 à 7 (GUPTA et al., 2011).

- **Répartition géographique**

L'origine géographique du goyavier est l'Amérique centrale, mais aujourd'hui on le trouve dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales du monde. En moins d'un demi-siècle, cet arbre s'est répandu à l'état sauvage et cultivé dans le Guatemala, le Mexique, le Brésil, la Thaïlande, le Pérou ou encore la Chine (BOURGEOIS et *al.*, 1998).

La goyave a la capacité de se développer sous de larges conditions environnementales ; elle peut parfois être signalée comme une herbe envahissante dans les îles du Pacifique et le long de la rive du Pacifique par exemple. A certains endroits, cette plante peut former des fourrés denses de plus de 100 arbres par hectare et peut provoquer par conséquent l'abandon des pâturages et la dégradation des terres (HEUZE et *al.*, 2015).



**Figure 6** : Distribution du goyavier dans le monde (DAEHLER et *al.*, 2004).

## VI. Les différents usages de *Psidium guajava*. L

### 1. Usage traditionnel

La goyave est une plante anciennement connue pour ses propriétés curatives. Acclamée comme « la pomme du pauvre homme des tropiques » elle est utilisée traditionnellement à des fins diverses dans plusieurs régions dans le monde (figure 7) dans le traitement de la diarrhée, de la dysenterie, des troubles menstruels, vertiges, anorexie, problèmes digestifs, inflammation des muqueuses rhumes, toux et bien d'autres (RAVI et DIVYASHREE, 2014).

La partie la plus exploitée est la feuille, puis viennent les fruits, l'écorce, puis la racine (GUPTA et *al.*, 2011). La figure résume les principales utilisations traditionnelles des feuilles de goyave dans les principaux pays producteurs. L'application du remède dépend de la maladie,

elle peut être orale ou topique. Consommée en décoction, en infusion, ou en bouillies est un moyen couramment utilisé pour surmonter plusieurs troubles tels que les rhumatismes, la diarrhée, le diabète et la toux en Inde, en Chine, au Bangladesh et au Pakistan ; d'un autre côté au Niger, la décoction est utilisée comme bactéricide, et comme gargarisme contre les ulcères buccaux en Asie du sud-est. Elle est également utilisée superficiellement sous forme de cataplasme au Brésil, au Mexique au Niger et aux Philippines.



**Figure 7** : principales utilisations traditionnelles des feuilles de goyave dans les pays producteurs (DIAZ-DE-CERIO et *al.*, 2017).

## 2. Usage industriel

Outres les usages médicaux, *Psidium guajava* trouve d'autres applications dans diverses industries comme l'agro-alimentaire dans la préparation des jus, gelées, nectars confiseries, mais aussi dans la menuiserie, la construction de maison ou encore la fabrication de jouets (tableau IV) (DASWANI et *al.*, 2017).

**Tableau IV** : Application commerciale de *Psidium guajava* (GUTIERREZ et al., 2008).

Parties	Utilisation	Régions
Fruit	Jus, nectar de gelée, gélatines, confiseries, pâtes, concentré de fruits...etc.	Partout dans le monde
Bois et feuilles	Dans la menuiserie et la tournerie, les feuilles sont utilisées pour faire un colorant noir pour la soie	Malaga
Bois	Toupies Gravures Construction de maisons	Guatemala Inde Le Niger
Feuilles	Coloration de coton en noir Teinture de tapis	Asie du sud-est Indonésie
Ecorce	Colorants, encres, tatouages	Afrique
Fleur en bois	Le gui <i>Psittacanthus calyculatus</i> Don est un parasite qui donne à l'arbre des malformations en forme de rosettes « fleurs de bois » qui sont commercialisées en tant que curiosités ornementales	Mexique

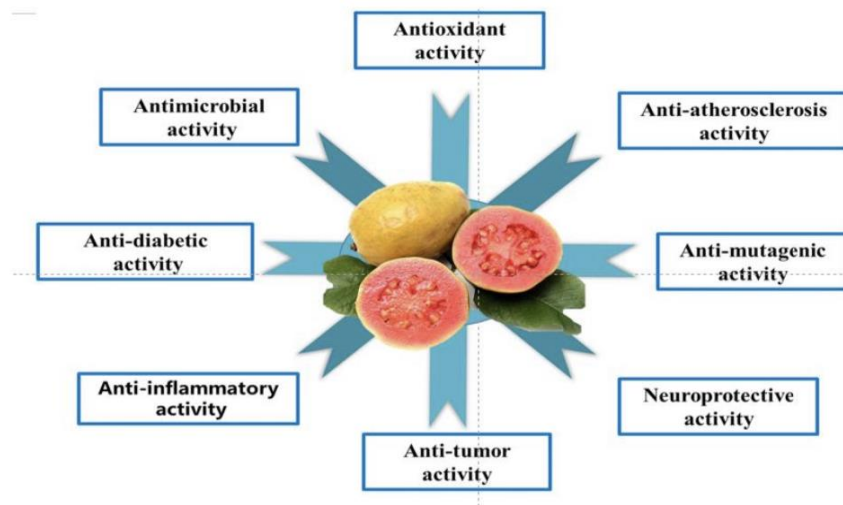
### 3. Usage cosmétique

La goyave trouve aussi des applications en cosmétique en raison de ses vertus dans le traitement des chutes de cheveux, elle est astringente et donneuse d'éclat pour la peau et est utilisée comme lotion nettoyante. C'est également un anti-acnéique purifiant et un gommage naturel en raison de ses propriétés antibactériennes qui luttent par la même occasion contre les bactéries buccales responsable de la mauvaise haleine (ARGUETA et al., 1994).

## VII. Activités biologiques :

Un nombre important d'études rapportent que divers composants pharmacologiques actifs sont présents dans cette plante et qui sont responsables des nombreuses activités dont elle

dispose tels que l'effet antidiabétique, anti-inflammatoire, antioxydant, anti diarrhéique, cardio actif, hépato protecteur, antimicrobien spasmodique, immun modulateur et antipyrétique (RISHIKA et SHARMA, 2012).



**Figure 8 :** activités biologiques de *Psidium guajava.L* (DE BEER et al., 2002).

### 1. Activité anti- toux

La feuille de goyave est utilisée en Bolivie et en Egypte depuis longtemps pour traiter les maladies y compris la toux et les maladies pulmonaires. En effet l'extrait aqueux a la capacité de diminuer la fréquence de la toux induite par l'aérosol de capsaïcine dans les 10 min qui suivent l'injection intra péritonéale de l'extrait avec une DL50 de 5G/KG (JOSEPH et PRIYA., 2011).

### 2. Action anti-inflammatoire

La goyave est réputée pour son action anti inflammatoire (GASHE et al., 2012). Cette action réside en sa capacité à inhiber les prostaglandines, les kinines et l'histamine, des chimiokines intervenant dans le processus inflammatoire (RAVI et DIVYASHREE, 2014). Il a été démontré que les extraits foliaires et les tiges de goyave ont la capacité de diminuer le niveau de CRP faisant d'eux des modulateurs de la réponse inflammatoire (KWAMIN et al., 2012).

### 3. Activité anti-plaque dentaire

Une mauvaise hygiène buccale conduit souvent à une accumulation de plaques dentaire qui est considéré comme le facteur étiologique principal de la maladie parodontale conduisant à des gingivite et des parodontite (FATHILAH, 2010). Les feuilles de goyavier viennent pallier à ce problème ; en effet PRABU et *al* (2006), ont démontré que la pâte de feuille de goyavier utilisée anciennement pour maintenir l'hygiène buccale a montré un spectre d'action contre les bactéries a gram négatif et gram positif . Cette activité est attribuée aux flavonoïdes, à la guaijaverine et a la quercetine.

### 4. Activité antioxydante

L'oxygène représente un élément important agissant comme un accepteur d'électrons terminaux lors des processus de la respiration. Toutefois, les radicaux libres générés lors des processus métaboliques sont à l'origine de diverses affection dans le corps humain à savoir les maladies inflammatoires les maladies ischémiques, l'emphysème, et bien d'autres (FARAG et *al.*,2020).

Il a été démontré que les feuilles de goyavier avaient une puissante activité antioxydante, et ce grâce à leur composition en principes actifs et composés phénoliques , tel que l'acide gallique le pyrocatechol la taxifoline l'acides ferrulique , mais aussi les polysaccharides dotés d'une capacité à piéger les radicaux DPPH ( 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ainsi qu'une action inhibitrice de la peroxydation lipidique et de la mort cellulaire oxydative induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (LEE et *al.*, 2012 ; Kim et *al.*, 2016). C'est pourquoi la goyave pourrait être utilisée pour prolonger la durée de conservation des aliments et ainsi réduire le gaspillage et les pertes nutritionnelles par retardement de l'oxydation.

### 5. Activité anti-diarrhée

La diarrhée est l'une des causes de mortalité chez les enfants ayant d'âge compris entre 0 et 5 ans. C'est pourquoi des recherches ont été établies dans le buts de trouver des nouveaux médicaments et produits photochimiques ayant des effets secondaires minimales sur les autres organes du corps humain (GUTIERREZ et *al.*, 2008).

Des chercheurs ont rapporté que des extraits aqueux de feuilles de goyavier administrés par voie orale à des doses de 52 à 410 mg /kg ont entraîné une réduction du transit intestinal et une élimination des produits gastriques indésirables (OJEWOLE et *al.*, 2008). Des résultats similaires ont été rapportés par DEWI et *al* (2013) sur la puissance antidiurétique de ces extraits. Ces études suggèrent que les feuilles de *Psidium guajava* possèdent un potentiel remarquable pour la lutte contre les diarrhées, chose qui a suscité l'attention des communautés scientifiques concernant leur perspective pharmacologique.

## 6. Activité antidiabétique et hypoglycémiante

La feuille de goyave est utilisée depuis des années à des fins thérapeutiques contre le diabète, et ce par différents moyens tels que l'inhibition des enzymes alpha-glucosidases : il a été rapporté que le thé de goyave fabriqué à partir d'extrait d'eau chaude des feuilles a une action inhibitrice des enzymes dégradant les glucides et supprime le taux de glucose sanguin postprandial chez les sujets humains (DEGUCHI et MIYAZAKI, 2010). La réduction de l'élévation de la glycémie postprandiale : l'administration orale chez les rats diabétique d'un extrait éthanolique des feuilles à 50% ou de l'extrait aqueux à 250mg/kg ont tous deux permis de prévenir l'hyperglycémie induite par l'alloxane. Les principes actifs responsables de cette propriétés ont été identifiés comme étant les tanins isostrictinine, strictinine et pédonculagine (MUKHTAR et al., 2004).

## 7. Activité anti microbienne

L'extrait aqueux de l'écorce de *Psidium guajava* et les extraits méthanoliques se sont avéré posséder une activité anti bactérienne. Cette activité est liée principalement aux flavonoïdes présents dans les extraits de feuilles de goyave (RATTANACHAIKUNSOPON et PHUMKHACHORN, 2010).

4 composés anti bactériens ont été extraits à partir des feuilles de goyavier ; la concentration minimale d'inhibition de morin-3-alpha-L-arabopyranoside et morin-3-o-alpha-Lyxopyranoside était de 200 µg/ml chacun pour *Salmonella enteritidis* et de 200ug/ml contre *Bacillus cereus* respectivement (MITTAL ET al., 2010).

Il a été également rapporté que les feuilles de *P.guajava* ont un large spectre d'action contre *vibrio choléra* multi résistant aux médicaments et pourrait donc être efficace pour le contrôle des épidémies de choléra (ABDELRAHIM et al., 2002).

## 8. Activité cardio-vasculaire

Des études ont montré que l'extrait foliaire aqueux de *Psidium guajava* était doté d'une capacité cardio-protectrice contre les lésions ischémiques du myocarde dans un cœur isolé de rat. L'administration intra-veineuse aigue de l'extrait aqueux des feuilles de goyavier (50-800mg/kg) s'est traduite par une réduction importante de la pression artérielle systémique et de la fréquence cardiaque des rats hypertendus.les effecteurs de ce phénomène sont les constituants phytochimiques des feuilles à savoir les flavonoïdes, triterpenoïdes, quercétine, guajaverine ... etc (ANAND et al., 2016).

Une étude plus approfondie a montré que les fractions aqueuses obtenues à partir de l'extrait de feuilles présentent un effet inotrope négatif par diminution de l'auriculaire contractile et réduction de l'entrée du calcium dans les cellules myocardiques par les canaux de potassium ouverts des tissus cardiaques (N'GUESSAN-IRIE et al., 2012).

**9. Activité anticancer :**

Les feuilles de goyavier représentent une bonne source de triterpénoïdes, tanins, psiguadials, flavonoïdes ou encore d'huiles volatiles qui jouent un rôle important dans la prévention des cancers. Le D psiguadial et le C psiguadial agissent comme inhibiteurs des cellules de l'hépatome humain (HepG2) et de protéine tyrosine phosphate 1B (PT1B). Les terpenoïdes et les flavonoïdes présentent des effets anti tumoraux par régulation du système immunitaire, et l'inhibition du transfert du signal et de l'adhésion des cellules tumorales empêchant ainsi l'angiogenèse et la prolifération cellulaire (BISWAS et *al.*, 2019).

D'autres études viennent appuyer ces effets en suggérant que les feuilles présentent un effet inhibiteur contre les lignées cellulaires cancéreuses comme le MDA-MB-231 et la Michigan Cancer Foundation-7(MCF-7) pour le cancer du sein, KB pour le cancer du rhinopharynx et Henrietta Lacks (HeLa) pour le cancer du col de l'utérus (CORREA et *al.*, 2016).

**10. Activité Anti- allergique :**

En addition aux activités mentionnées, *Psidium guajava* a également montré des effets anti-allergiques. L'extrait foliaire aqueux de goyave a le pouvoir d'induire une forte inhibition de la libération d'histamine à partir des mastocytes. Cet extrait a également montré une activité anti allergique sur l'immunité des lymphocytes T chez la souris (GUPTA et *al.*, 2011).

**VIII. Toxicité de *Psidium guajava* :**

L'étude toxicologique des différentes parties extraites de *Psidium guajava* n'a montré aucun effet nocif à court terme et la plante peut ainsi être utilisée en toute sécurité. Des tests ont été faits sur des souris suisses et des rats avec des concentrations de l'ordre de 5g/kg ; la DL50 est donc supérieure à 5g/kg. Les tests faits *in vitro* sur les lymphocytes du sang périphérique humain n'ont révélé aucun dommage attribuable à la toxicité du matériel végétal (GUTIERREZ et *al.*, 2008).

D'autres études complémentaires ont déclaré que l'extrait d'acétate d'éthyle est utilisable à des doses allant jusqu'à 1,40g/kg de poids corporel, l'extrait aqueux jusqu'à 2.05g/kg et l'extrait alcoolique jusqu'à 2.05 g/kg (METWALLY et *al.*, 2011).

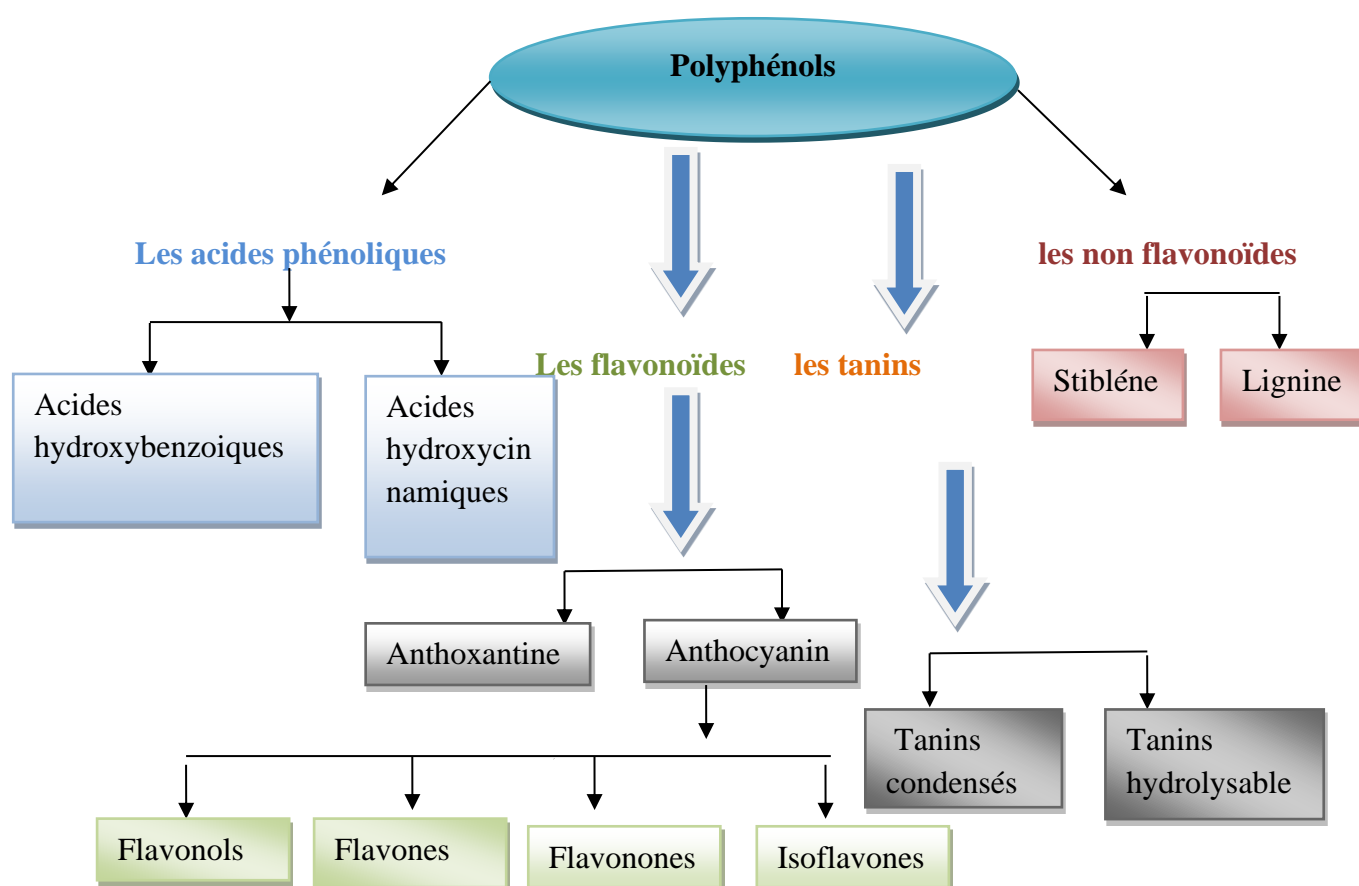
## **CHAPITRE II : Les composés phénoliques**

## I. Généralités sur les Polyphénols :

Les phénols sont largement distribués dans le règne végétal d'une structure phénolique dépassant les 8000 structures connues et parmi eux plus de 4000 de flavonoïdes ont été identifiés, ils constituent un groupe important et complexe de substances végétales allant de simples molécules telles que les acides phénoliques aux molécules plus complexes et hautement polymérisées comme les tanins (TSAO, 2010). Les composés phénoliques sont présents dans la majorité des aliments principalement les plantes localisées dans divers organes du végétal. Ils sont connus pour leurs effets positifs et bénéfiques sur la santé humaine et sont largement utilisés dans le domaine alimentaire, agroalimentaire, médical et autre (RICHARD *et al.*, 2014).

## II. Classification des polyphénols :

Les composés phénoliques sont naturellement synthétisés dans les plantes et sont classés en plusieurs classes et sous classe en fonction du nombre d'unités phénoliques au niveau de la structure moléculaire, le type de liaisons formées entre elles ainsi que les groupes et les substituant présents dans les composés. (SINGLA *et al.*, 2019)



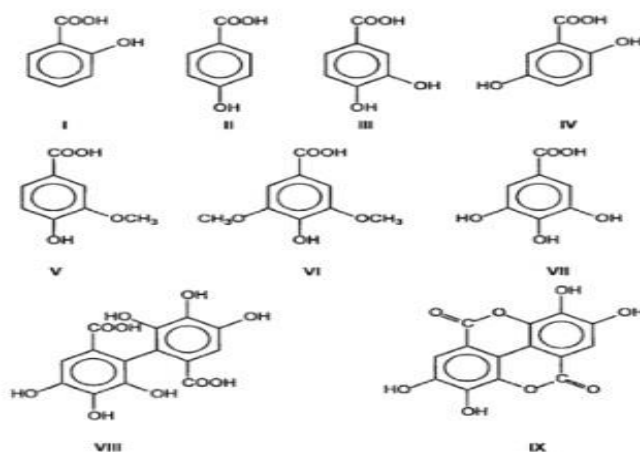
**Figure 09 :** Schémas récapitulatif des différentes classes et sous-classes des polyphénols (SINGLA *et al.*, 2019)

**1. Acide phénolique :**

On distingue deux types d'acides phénoliques possédant une structure (C6-C3)

**a. Acides hydroxybenzoïques :**

Ils sont de structures variantes comme le montre la figure (10), portant un groupement méthyle ou hydroxyle sur leur cycle phénolique aromatique. Représentés généralement sous une forme libre (COLLIN et CROUZET, 2011).

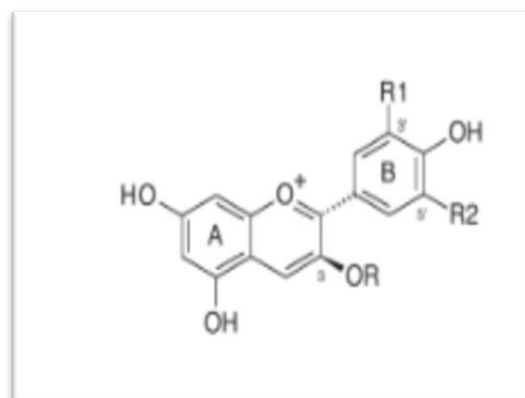


**Figure 10 :** Les différentes structures de l'acide hydroxybenzoïque (COLLIN et CROUZET, 2011)

**b. Acides hydroxycinnamiques :**

On peut les trouver sous une forme estérifiée par l'acide quinique, leur formule est semblable à celle des hydroxybenzoides (C6-C3). Ils sont présents pratiquement dans toutes les parties du végétal de la racine au fruit (COLLIN et CROUZET, 2011).

Acides hydroxycinnamiques	R1	R2
Acide p-coumarique	H	H
Acide caféique	OH	H
Acide férulique	OCH3	H

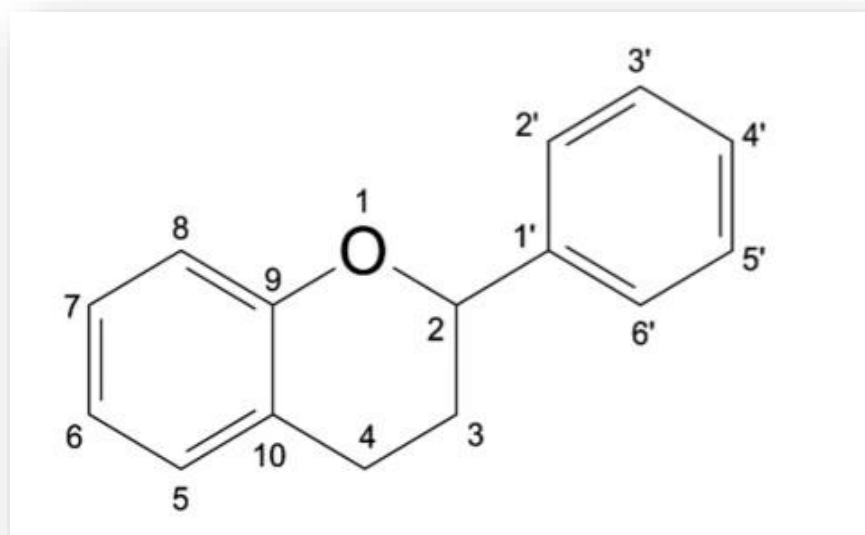


**Figure 11 :** Structure chimique de quelques acides hdroxycinnamiques C6-C3 (COLLIN et CROUZET, 2011).

## 2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont présents quasiment dans toutes les plantes médicinales, ils sont très utilisés comme remède en raison de leur richesse en composés flavonoidiques, qui sont responsable de leur activité biologique qui est l'activité antioxydante pour protéger l'organisme contre les effets délétère en relation avec l'environnement. Ils sont charpentés et souvent colorés d'un pigment responsable de la coloration d'organes végétaux (GHEDIRA, 2005).

Il existe plus d'une dizaine de classes de flavonoïdes de structure générale (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) qu'on nommé diphenylpropanes, dans laquelle les deux cycles sont liés par un cycle hétérocyclique qui est un pyrane fermé responsable de la diversité structurale des flavonoïdes par rapport à l'état d'oxydation de ce dernier et l'hydroxylation donnant une gamme importante de flavonoïde tels que les flavonols, anthocyanidines, anthocyanes, isoflavones, flavonones (SINGLA et al., 2019).



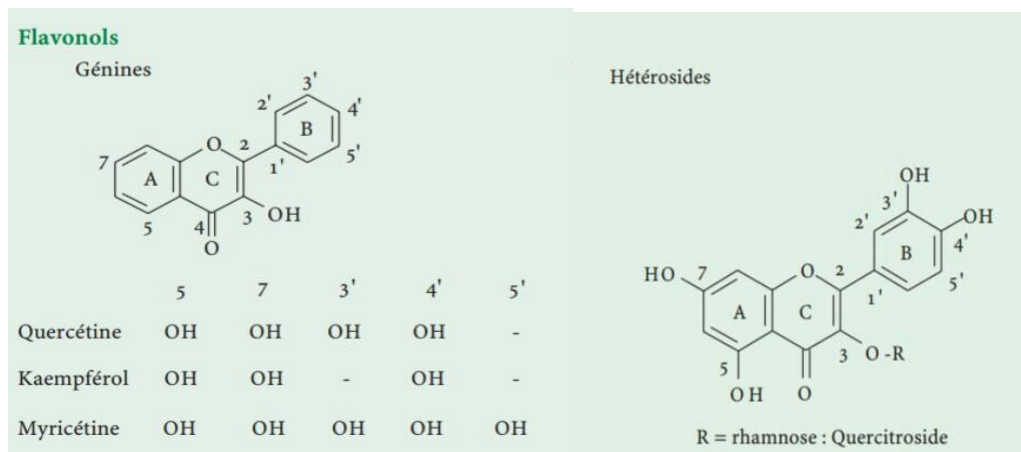
**Figure 12 :** Structure commune d'un flavonoïde (SINGLA et al., 2019).

### a. Les flavones :

Présence d'un groupe carbonyle au Carbone 4 et le cycle B est attaché au cycle hétérocyclique au deuxième Carbone, et d'une double liaison entre le C2 et le C3, parmi les flavones les plus connus nous avons la lutéoline et l'apigénine (SINGLA et al., 2019).

**b. Flavonols :**

Les Flavonols possèdent un cycle hétérocyclique relativement oxygéné, ils sont dépourvus de doubles liaisons entre le deuxième et le troisième Carbone portant le groupement hydroxyle, ce qui fait la distinction entre les flavones et les Flavonols (SINGLA *et al.*, 2019).



**Figure 13 :** Différent motifs structuraux de certains flavonols en présence et en absence d'un composé osidique (GHEDIRA, 2005).

**c. Les flavonones :**

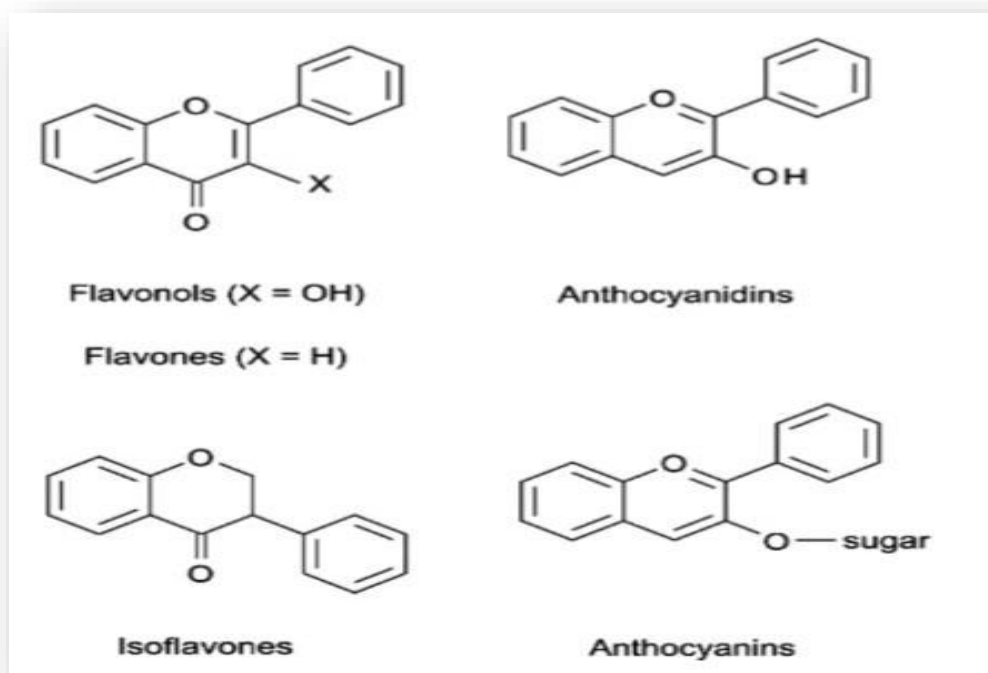
L'hétérocycle porte un cycle saturé, il n'y a pas de groupe hydroxyle en position C3. Les flavonones peuvent subir des modifications chimiques au niveau de leur structure telle que la méthylation, la glycosylation et l'hydroxylation. La forme la plus courante de flavonones glycosylées est la substitution en C7 par un disaccharide (SINGLA *et al.*, 2019).

**d. Les anthocyanes :**

Une structure de base caractérisée par un noyau flavone glycosylé en son troisième carbone, la majorité des espèces présentent des anthocyanes glycosylés en C3' et C5'. Ils se différencient par le degré d'hydroxylation et de méthylation, la nature, le nombre des composés glucidiques liés à la molécule (VANDI *et al.*, 2016), ils sont les composés principaux des pigments rouge, bleu et violet des fleurs, fruits et légumes. Les anthocyanidines les plus répandus sont la cyanidine, la delphinidine et la pélagonidine liés à un ose pour donner la structure complète d'un anthocyane (TSAO, 2010).

### e. Les isoflavones :

Ils sont classés comme étant un composé hautement oestrogéniques constituant la forme principale et courante de phytoestrogènes. Cette classe est retrouvée principalement chez les légumineuses avec des quantités importante à savoir le soja (KRIZOVA et *al.*, 2019), la génistéine et la daidzéine sont les deux principaux composés que l'on retrouve dans le soja et sont activé que lorsque les résidus de sucre sont éliminés, ayant un impact positif sur la santé humaine (TSAO, 2010).



**Figure 14 :** La structure de différentes classes de flavonoïdes (SINGLA et *al.*, 2019).

### 3. Les tanins :

Le terme tanin vient de la capacité tannante, sont des composés polaire hydrosolubles d'origine végétale. Les tanins sont des composés de haut poids moléculaire et d'une masse molaire comprise entre 500 et 3000g/mol qui ont la capacité de former des complexes insolubles avec des glucides et des protéines (BRAVO, 1998). Ces métabolites secondaires sont retrouvés dans plusieurs parties du végétal, ils sont responsables de l'astringence de plusieurs fruits et légumes. La plus forte concentration se rencontrent dans les fruits les feuilles et les fleurs. En raison de leur localisation située au niveau des épidermes les tanins sont facilement libérés (ZIMMER et CORDESSE, 1996).

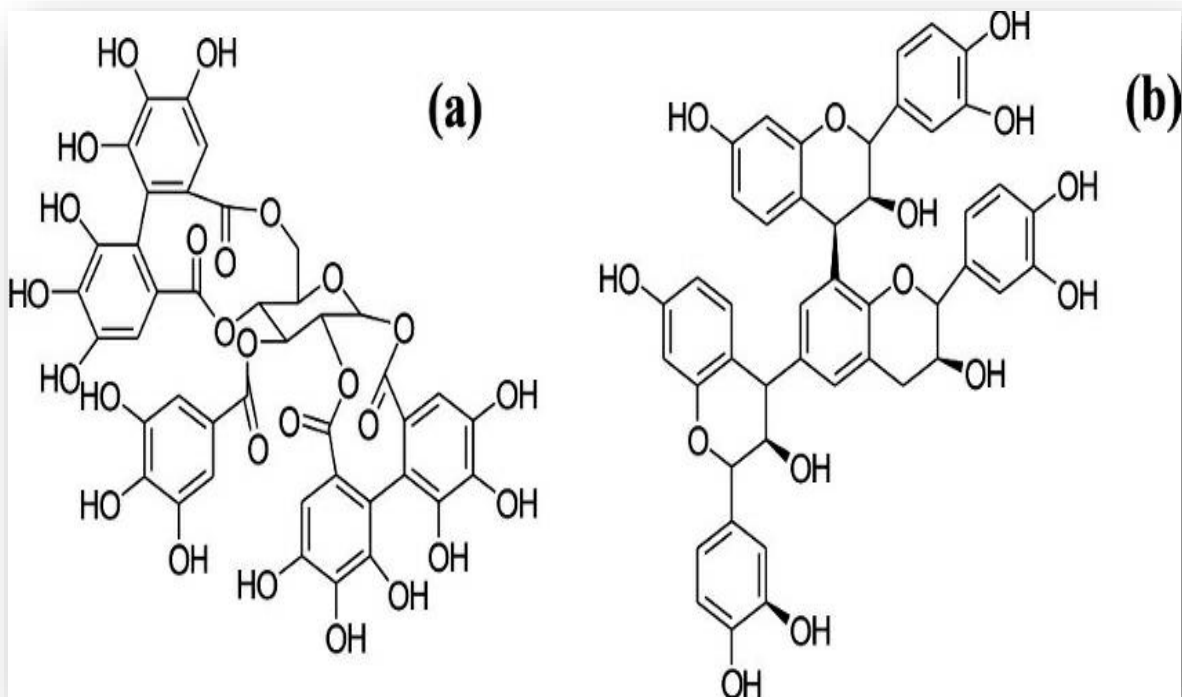
Ces macromolécules sont divisées selon leurs structures en deux principales catégories qui sont les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

**a. Les tanins hydrolysables :**

On les trouve uniquement chez les dicotylédones, ce sont des esters d'un sucre simple et d'un acide phénolique. Le résultat de l'hydrolyse enzymatique ou autres offrent deux acides phénoliques l'acide gallique et l'acide ellagique, ce qui donne deux sous-classes différentes les gallotanins et les ellagitanins (ZIMMER et CORDESSE, 1996), les gallotanins vont libérer de l'acide gallique après hydrolyse.

**b. Les tanins condensés :**

Les tannins condensés dénommés aussi proanthocyanidines sont très utilisés par l'humain et sont également disponible pratiquement dans certains organes de plusieurs végétaux représentent un ensemble d'unités flavanniques (flavane-3-ols) liées entre elles par des liaisons C4 et C8, ils sont résistants à l'hydrolyse. Seules les attaques chimiques ont la capacité de les dégrader (MACHEIX *et al.*, 2005).



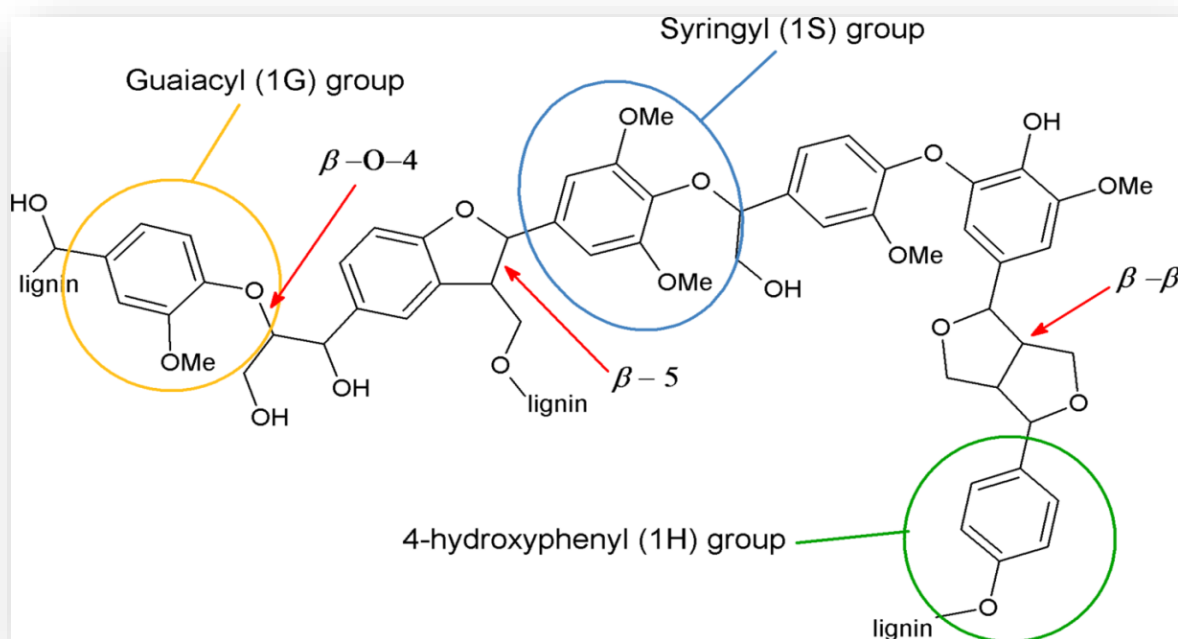
**Figure 15 :** Structure des deux types de tannins ( (a) : hydrolysable et (b) condensé )  
(RAJA *et al.*, 2014).

**4. Les non flavonoïdes :**

Sont divisés en deux classes la lignine et le stibléne

### a. La lignine :

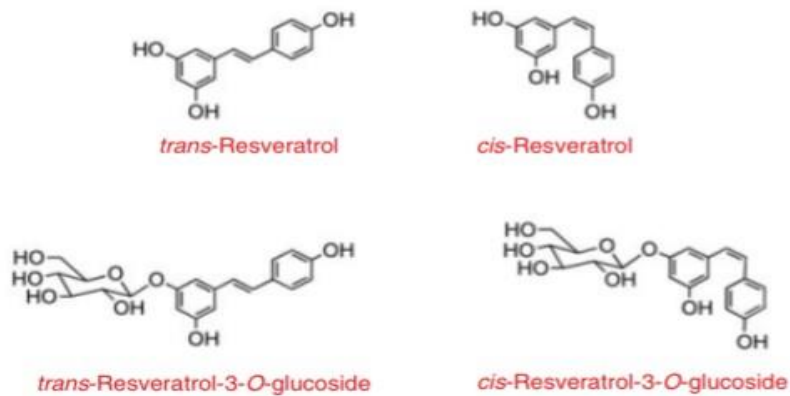
Un vaste groupe de polymères aromatiques très complexe dont chaque polymère est composé de trois monomères qui sont l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylique et l'alcool p-hydroxycinnamique libérant trois unités de bases qui sont p hydroxyphényl (H), guaiacyl (G) et siryngyl (S), un polymère hydrophobe et relativement rigide. Elle est synthétisée au niveau des parois (WAYMAN et OBIAGA, 1973) et son rôle principal est la protection des plantes contre les agents pathogènes et elle assure le transport des eaux et des nutriments (RAWAL *et al.*, 2020).



**Figure 16 :** Exemple de structure de lignine avec des monolignols marqués et leurs liaisons les plus fréquentes (JEDRZEJCZAK *et al.*, 2021).

### b. Stiblénes :

Les Stiblénes sont des constituants non flavonoïques d'une structure chimique particulière C6-C2-C6 qui peuvent donner naissance à une grande quantité de composés qui diffèrent entre eux par la fonction hydroxyle en nombre et en position sur les cycles phénoliques, la liaison avec des sucres et d'autres groupements fonctionnels (RICHARD *et al.*, 2014). Ils sont dit phytoalexines synthétisés en réponse à un stress biotique face à une attaque des agents pathogènes de n'importe quelle origine fongique, virale et bactérienne on les trouve sous forme de resveratrol qui est la forme la plus connue et la plus étudiée (CROZIER *et al.*, 2006).



**Figure 17 :** Structure des Stilbènes trans- et cis-resvératrol et leurs glucosides (CROZIER *et al.*, 2006).

### III. La biosynthèse des polyphénols :

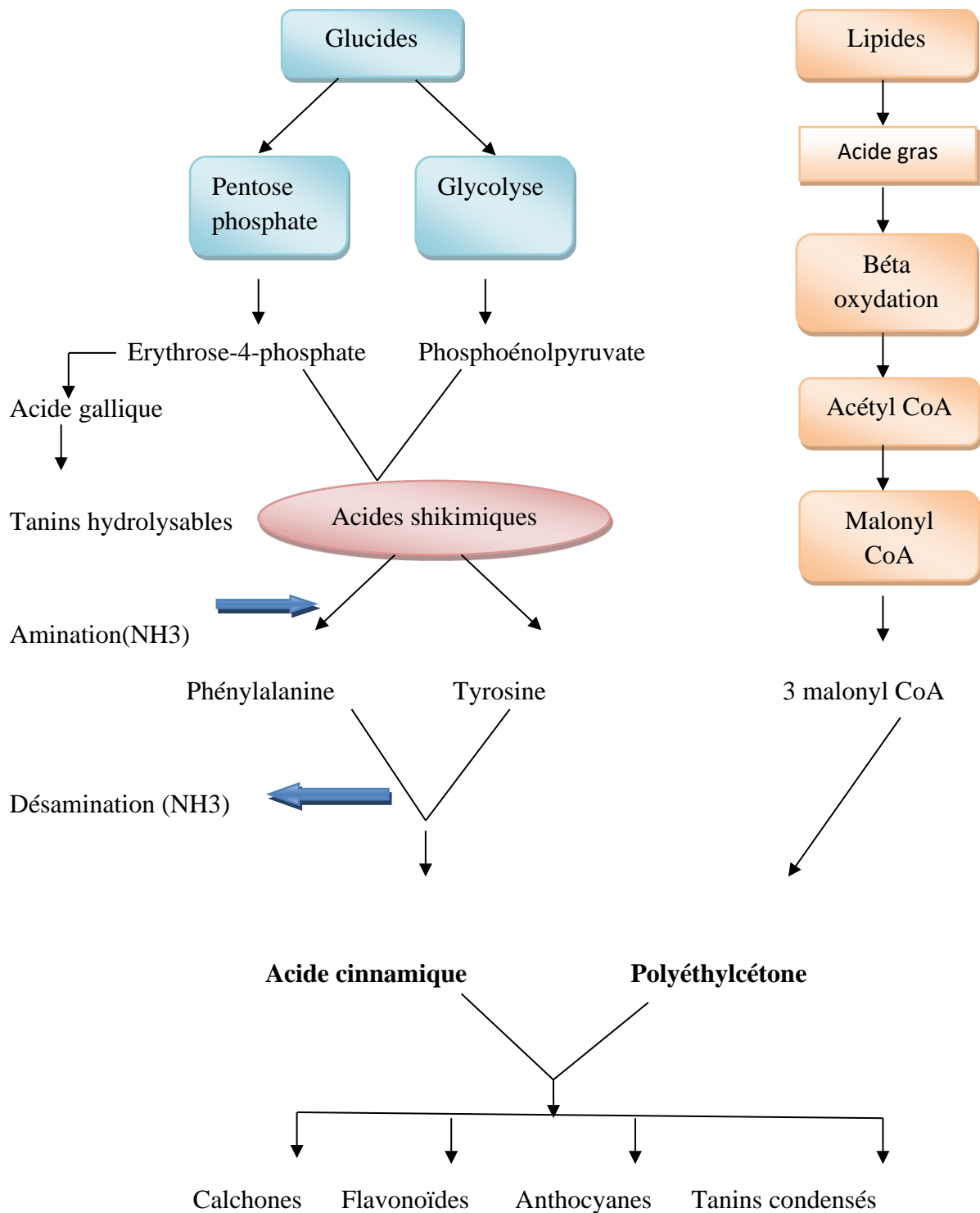
Biogénétiquement parlant les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies principales : la voie du shikimate et la voie de l'acétate

#### 1. La voie de shikimate :

Une voie liée nécessairement aux métabolites des glucides et des acides aminés aromatiques. Les produits d'initiations de cette voie sont le résultat de la glycolyse et du cycle pentose phosphate, la cyclisation et la condensation de ces deux composés conduisent à la formation d'un produit relativement important qui est l'acide shikimique qui va subir des transformations et donner soit des acides oxybenzoïques tel que l'acide gallique ou des acides aminés aromatiques la phénylalanine et la tyrosine suite à l'ajout d'une molécule supplémentaire phosphoénolpyruvate et une amination et la désamination des acides aminés aromatiques donne naissances à l'acide cinnamique et leurs aldéhyde et de coumarines. Une voie que l'on retrouve chez les bactéries, les algues les champignons et les plantes mais jamais dans une cellule animale (BRZOZOWSKA et HANOWER, 1976).

#### 2. La voie d'acétate-malonate :

Ce mode de formation le plus secondaire est lié au métabolisme d'acides gras. La formation des noyaux aromatiques dépend de trois unités acétate ou malonate activé par le coenzyme A qui vont se condenser après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl-CoA et donner des chaînes polycétonique cycliques (BRZOZOWSKA et HANOWER, 1976).



**Figure 18 :** Schéma récapitulatif de la synthèse des polyphénols par les deux principales voies : shikimate et acétate (CHAOUICHE, 2014).

#### IV. Rôles et intérêt des composés phénoliques :

##### 1. Chez les humains :

Des études épidémiologiques ont montré qu'une alimentation riche en polyphénols exercent plusieurs activités biologiques telles que l'activité antioxydante et antibactérienne contre les grams négatifs et les grams positifs et peuvent même être utiliser comme source d'antibiotique naturelle (ULLAH et *al.*, 2022) et protègent des pathologies diverses tout en modulant de nombreux processus, tels que le potentiel redox cellulaire, l'activité enzymatique, la prolifération cellulaire et la signalisation trans-voies de production ainsi que la prolifération de la chaîne oxydative via l'inhibition des lipides. Des études ont montré que la curcumine a des effets antidiabétiques et cardioprotecteurs car elle possède l'agrégat antiplaquettaire (LUCA et *al.*, 2019). Les acides phénoliques possèdent des composés hydrosolubles actifs contre les maladies cardiovasculaires et sont des constituants qui protègent le foie contre les dommages, l'acide caféique peut inhiber la thrombose à médiation plaquettaire (WANG et *al.*, 2019), les acides phénoliques sont très utilisés en médecine traditionnelle car ils présentent des activités antiulcéreuses, antibactérienne et antiparasitaires (KIM et *al.*, 2010), les anthocyanes sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes et protègent contre le vieillissement cutané et contre toute maladie cardiovasculaire (VANDI et *al.*, 2016).

##### 2. Chez les végétaux :

Les polyphénols jouent un rôle important dans la protection des végétaux contre les rayonnements UV par les flavonoïdes et la synthèse des phytoalexines pour se protéger contre toute attaque bactérienne par les isoflavonoïdes, les furanocoumarines, la lignine par contre intervient dans la structure des parois pour servir de barrière. Ils sont aussi responsables de la polonisation et de la coloration et la pigmentation des plantes présentant une gamme de couleurs qui varie du jaune (flavones) à l'orangé, au rouge, au vert et au bleu qui permettent d'attirer les insectes qui apportent le pollen (MACHEIX et *al.*, 2005)

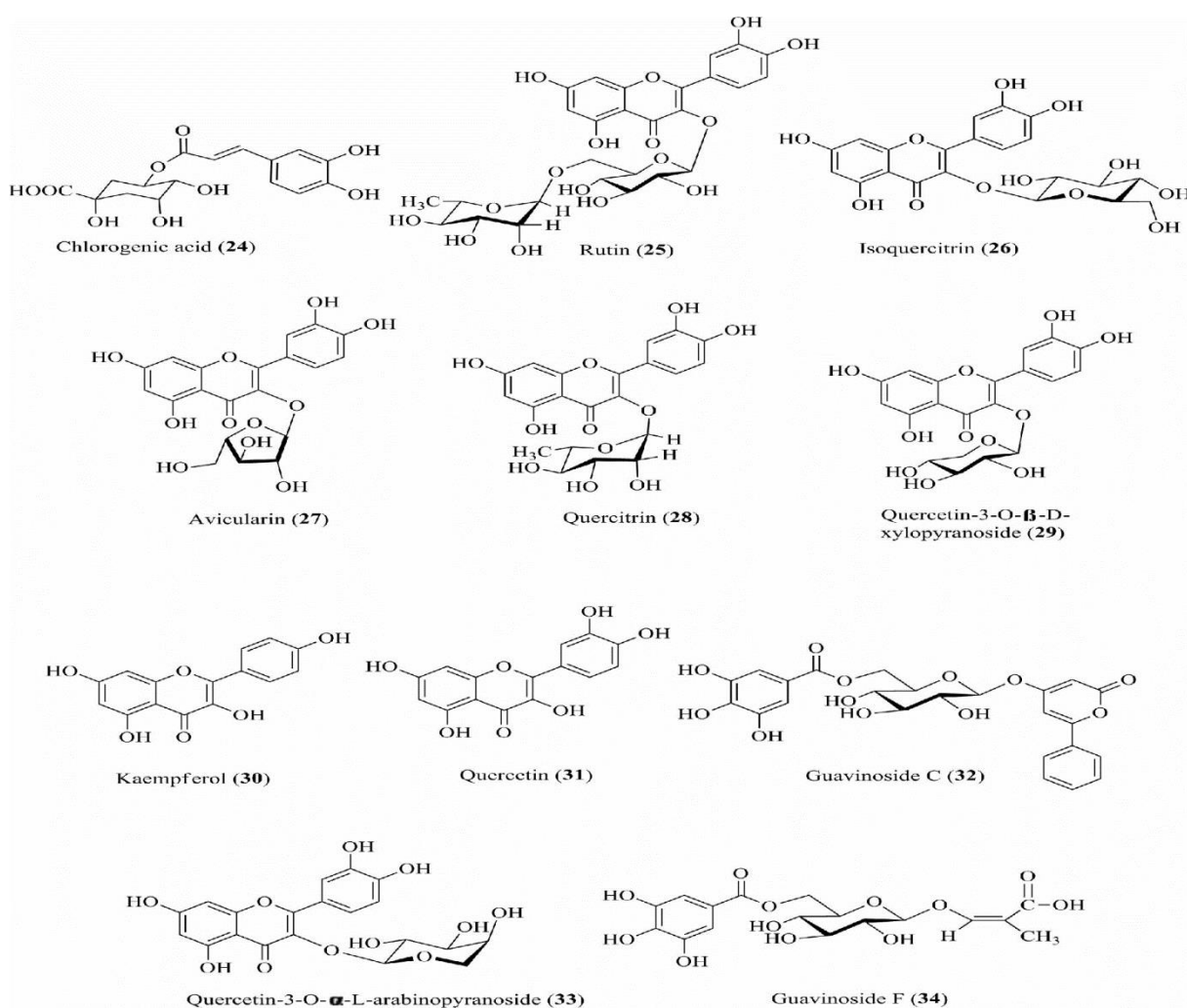
**Tableau V :** Activités biologiques des composés phénoliques (RICHARD et *al.*, 2014).

Famille	Exemple	Effets et Usages
<b>Anthocyanes</b>	Cyanidine	Attraction des animaux
<b>Flavonols</b>	Catéchine	Antimicrobien, herbicide
<b>Flavonones</b>	Naringénine	Amertume
<b>Flavones</b>	Apigénine	Protection contre les UV
<b>Isoflavones</b>	Génistéine	Propriété antimicrobienne
<b>Stilbènes</b>	Résveratrol	Phytoalexines

## V. Les polyphénols des feuilles du goyavier :

### 1. Les phénols

Certaines recherches publiées ont montré que les feuilles du goyavier sont extrêmement riches en composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, triterpénoïdes et de méroterpénoïdes. Les principaux composés phénoliques présents au niveau des extraits foliaires sont la rutine, l'acide gallique, la catéchine, l'épicatéchine, la narginine et le kaempférol, l'analyse de l'extrait a révélé la présence de composé phénoliques parmi eux on a l'acide chlorogénique (24), la rutine (25), isoquercétrine (26), avicularine (quercétine-3-O-un-L-arabinofuranoside (27), quercétine (28), quercétine-3-O-b-D-xylopyranoside (29), kaempférol (30) et la quercétine (31) (figure 19) (JAMIESON *et al.*, 2021).



**Figure 19 :** Structure chimique des constituants phénoliques majeurs ainsi que des flavonoïdes présents dans la feuille de goyave (JAMIESON *et al.*, 2021).

## 2. Les flavonoïdes :

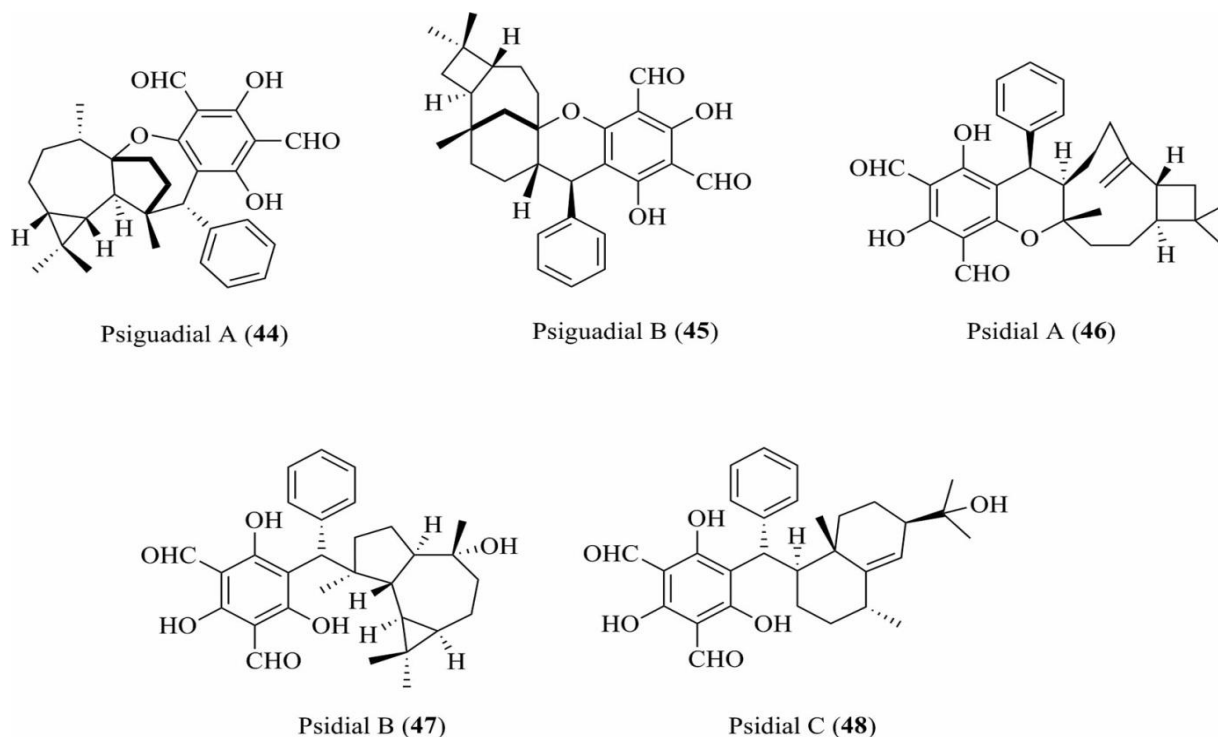
On retrouve également dans les feuilles du goyavier des flavonoïdes à activité biologique importante à savoir la quercétine et la guaijaverine, glycoside de flavonols (quercétine-3-O-un-L-arabinopyranoside). De plus nous retrouvons l'hyperoside, le peltatoside et l'isoquercitrine. Pour ce qui est des Flavonones et les flavan-3-ols, fraction importante des flavonoïdes dérivés des acides gallique et ellagique, le goyavier présente des taux relativement importants (JAMIESON *et al.*, 2021).

## 3. Les triterpénoïdes :

Sont des produits naturels formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unité isopréniques. Les triterpénoïdes sont des métabolites secondaires important qu'on retrouve au niveau des feuilles du psidium guajava. L de type lanosténe. Le développement de la technologie a permis l'identification d'un nouveau triterpénoïde 6b, 20b-l'acide dihydroxy-12-ursen-28-oïque (JAMIESON *et al.*, 2021).

## 4. Les méroterpénoïdes :

En plus des terpènes on retrouve également des méroterpénoïdes bioactifs. D'après les nouvelles recherches, cinq nouveaux méroterpénoïdes ont été isolé tels que psiguadial A et B ainsi que trois psidien A, B et C (JAMIESON *et al.*, 2021).



**Figure 20 :** Structures chimiques de divers nouveaux squelettes de méroterpénoïdes bioactifs inhabituels à base de sesquiterpénoïdes présents dans les feuilles de goyave (JAMIESON *et al.*, 2021)

## **CHAPITRE III : Activités biologiques**

## I. Activité anti inflammatoire

### 1. L'inflammation

L'inflammation est un processus universel ubiquitaire et stéréotypé du système immunitaire qui permet la défense de l'organisme vis-à-vis des agressions pouvant être d'ordre physique , ou chimique d'origine exogène (brulures, infections, allergies, traumatismes) ou endogène (cellule cancéreuse ou pathologie auto-immune) (BARTON ,2008).

Ce mécanisme est assuré par des cellules dites inflammatoires tels que les macrophages et les neutrophiles, mais aussi par des cellules stromales et endothéliales. Ces dernières vont agir en coordination pour former un réseau complexe de cytokines/ chimiokines qui conduira à l'élimination des pathogènes, la réparation des tissus lésés et favorisera ainsi le retour à l'état homéostatique via un processus immunitaire pouvant être inné (phagocytose) ou adaptatif( cellulaire ou humoral) ( BARTON, 2008 ; DESMIER,2016).

L'inflammation est suivie de signes cliniques qui sont : chaleur, rougeur, gonflement et douleur (Figure 21). A l'échelle cellulaire l'inflammation est synonyme d'augmentation de la perméabilité vasculaire, augmentation de la dénaturation des protéines ainsi que l'altération des membranes cellulaires(STANKOV,2012).

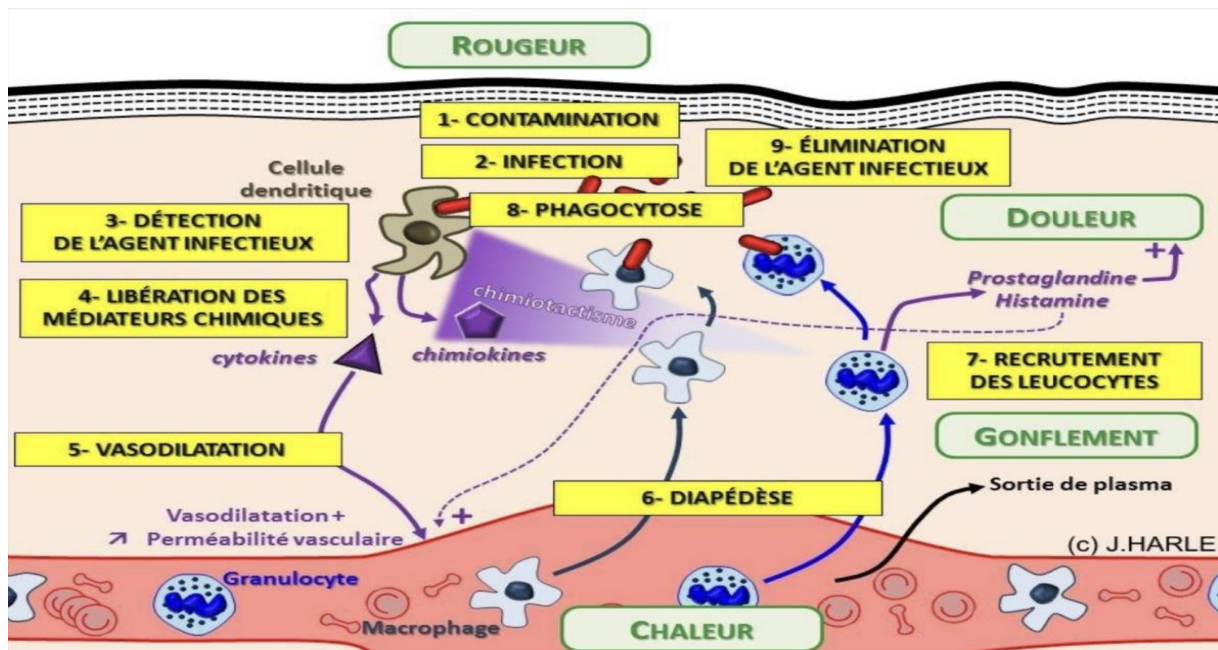
Cette réponse est essentielle pour l'organisme et donc bénéfique. Toutefois, si celle-ci est persistante, elle devient alors nocive et peut présenter un facteur étiologique de diverses maladies chroniques comme l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, le cancer et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (SERHAN *et al.*, 2010).

#### 1.1 L'inflammation aigue

C'est une réponse instantanée de l'organisme à un agent agresseur. Elle est de courte durée avec une variation de quelques jours à quelques semaines et vise à éliminer l'agent causal des dommages et la réparation tissulaire (SERHAN *et al.*, 2010).Généralement, les inflammations aigues guérissent spontanément ou par le biais d'un traitement, mais peuvent engendrer des séquelles si toutefois la destruction tissulaire est importante (SERHAN *et al.*, 2010). Ce processus faisant intervenir les deux branches du système immunitaire (inné et adaptatif) peut être divisé en 3 phases successives :

- **Phase vasculaire immédiate** : Elle vise l'activation des cellules endothéliales et l'expression des molécules d'adhésion ainsi que l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire permettant la migration des leucocytes vers le site lésionnel (STEVENS ,2010).

- **Phase cellulaire :** Consécutives caractérisées par un flux de polynucléaires et macrophages guidés par un gradient de chimiokines (chimiotactisme) vers le site enflammé, la libération d'enzymes, de phagocytose et production de lymphokines (STEVENS, 2010).
- **Phase de résolution :** Elle correspond à la régénération et la cicatrisation de l'endothélium par les cellules endothéliales grâce à divers molécules synthétisées par les macrophages et les fibroblastes : collagène, fibronectine, et laminine (WEILL et BATTEUX, 2003).



**Figure 21 :** étapes du déroulement de l'inflammation aiguë (FUNARO et *al.*, 2009).

## 1.2. L'inflammation chronique

D'un point de vue morphologique, l'infiltration excessive de lymphocytes macrophages et plasmocytes dans le tissu caractérisent l'inflammation dite chronique. Celle-ci est prolongée dans le temps, et peut aller jusqu'à plusieurs mois voire plusieurs années (DORWARD et *al.*, 2012; WEILL et BATTEUX, 2003). Cette chronicité de la réponse inflammatoire génère un phénomène de destruction tissulaire et de réparation coexistant tout au long de l'évolution de l'inflammation ce qui se traduit par une mauvaise régénération des tissus et une cicatrisation pathologique. L'inflammation chronique est à l'origine de nombreuses pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, l'emphysème pulmonaire ou encore la goutte (WINYARD et *al.*, 2013 ; ANZAI et *al.*, 2004).

## 2. Les médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire est engendrée et contrôlée par un panel de médiateurs chimiques pro ou anti-inflammatoires qui sont généralement des molécules protéiques présentes dans la circulation sanguine ou provenant des cellules immunitaires tels que les thrombocytes, les neutrophiles les mastocytes et les macrophages (SERHAN *et al.*, 2010) la mobilisation de ces « soldats » ne se fait pas aléatoirement mais sous l'action de substances appelée « médiateurs de l'inflammation » ils sont produits par des cellules stressées ou agressées et par les globules blancs impliqués dans la défense au fur et à mesure que la réaction inflammatoire évolue (BUCKLEY *et al.*, 2014) . Leurs rôles sont énumérés sur le tableau ci-dessous :

**Tableau VI** : Médiateurs de l'inflammation (BUCKLEY *et al.*, 2014).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes	Dilatation des capillaires Augmentation de la perméabilité vasculaire
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Induction de la vasodilatation Augmentation de la perméabilité vasculaire Expression de molécules d'adhésion
Leucotriènes LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	Leucocytes	Augmentation de la perméabilité des micro-vaisseaux
LTB <sub>4</sub>	Leucocytes	Augmentation du flux sanguin Activation et recrutement des cellules inflammatoires
Prostaglandines	Leucocytes	Induction de la vasodilatation Renforcement de l'action de l'histamine Augmentation de la sensibilité des neurones (induction de la douleur)
IL2	Lymphocytes Th1	Prolifération des lymphocytes T Libération de TNF- $\alpha$ et IFN $\gamma$ par les leucocytes
IL4	Lymphocytes Th2	Inhibition de la libération de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages Stimulation de la prolifération des lymphocytes T
IL10	Lymphocytes Th2, monocytes, macrophages	Inhibition de la libération de cytokines pro-inflammatoires par les lymphocytes Th1 Activité anti-inflammatoire

### 3. Les pathologies inflammatoires

Il existe diverses maladies inflammatoires résultant des aberrations du système immunitaire à savoir les maladies auto-immunes, systémiques et modalisées , les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé , les maladies auto-inflammatoires ...etc (SERHAN et *al.*, 2010).

Le tableau ci-dessous présente quelques exemples de ces maladies :

**Tableau VII : Maladies inflammatoires (NATHAN, 2002).**

<b>Désordre à effet pathogénique inflammatoire</b>	
<b>Asthme polyarthrite Goutte</b> <b>Eczéma</b> <b>Maladie d'Alzheimer</b> <b>Artériosclérose</b>	<b>Arthrose rhumatoïde</b> <b>maladie de Crohn</b> <b>Lupus érythémateux disséminé</b> <b>Thyroïdite</b>
<b>Maladie d'origine infectieuse</b>	
<b>Hépatite c</b> <b>Tuberculose</b> <b>Dysenterie bactérienne</b>	
<b>Maladies induites par la fibrose post inflammatoire</b>	
<b>Fibrose pulmonaire idiopathique</b> <b>Cirrhose hépatique post virale</b>	

### 4. Les anti-inflammatoires

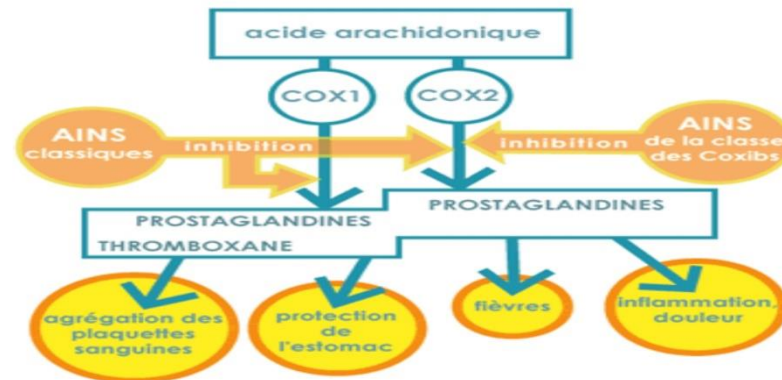
Qu'importe la cause, un processus inflammatoire qui se prolonge trop longtemps et qui se déroule trop intensément devient nocif pour le corps et entraîne des complications. Il doit impérativement être freiné afin de protéger et de soulager ce dernier. Les anti-inflammatoires sont utilisés dans ce but.

#### 4.1. Anti-inflammatoires synthétiques

##### a. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les AINS sont une classe thérapeutique de médicaments dépourvus de noyau stéroïdien , ils représentent la classe thérapeutique la plus répondeuse et utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires , antalgiques et antipyrétiques (CHIOLERO et *al.*,2000).

Ils agissent par inhibition compétitive et sélective ( pour la classe des coxibs )( figure 21 ) des deux isoformes de la cyclo-oxygénase ( cox1, cox2 ) une enzyme responsables de la synthèse des prostaglandines (PGE2 – PGE1) qui sont d’importants médiateurs de l’inflammation dont le mécanisme est l’induction des symptômes inflammatoires ( rougeur , douleur...etc) l’agrégation plaquettaire et la protection de l’estomac (BIDAUT-RUSSEL et *al.*, 2001).



**Figure 22 :** Action des anti-inflammatoires non stéroïdiens ( BRANDSTATTER et *al.*, 2010).

### b. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Ils constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, un principal glucocorticoïde surrénalien issu du cholestérol (BLAIN et *al.*, 2000). Ces composés traversent la membrane cellulaire pour aller se fixer sur des récepteurs nucléaires spécifiques aux corticoïdes. Ils ont une action directe sur l'ADN et interviennent dans la régulation de la transcription des gènes anti-inflammatoires ainsi que dans l'inhibition de l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (IL-1 IL-6 IL-2 TNF-a) (RHEN et CIDLOWSKI,2005).

### 4.2. Les anti-inflammatoires naturels

Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis toujours pour traiter l'inflammation sans même connaître leurs mode d'action au niveau biochimie ; une propriété qui aujourd'hui est expliqué par la présence de métabolites capables de moduler le système immunitaire à travers de nombreux mécanismes ; ces métabolites sont les poly phénols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides(WINYARD et *al.*, 2013). Parmi leurs modes d'action se trouve l'inhibition de la production d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et d'enzymes pro-oxydantes comme les oxydes nitriques synthases(NOS) qui induisent

l'élimination du radical responsable des dommages causés au tissu et de l'inflammation (SONAR et PUROHIT,2016).

## II. L'activité antioxydante

Le métabolisme humain, la pollution, les rayonnements, induisent la formation aléatoire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de radicaux libres ( $O_2^-$  ;  $H_2O_2$  ;  $OH^\cdot$ ) impliqués dans la pathogenèse de certaines maladies comme le cancer, le diabète, le vieillissement ...etc. Cette action est contrebalancée par un système de défense composé d'antioxydants et d'enzymes. La perturbation de cet équilibre entraîne un stress oxydatif pouvant provoquer de nombreuses lésions (DESMIER, 2016).

Des recherches ont confirmé que les aliments riches en antioxydants contribuent à la prévention de maladies neurodégénératives et à la protection contre les dommages causés par les radicaux libres (VYAS *et al.*, 2010).

### 1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est provoqué par un état de déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur neutralisation, qui induit l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène(ROS) au niveau des tissus et des organes (HALENG *et al.*, 2007). Il se produit lorsque la concentration d'espèces réactives augmente sans être prise en charge par les mécanismes de défense antioxydants tels que les tocophérols, acides ascorbiques, glutathion), les enzymes (catalase, superoxyde dismutase SOD, glutathion peroxydase) (FAVIER, 2003).

#### 1.1 Conséquences moléculaires et pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydatif provoque des dommages internes au niveau des protéines, de l'ADN et des lipides entraînant leur oxydation mais aussi des lésions secondaires dues aux effets cytotoxiques et mutagène des métabolites libérés (vieillesse accélérée, cancer, diabète, rhumatismes, maladies cardiovasculaire) (figure 23 ) ( FAVIER, 2006).

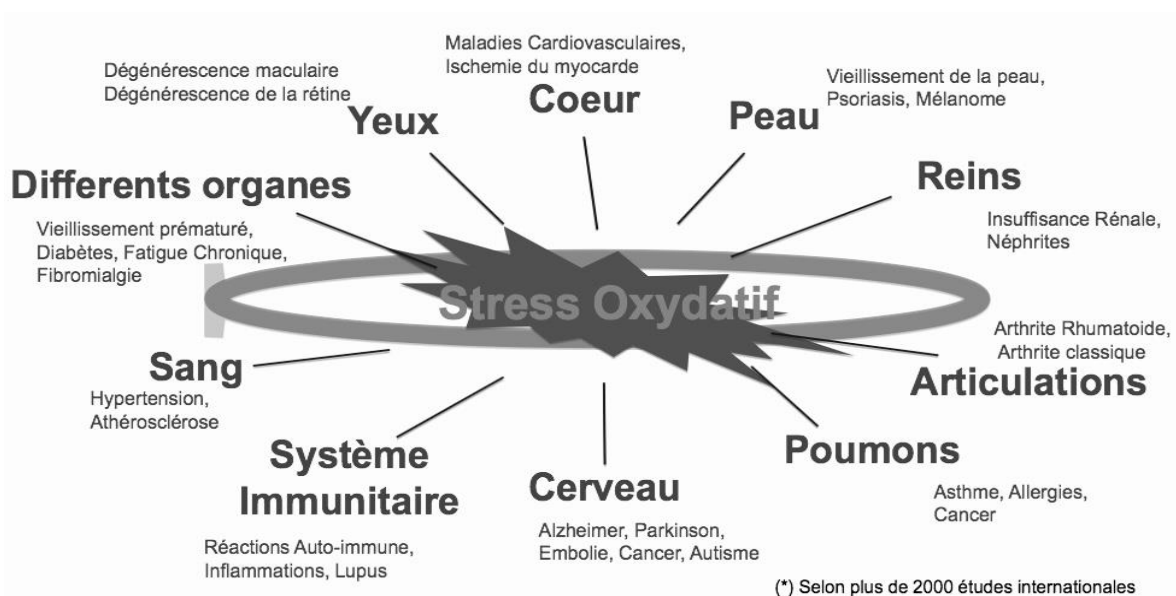


Figure 23 : Maladies liées au stress oxydatif (LEVERVE, 2009).

**2. Les radicaux libres**

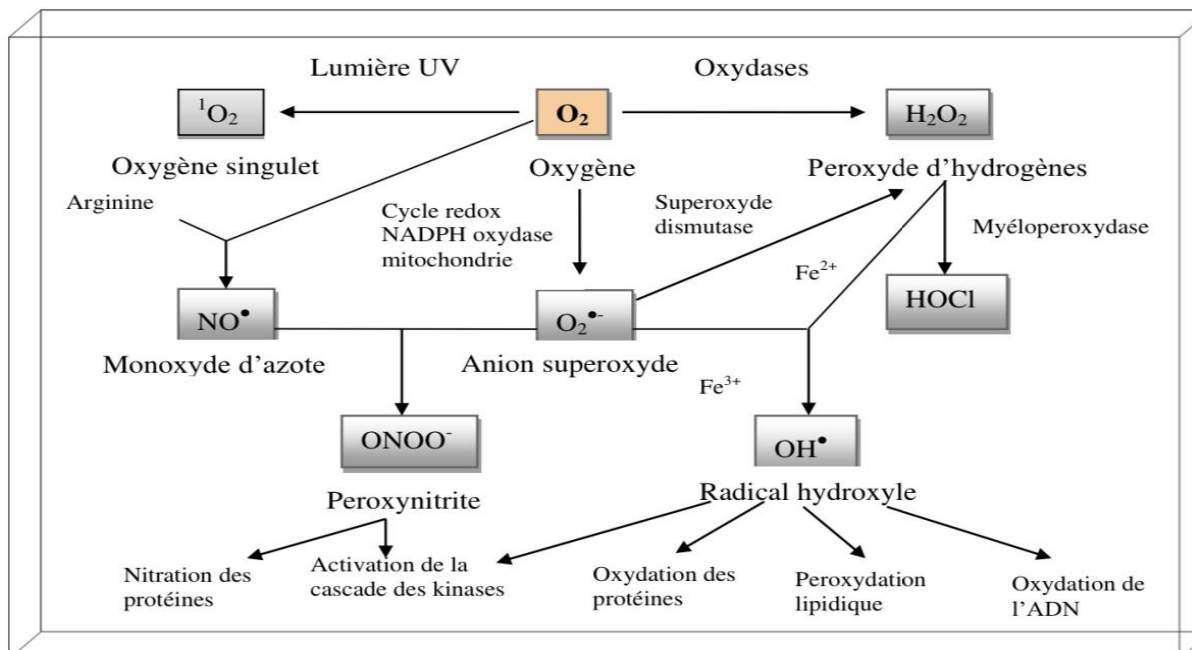
Les radicaux libres sont des composés instables caractérisés par un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche périphériques susceptibles de réagir avec d'autres molécules pour reconstituer leur électron manquant et acquérir la stabilité, engendrant ainsi d'autres radicaux instables par une réaction en chaîne.

Ils peuvent provenir soit d'une source endogène ( réticulum endoplasmique, mitochondrie, cellule phagocytaire, déficit immunitaire, stress) ou exogène( alcool , pollution, fumée de tabac, solvants industriels, pesticides et rayonnements ) (PHANIENDRA et al., 2015).

Leur production rapide et excessive empêche leur neutralisation par le système de défense anti oxydant et favorise par conséquent l'apparition d'un stress oxydatif (HALLIWELL, 1991).

**3. Les espèces réactives d'oxygène ERO**

L'oxygène est la source de vie indispensable à tout organisme vivant aérobie permettant de produire de l'énergie par oxydation de la matière organique ; cependant cet élément peut se transformer en des formes hautement réactives et constituer une source d'agression pour ces organismes. ; et ce via un processus de réaction d'oxydation très rapide qui se propage en cascades (figure 24) (WEIDINGER et KOZLOV, 2015).



**Figure 24** : Processus de formation des ERO (Alain Favier 2003).

Ces formes réactives représentent des radicaux libres dérivés de la molécule d'oxygène avec addition d'un électron ; on distingue les dérivés radicalaires tels que le radical superoxyde ( $O_2^-$ ) ; et aussi certains dérivés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (BORG et REEBER, 2008).

Le tableau ci-dessous illustre quelques dérivés radicalaires et non radicalaires avec leurs réactivités respectives

**Tableau VIII :** espèces dérivées de l'oxygène moléculaire (WEIDINGER et KOZLOV, 2015).

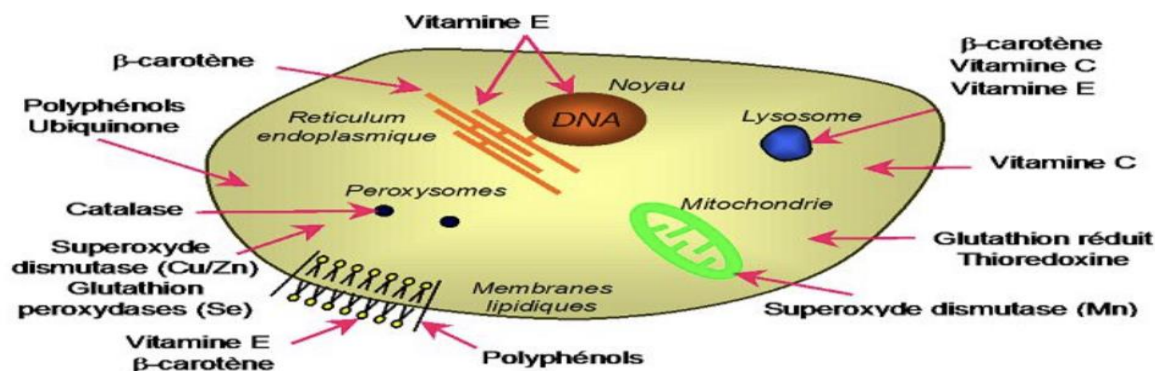
Espèces réactives	Réactivité
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$ : radical peu réactif a toxicité modérée, oxyde les catécholamines
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$ : très réactif généré lors d'une surcharge de fer. Peu diffusible, initiateur principal de la lipoperoxydation, altère les protéines et l'ADN
Oxygène singulet	$^1O_2$ : non radical, extrêmement réactif, peut initier la peroxydation
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$ : stable non radical, faiblement toxique, antiseptique et diffusible
Monoxyde d'azote	$NO^{\bullet}$ : médiateur cellulaire de vasodilatation
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet}$ : radical très réactif, né de la réaction entre l'anion superoxyde et le monoxyde d'azote
Radical peroxy	$ROO^{\bullet}$ : radical réactif formé à partir des lipides, protéines, ADN, lors des dommages oxydatifs

#### 4. Les antioxydants

L'organisme a lui seul, dans une certaine mesure la capacité de limiter les dommages dus aux radicaux libres via des molécules dotées d'un pouvoir d'interférence avec les radicaux libres ; ce sont les antioxydants (BAROUKI, 2006).

Les antioxydants englobent toute substance ayant la capacité de protéger les systèmes biologiques de réduire ou d'inhiber le phénomène d'oxydation naturelle ou induite (LEVERVE, 2009).

Ils représentent un groupe hétérogène (figure 24) composé de systèmes antioxydants endogènes (enzymatiques) ou exogènes (vitamines, oligoéléments, poly phénols).



**Figure 25 :** Représentation schématique des molécules intervenant dans les protections cellulaires (REZAIRE ,2012).

#### 4.1. Les antioxydants enzymatiques d'origine endogène

Le système enzymatique endogène représente une ligne de défense constituée principalement de trois enzymes dotées d'une capacité d'éradication de radicaux libres quand les conditions sont favorables : la superoxyde dismutase (SOD) la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) elles conduisent à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (HALLIWELL, 1991).

##### a. La superoxyde dismutase

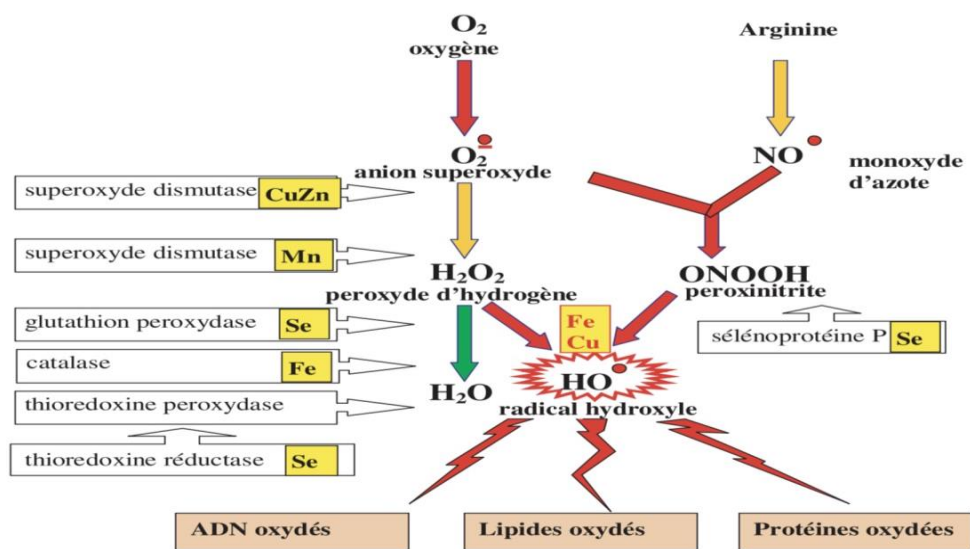
C'est une protéine métallique possédant une activité enzymatique qui lui permet de catalyser l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dismutation en produisant de l'oxygène et de l'hydrogène (MCCORD et FRIDOVICH, 1988).

##### b. La catalase

C'est une enzyme localisée au sein du peroxysome, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (HALENG et *al.*, 2007).

##### c. Le glutathion peroxydase

C'est une enzyme que l'on retrouve dans les liquides extracellulaires et au sein du cytosol et des mitochondries, sa particularité vient de son pouvoir catalyseur de la réduction des hydroxyperoxydes issus de l'oxydation du cholestérol et des acides gras (HALENG et *al.* 2007). Elle est fonctionnelle en présence de ses deux facteurs, le glutathion réduit et le sélénium et catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau.



**Figure 26 :** Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs facteurs métalliques (FAVIER, 2003).

#### 4.2. Les antioxydants non enzymatiques d'origine exogène

L'organisme comme Les végétaux, ont la particularité de produire des substances biologiquement actives très variées, capables de neutraliser ou réduire les altérations engendrées par les radicaux libres dans l'organisme, tout en maintenant 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).

#### A. Les vitamines

- **Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)**

La vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol est un antioxydant liposoluble qu'on retrouve dans la bicouche de la membrane cellulaire et qui a pour rôle le captage des radicaux peroxydes lipidiques. Elle est considérée comme l'antioxydant lipophile naturel le plus puissant constituant la première ligne de défense contre les anomalies physiologiques (AL-SOWAYAN 2020).

- **Vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble non synthétisée par l'organisme que l'on retrouve dans de nombreux fruits, en l'occurrence la goyave. Elle prévient l'oxydation des LDL issus des systèmes générateurs d'espèces réactives d'oxygène en vue de sa capacité à piéger les radicaux libres, cependant son pouvoir

antioxydant majeur réside en sa capacité à régénérer la vitamine E au niveau de la membrane (FABRE et *al.* 2015). L'acide ascorbique possède une activité antioxydante à des concentrations supérieures à 0.5% alors qu'à des concentrations faibles de l'ordre de 0.02-0.03% il est plutôt pro-oxydant (DECKER et XU, 1998).

## B. Les Caroténoïdes et polyphénols

Les caroténoïdes et polyphénols représentent une vaste famille de composés divers parmi lesquels on retrouve le  $\beta$ -carotène, L'acide caféique et la quercétine

Les caroténoïdes sont des pigments naturels synthétisés par les plantes, ils sont responsables des divers couleurs caractéristiques des fruits et légumes. On les retrouve au sein des organismes photosynthétiques ou ils occasionnent un effet photo protecteur et antioxydant reconnu (SAN et YILDIRIM, 2010).

Les caroténoïdes et polyphénols constituent de bon capteurs de radicaux, ils préviennent les dommages génétiques en oxydants par inhibition des chaînes de peroxydation lipidique (DE BEER et *al.* 2002). Grâce aux liaisons doubles conjuguées de leur chaînes latérales, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteurs d'oxygène singulet, ce qui leur confère un pouvoir protecteur vis-à-vis des dommages occasionnés par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (GARDES-ALBERT et *al.*, 2003).

### 4.2.1. Les antioxydants de *Psidium guajava*

Des analyses photochimiques et histochimiques ont démontré la richesse des feuilles du goyavier en plusieurs composés bioactifs qui leur valent leur propriété antioxydante. Parmi eux nous retrouvons les flavonoïdes, les tanins, phénols, triyerpènes, saponines, caroténoïdes, lécithines, vitamines, fibres, acides gras, résines... etc (JOSEPH et PRIYA, 2011).

Certains composés sont représentés sur le tableau ci-dessous :

**Tableau IX** : antioxydants du goyavier (NWOZO et *al.*, 2014 ; SHABBIR et *al.*, 2020).

Antioxydants	Teneur
Vitamine C (mg/100gMS)	103
Tannins en (mg/gMS)	3.81
Flavonoïdes (mg/gMS)	5.03
Caroténoïdes (mg/gMS)	8
CPT (mg EAG/ MS)	575.3

Les antioxydants les plus abondants sont les flavonoïdes ( morin-3-O-lyxoside, morin-3-O-arabinoside, quercétine et quercetin-3-O-arabinoside (CAMARENA-TELLO et *al.*, 2018).

### 5. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent agir de différentes manières et ont divers modes d'action qui incluent la complexation des ions et des métaux de transition, la réduction de radicaux et leur transformation en composés plus stables par blocage de la phase de propagation.

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action en plusieurs types :

- **Antioxydants de type I :** Leur mode d'action consiste en l'inactivation des radicaux libres et l'inhibition de la propagation des réactions radicalaires et ce en procurant des hydrogènes aux radicaux libres pour assurer leur stabilité (EYMARD, 2003). Ils regroupent les composés phénoliques naturels (tocophérols), et synthétiques (hydroxyanisole butylé BHA) (KORTENSKA et *al.*, 2002).
- **Antioxydants de type II :** Ces types vont contrecarrer la production de radicaux libres via différents mécanismes comme la chélation des ions métalliques, la réduction de l'effet pro-oxydant des ions. Ce mécanisme est assuré par les acides phosphoriques, lécithines ou encore les acides citriques. Les flavonoïdes en ce qui les concerne agissent par piégeage des radicaux libres et complexation des métaux pro-oxydants (EYMARD, 2003).
- **Antioxydants de type III :** C'est les antioxydants environnementaux qui constituent des facteurs agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, l'oxygène, la lumière et la pression à savoir l'emballage à atmosphère modifiée des produits de conservation et la mise sous vide qui permettent une meilleure durée de vie des produits (KORTENSKA et *al.*, 2002).
- **Antioxydants enzymatiques :** Les enzymes ont trois modes d'action : l'élimination de l'oxygène, l'élimination des espèces réactives d'oxygène (ERO) et la réduction des hydroxyperoxydes lipidiques (HALLIWELL, 1991).

## III. Activité antibactérienne

### 1. Les infections microbiennes

Les micro-organismes pathogènes tels que les bactéries les virus, les parasites ou encore les champignons 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 ou autres agents qui ont la capacité d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries sans toucher aux autres organismes supérieurs.

### 2. Les Antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel aux antibiotiques qui sont des composés chimiques synthétisés 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. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques comparés aux antiseptiques et désinfectant, ont le loisir d'agir de manière très spécifique sur les structures de la cellule bactérienne ; une spécificité d'action qui les rend particulièrement actifs et efficaces a de très faibles concentrations (ASSELINEAU et *al.*, 1973).

L'action antibactérienne se fait via divers mécanismes dont certains impliquent l'inhibition respectivement de la régulation des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi bactérienne, la synthèse des protéines et des acides nucléiques (ADN et ARN), ou encore la perturbation de la structure membranaire bactérienne (SANCHEZ et DEMAIN, 2015).

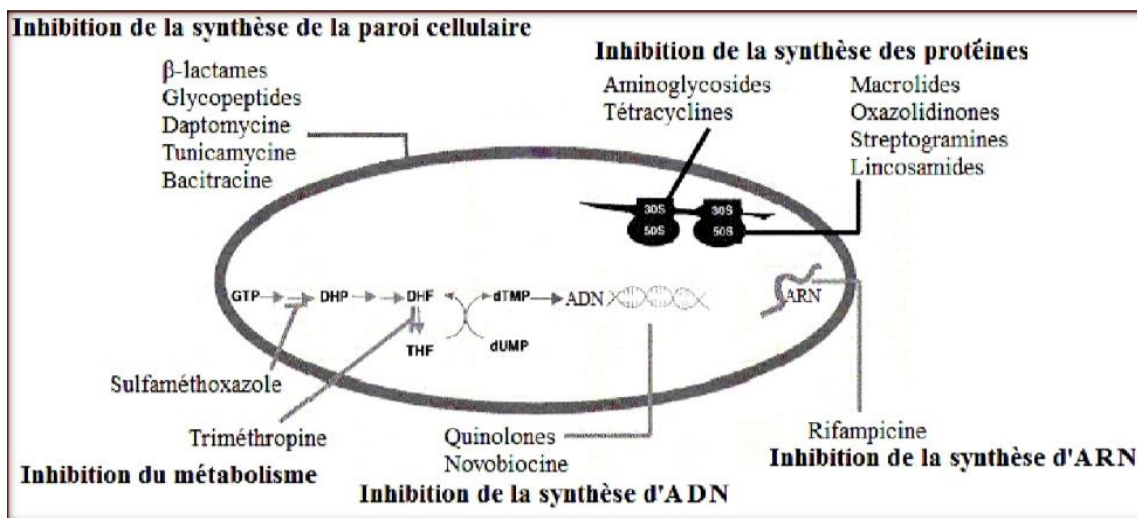
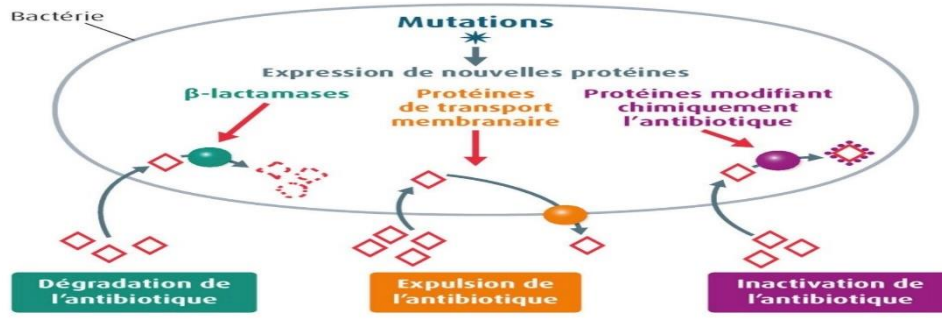


Figure 27 : mode d'action des agents antimicrobiens (BBOSA et *al.*, 2014).

### 4. Résistance antibactérienne

La résistance aux antibiotiques est un phénomène acquis que les microorganismes développent contre des médicaments antimicrobiens auxquels ils étaient sensibles auparavant (ALWASH et *al.*, 2013). C'est l'utilisation fréquente et excessive des antibiotiques conduit généralement à l'apparition de populations microbiennes multi-résistantes. Cette résistance est occasionnée par des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par les plasmides, phages, transposons et intégrons (KEMPF et ZEITOUNI, 2012). On distingue deux types de résistance :

- **La résistance naturelle** : concerne toutes les souches d'une espèce microbienne, elle est stable, chromosomique, et transmissible à la descendance lors de la réplication bactérienne (SINGH et *al.*, 2014).
- **La résistance acquise** : elle concerne une catégorie d'une espèce bactérienne et apparaît suite à l'utilisation fréquente d'antibiotiques. Elle est occasionnée par l'acquisition d'une information génétique transmise par une bactérie déjà résistante, ou par une mutation survenue sur un chromosome bactérien (SINGH et *al.*, 2014).



**Figure28** : Représentation schématique de la résistance antibactérienne (SINGH et *al.*, 2014).

### 5. Activité antibactérienne des plantes

L'utilisation fréquente et excessive des antibiotiques conduit généralement à l'apparition de population microbienne multi-résistantes, cette résistance est occasionnée par des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par les plasmides, phages, transposons et intégrons. Il arrive même qu'un antibiotique présente un effet favorable à l'activité antimicrobienne, dans ce cas, son impact sur la flore bactérienne va favoriser la prolifération de certaines espèces à l'origine d'infections secondaires (ALDEYAB et *al.*, 2009).

Ce phénomène a conduit les chercheurs vers une alternative naturelle, d'une activité comparable voir supérieure à celle des médicaments synthétiques et dépourvue d'effets secondaires délétères et agressifs sur le corps : les antimicrobiens extraits de plantes ( les polyphénols du goyavier ) (GARCIA-RUIZ et *al.*, 2008).

## **CHAPITRE IV: Matériels et méthodes**

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de la faculté des Sciences Biologique et Agronomiques de l'université Mouloud MAMMERRI de Tizi Ouzou (UMMTO), durant la période comprise entre mars et mai de l'année 2022.

L'intérêt de cette étude est de prospecter certaines activités biologiques des feuilles de goyavier. Les activités étudiées dans notre travail sont l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne vis-à-vis de souches bactériennes Gram+ : *S. aureus*, *B. cereus* et Gram- : *E. coli*, *K. pneumoniae*. La rareté de cet arbre tropical dans cette région est ce qui a motivé ce choix.

Le schéma de la figure résume les grandes étapes de cette étude :

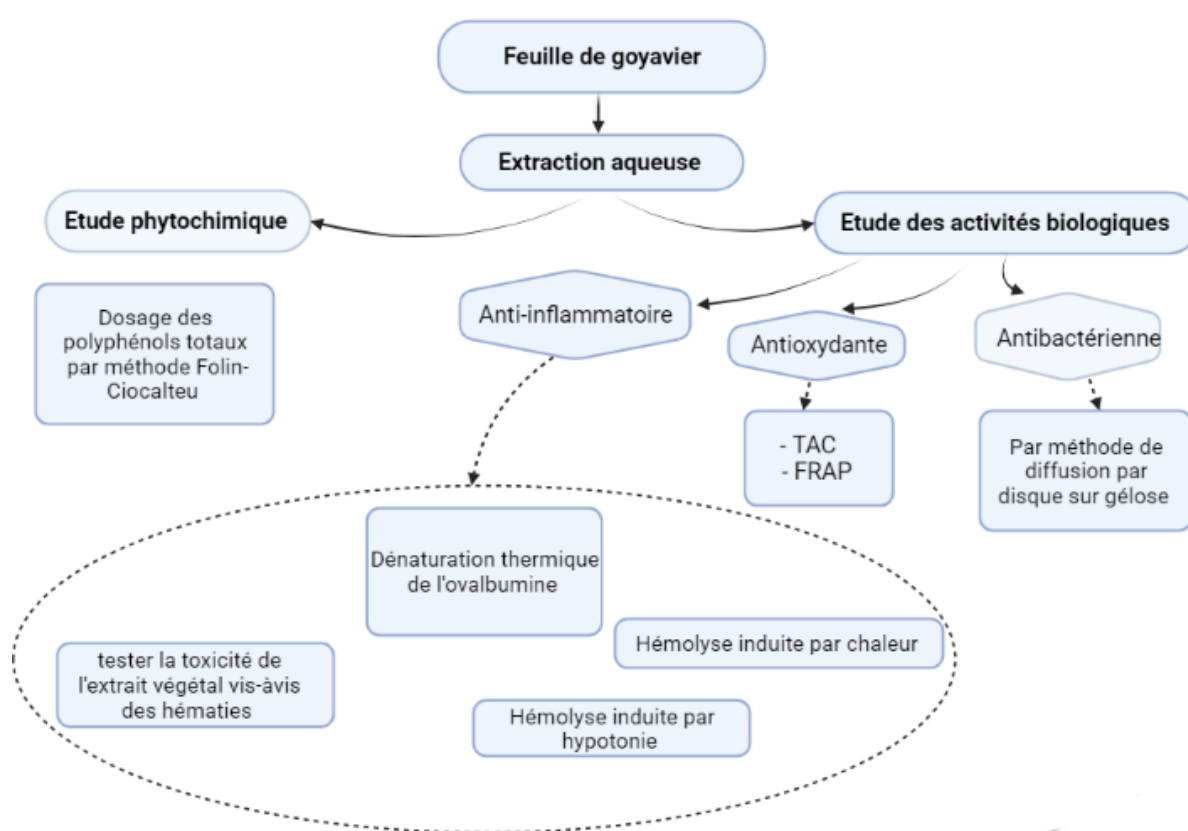


Figure 29 : Aperçu général des méthodes adoptées.

## I. Matériels

### 1. Matériels biologiques :

→ Pour le matériel végétal, les feuilles de « *Psidium guajava* » ont été cueillies dans la région de Tizi Ouzou située dans le nord algérien en mars 2022, le choix de la zone d'échantillonnage est motivé par le manque de ressource dans la région.

Ces feuilles ont été triées et lavées à l'eau distillé puis séchées à température ambiante à l'ombre durant une 10éne de jours, ensuite elles ont subi un broyage

→ Les prélèvements sanguins ont été effectués sur des volontaires sains, non-fumeurs, ne suivant aucun traitement dans des tubes héparinés au niveau de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou au fur et à mesure pour travailler sur du sang frais.

→ Les Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* sont :

**Tableau X** : Souches bactériennes utilisés

Nom	Référence	Type
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 7803	Gram-
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14975	Gram+

## II. Méthodes

### 1. Préparation de l'extrait de feuilles

Dans 200 ml d'eau distillé, 20g de poudre de feuilles ont été additionné et laissé macérer sous agitation pendant 24h à température ambiante. Ensuite le mélange est filtré à l'aide d'une passoire puis d'une laine de verre jusqu'à 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 est grattée et conservée à 4°C dans des flacons en verre teinté hermétique préalablement lavée, stérilisée et séchée.

### 2. Rendement d'extraction

Le rendement représente la masse de l'extrait déterminée après lyophilisation. Il représente le pourcentage de la poudre finale par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à extraction. Il est calculé suivant la formule ci-dessous :

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

R : rendement exprimé en %.

M : masse en gramme de l'extrait sec obtenue.

M<sub>0</sub> : masse en gramme de la poudre végétale utilisée (20g).

### 3. Dosage des polyphénols totaux

La détermination des polyphénols totaux est réalisée suivant la méthode Folin-Ciocalteu dont le principe repose sur l'oxydation de ses composants l'acide phosphomolybdique et l'acide phosphotungstique en molybdène et tungstène qui induit un virage de couleur du jaune au bleu (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006 ; DENNY *et al.*, 2013) et l'intensité de cette couleur est proportionnelle à la concentration en polyphénols qui est mesurée par spectrophotométrie à une  $\lambda=760\text{nm}$ .

Dans chaque triplicata, 200 $\mu\text{l}$  d'extrait (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) ont été rajoutés à 1 ml de Folin dilué au 10<sup>ème</sup>. Après 4min d'incubation à température ambiante, 800  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g.L<sup>-1</sup>) ont été ajoutés et le mélange a été vortexé et incubé à l'obscurité pendant 45 min, puis la mesure des DO s'est faite à 760 nm. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait végétal par de l'eau distillée.

Suivant le même protocole une gamme d'étalonnage d'acide gallique est réalisée à des concentrations allant de 10 à 100  $\mu\text{l}$ . l'acide gallique étant un polyphénol témoin, on calcule la concentration en polyphénols des extraits de feuilles de goyavier en  $\mu\text{g}$  équivalent acide gallique  $\text{ml}^{-1}$ .

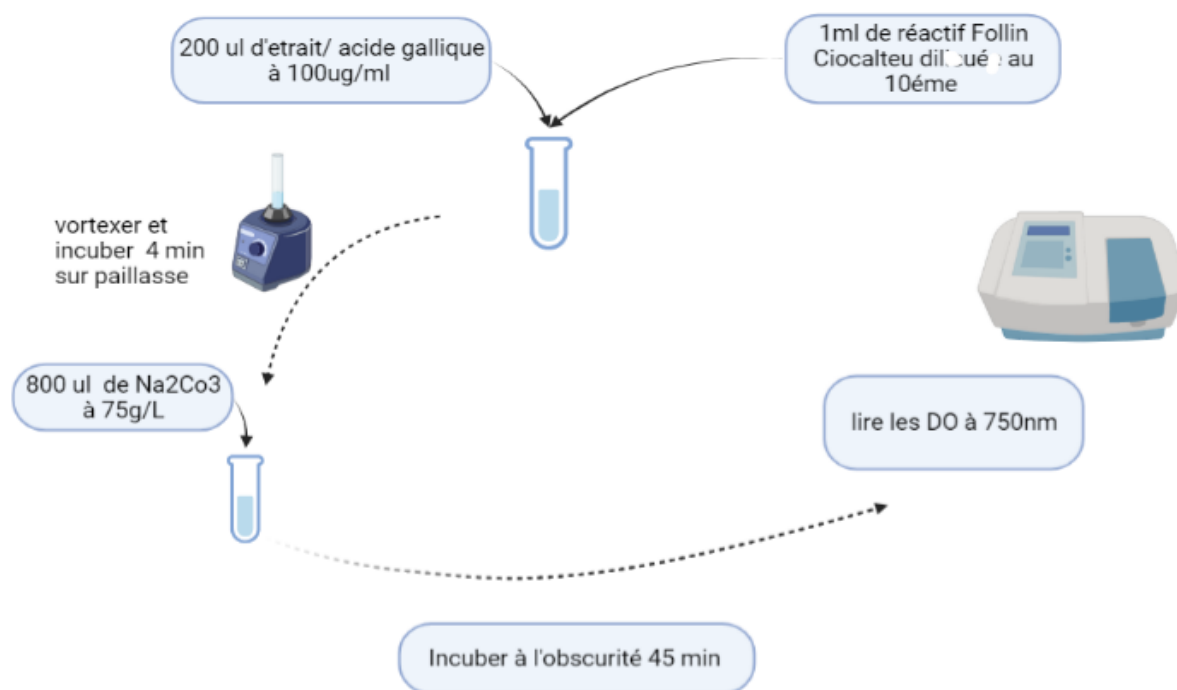


Figure 30 : Protocole de dosage des composés phénolique totaux.

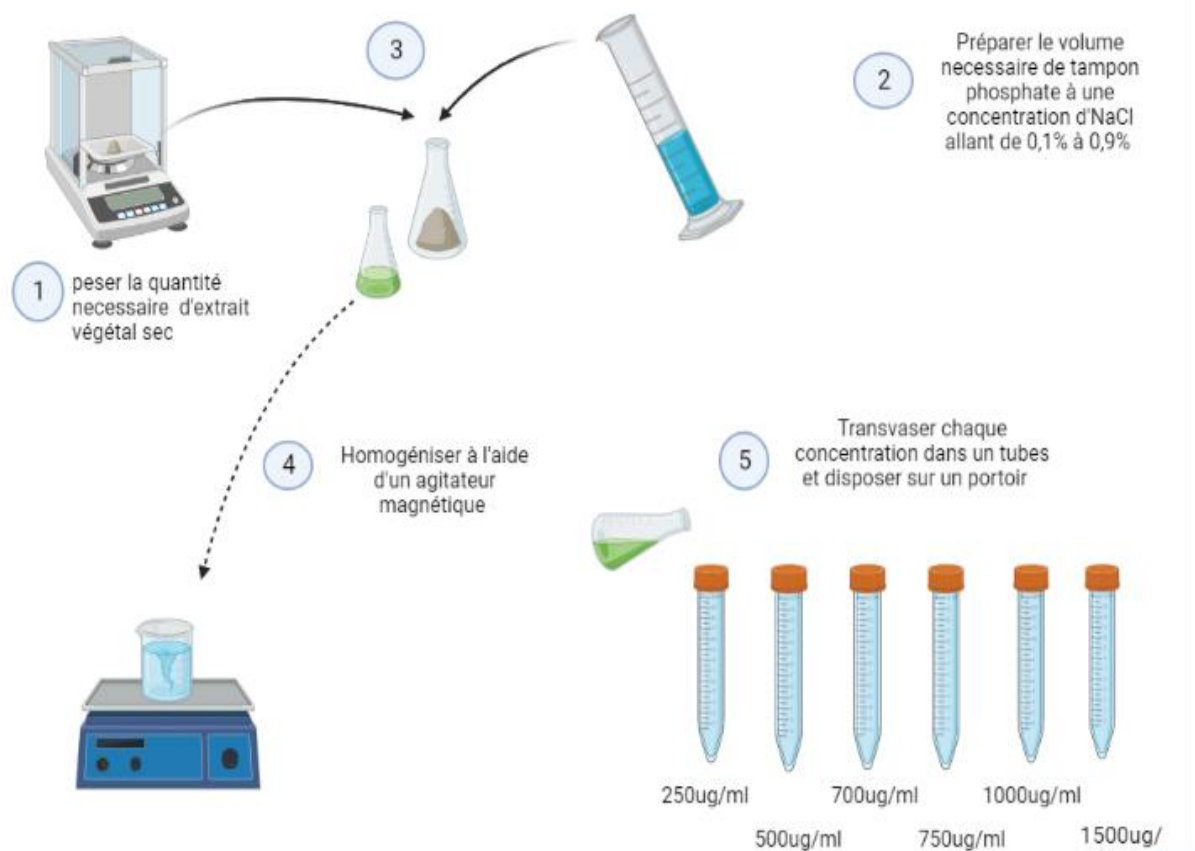
#### 4. Appréciation de l'activité anti-inflammatoire

- Préparation de la solution érythrocytaire :

Les échantillons de sang sont centrifugés à 300g pendant 10 minutes à 4 °C, le sérum obtenu est retiré et le culot de globules rouges est lavé 3 fois avec un tampon phosphate (PH= 7.4, 0,9% d'Na Cl) en prenant soins de retirer le surnageant à chaque fois comme le précise RAJESH *et al* (2019).

Pour obtenir une solution érythrocytaire de 2%, 80µl de globules rouges sont ajoutés à 2ml de tampon phosphate (PH=7,4 et 0,9% Na Cl).

- Préparation de solutions végétales : les étapes sont résumées dans le schéma suivant



**Figure 31** : Préparation de solutions végétales à différentes concentrations.

##### 4.1. Test d'innocuité de l'extrait vis-à-vis de des hématies

Ce test est essentiel afin de s'assurer que notre extrait n'est pas lui-même hémolytique, et situer approximativement l'intervalle de concentrations qui serviront à évaluer l'activité anti-hémolytique de l'extrait de feuille.

1ml de solution érythrocytaire (2%) est additionné à 1 ml d'extrait végétale de concentrations allant de 100µg/ml à 7000µg/ml préalablement préparée avec du PBS (PH=7.4 ; 0.9% Na Cl),

le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante puis centrifugé à 3000rpm/10 min/4°C . Les absorbances sont déterminées à 540 nm.

la saponine est une substance végétale qui sert de phytoprotection microbienne aux végétaux (HOSTETTMANN et MARSTON, 1995), étant un tensioactif elle interagit avec le cholestérol et provoque une hémolyse par rupture des membranes érythrocytaires selon MANAARGADOO-CATIN (2015), pour cette raison on prépare des solutions de saponine dans les mêmes conditions que l'extrait végétal pour servir de standard.

#### 4.2. Test d'hémolyse

L'objectif des tests d'hémolyse est d'évaluer l'effet protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de goyavier à travers la stabilisation de la membrane érythrocytaire, qui de par son analogie avec la membrane lysosomale nous permet de faire le lien avec l'inflammation (LAKSHMI et VADIVU, 2008). En effet les lysosomes contiennent des enzymes hydrolytiques impliquées dans la réponse inflammatoire ; les molécules qui protègent l'intégrité de ces membranes sont donc anti-inflammatoires.

##### a. Test d'hémolyse des hématies induite par hypotonie

Ce test repose sur la rupture des membranes érythrocytaire provoquée par des solutions hypotoniques de différentes concentrations et libèrent par conséquent l'hémoglobine dont l'intensité est mesurée par spectrophotométrie (RAJENDRAN et LAKSHMI, 2008).

Selon le protocole utilisé par FREITAS et *al* (2008) 80ul d'hématies sont additionnées à 2ml de solution d'extrait végétal préparée avec du PBS à concentration variante (0.9%, 0.7%, 0.5%, 0.3%, 0.1%) de NaCl. Concentrations d'extrait de 250µg/ml, 500µg/ml, 750µg/ml, 1000µg/ml, 1250µg/ml, 1500µg/ml sont préparées. Le mélange est incubé pendant 30 min à 37°C, puis centrifugé à 3000rpm/10min/4°C.

L'absorbance des surnageants est mesurée à 540nm et le pourcentage de protection contre l'hémolyse est calculé avec la formule suivante (PUNGLE et *al.*, 2018) :

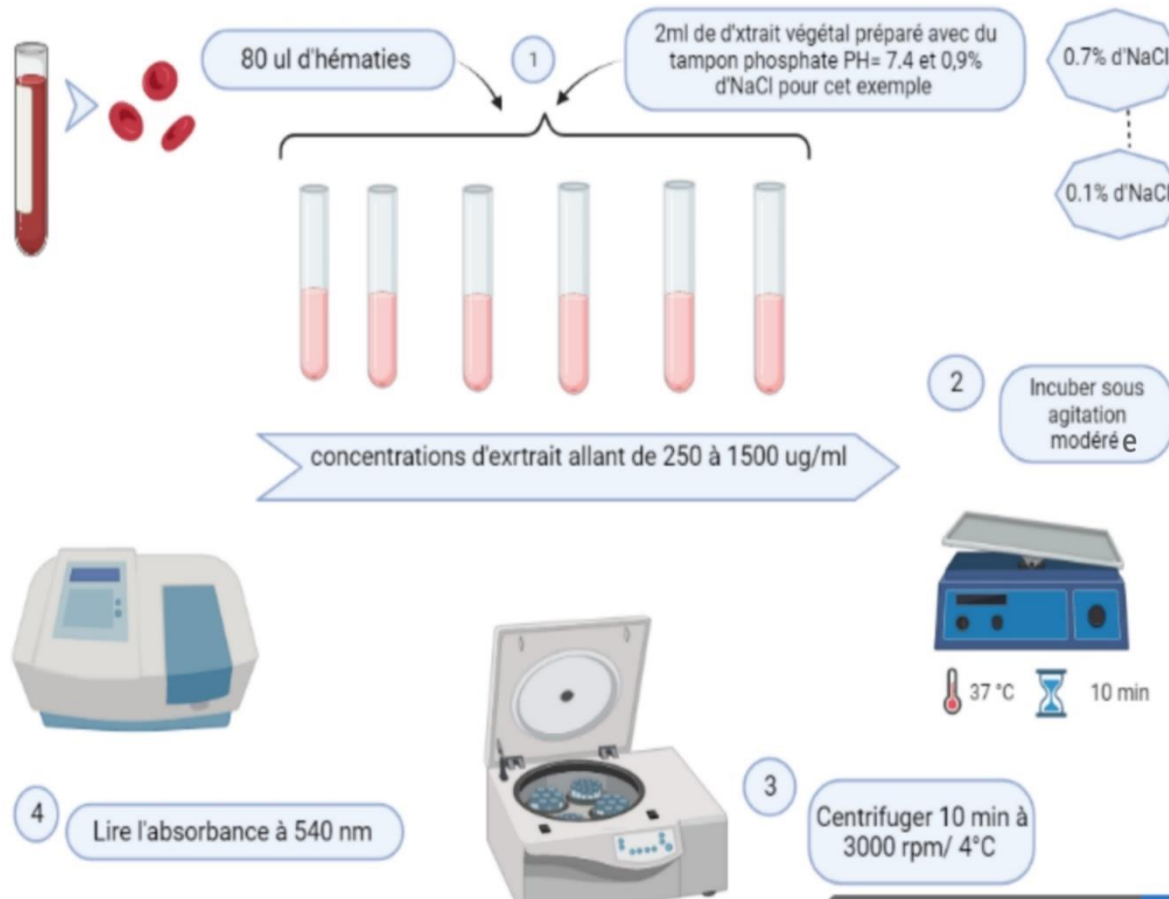
$$\text{Inhibition d'hémolyse} = (\text{DO1}-\text{DO2}/\text{DO1}) * 100$$

Sachant que :

DO1= Densité optique de la solution hypotonique de globules rouges sans la plante

DO2= Densité optique de la solution hypotonique de globules rouge avec la plante

Le schéma suivant récapitule les étapes de ce test, on prend l'exemple d'une seule concentration d'Na Cl mais le principe est le même pour toutes les autres :



**Figure 32** : Protocole récapitulatif du test d'hémolyse induite par stress osmotique

### b. Test d'hémolyse des hématies induite par la chaleur

La chaleur porte atteinte aux membranes érythrocytaires ce qui provoque l'éclatement de ces dernières s'accompagnant de la libération de l'hémoglobine. Le taux d'hémoglobine mesuré par spectrophotométrie est proportionnel au taux d'hémolyse.

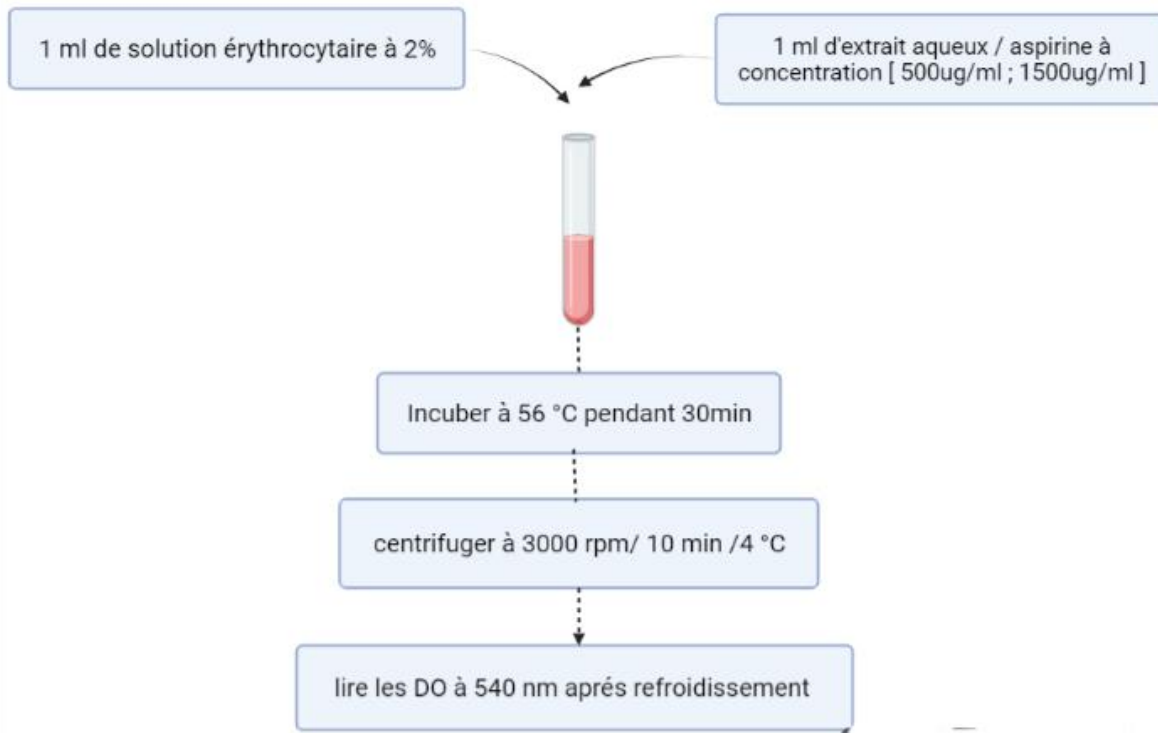
Le protocole utilisé est celui de SAKAT *et al* (2011). Le mélange réactionnel contient 1ml de solution érythrocytaire et 1ml de d'extrait végétal préparé avec du PBS (PH=7.4, 0.9% Na Cl) à des concentrations allant de 500µg/ml à 1500 µg/ml. L'ensemble est agité délicatement puis incubé dans un bain marie à 56 °C pendant 30 min. Après refroidissement les tubes sont centrifugés à 3000 rpm/10min/4 °C avant la lecture des DO à 560 nm.

Le pourcentage de protection contre l'hémolyse est calculé avec la formule suivante :

$$\text{Protection contre l'hémolyse (\%)} = 100 - (\text{DO1} / \text{DO2}) * 100$$

Sachant que DO1= Densité optique de l'échantillon

DO2= Densité optique du contrôle



**Figure 33 :** Diagramme des marches à suivre pour le test d'hémolyse provoquée par stress thermique.

### 5. Test d'inhibition de dénaturation de l'ovalbumine

L'inflammation provoque une hausse de la température corporelle ce qui provoque la dénaturation des protéines ainsi la perte de leurs activités biologiques, notamment si la fièvre engendrée est importante (LEELAPRAKASH et DASS, 2011 ; PUNGLÉ *et al.*, 2018). Ce test est généralement réalisé avec de la BSA cependant certaines études tels que l'étude *in vitro* des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits Rosacées (FETNI et BERTELLA, 2020) disent que l'albumine de l'œuf peut être utilisée.

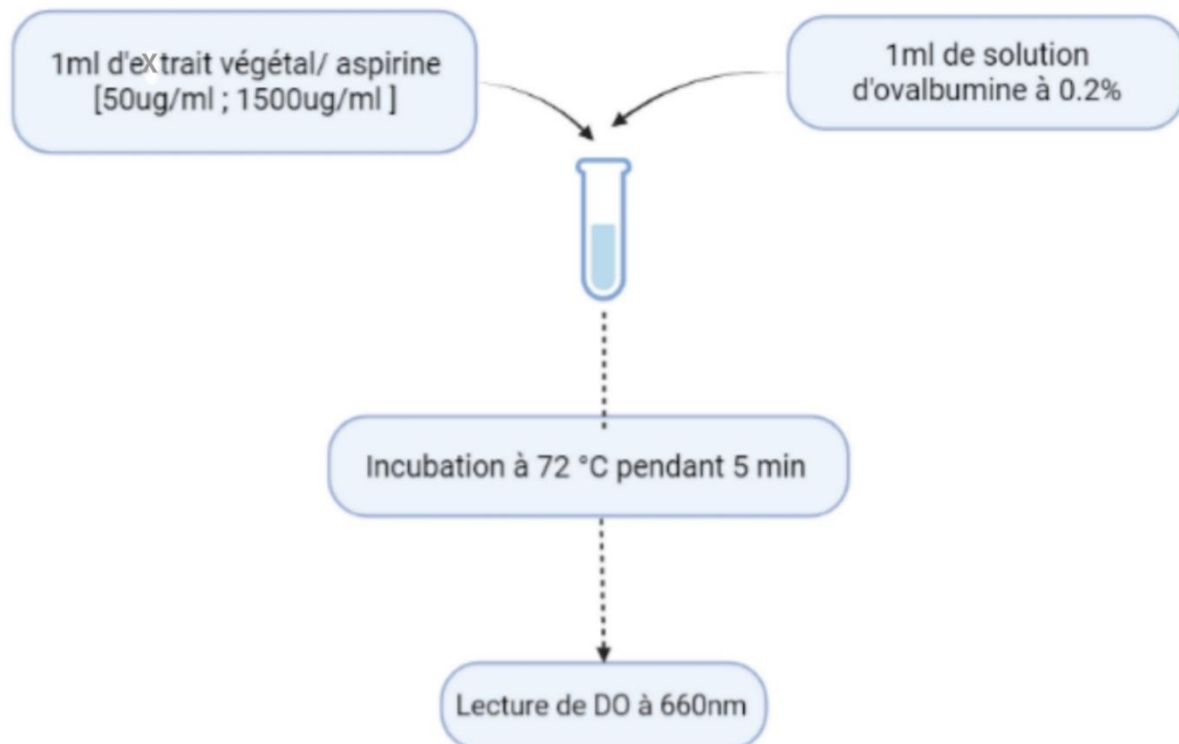
50µl d'extrait végétal à concentrations allant de 50µg/ml à 1500µg/ml est mélangé à 5 ml de solution d'ovalbumine 0,2% préalablement préparé avec du PSB (PH=7.4, 0.9%Na Cl), le mélange réactionnel est incubé à 72 °C pendant 5min. après refroidissement lire les DO à 660nm. Le même protocole est suivi pour l'aspirine qui est prise comme standard.

Le pourcentage de protection contre l'hémolyse est calculé avec la formule suivante :

$$\text{inhibition de la dénaturation (\%)} = 100 - (\text{DO1} / \text{DO 2}) * 100$$

Sachant que DO1= Densité optique de l'échantillon

DO2= Densité optique du contrôle



**Figure 34 :** Protocole du test de dénaturation d'ovalbumine

## 6. Appréciation de l'activité antioxydante

Il existe deux méthodes permettant d'évaluer l'activité antioxydante, la première étant la mesure de la capacité d'un composé à piéger des radicaux libres le comparant à un anti-oxydant de référence, la 2ème est le dosage de produits formés par des technique photométrique plus ou moins directe (MARC et *al.*, 2004).

### a. Evaluation de la capacité antioxydante totale « TAC »

Le principe de ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par les réducteurs présents dans l'échantillon. Le composé phosphomolybdate formé est de couleur verte et il absorbe à une longueur d'onde de 695 nm (MOUALEK, 2018).

0.1 ml d'extrait végétal de concentrations variables entre 100 et 1000 $\mu$ g/ml est mélangé à 1 ml de réactif composé d'acide sulfurique (0.6M), de phosphate de sodium (28mM) et de molybdate d'ammonium (4mM). L'ensemble est incubé à 95 °C pendant 90 min et après refroidissement sur paillasse lire les DO à 695nm.

Par le calcul de l'IC50 on juge la capacité de notre extrait et celui du standard (ASPIRINE) à réduire le molybdène (VI).

### **b. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)**

La réduction du fer est basée sur la réaction chimique de réduction de fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup> qui est observé par le virement de couleur du jaune au bleu et dont la l'intensité mesurée à 700 nm est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait végétal (APAK et *al.*, 2018).

L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme contrôle positif.

Le mélange réactionnel contient 1,25 ml d'extrait (avec des concentrations allant de 10 $\mu$ l/ml à 500 $\mu$ l/ml) et 1,25ml de tampon phosphate (0.2M à PH 6.6) préalablement préparés ainsi que 1.25ml de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub> Fe (CN) à 1% (m/V). L'ensemble est vortexé puis incubé pendant 20 min à 50 °C, ensuite 1,25 ml d'acide trichloracétique TCA à 10% (m/V) lui est additionné. Le mélange est centrifugé à 3000 rpm/10 min. 1,25 ml de surnageant est récupéré et incorporé à 1.25 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure de fer Fe Cl<sub>3</sub> à 0.1%. Les tubes sont incubés 10 min dans l'obscurité avant de lire leurs DO à 700 nm.

Par le calcul de l'IC50 on juge la capacité de notre extrait et celui du standard (ASPIRINE) à réduire le fer ferrique.

## **7. Appréciation de l'activité antibactérienne**

Ce test a pour but de déterminer l'activité antibactérienne de notre extrait végétale vis-à-vis des souches bactériennes Gram- *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7803, et Gram+ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14975 par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé pour présumer l'efficacité des actifs de *Psidium guajava* pourraient avoir in vivo.

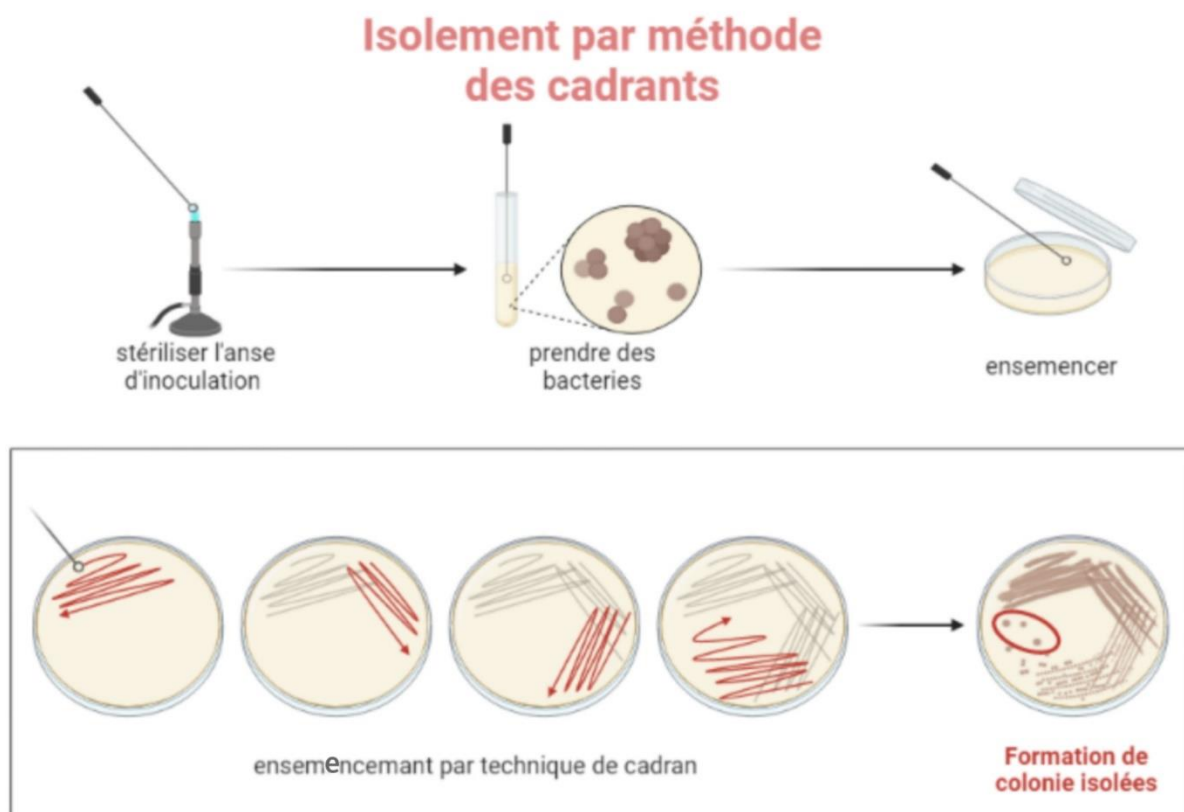
Le protocole utilisé est celui de LESUEUR et *al* (2007).

- Préparation de l'inoculum : Après revivification des souches bactériennes sur milieu BHIB (37 °C, 24h), ces souches sont isolées par technique de stries sur milieu Miller Hilton et incubées à 37 °C pendant 24h afin d'obtenir de jeunes colonies. Quelques colonies bien isolées sont sélectionnées avec une anse et mise en suspension dans de l'eau physiologique stérile (0.9% Na Cl). Pour que la turbidité soit vérifiée, la DO à 620nm doit être comprise entre 0,08 et 0,1.
- Ensemencement de gélose : De nouvelles boîtes sont coulées avec du milieu Miller Hilton qui servira à faire l'étude sur *Bacillus cereus* alors que pour *staphylococcus*

*aureus* nous avons utilisé un milieu Chapman, et Héctoène pour *E. coli* et *Klebsiella* puis ensemencer avec l'inoculum fraîchement préparé.

- **Placement de disques :** 3 disques de papier Whatman stériles de 6mm de diamètre sont disposés à la surface de chaque boîte ensemencée, puis chargés avec 20µl d'extrait végétal à concentration 200mg/ml dans les boîtes de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ; et le même volume à concentrations 200mg/ml, 400mg/ml puis 600mg/ml dans les 3 boîtes de *Klebsiella* et *E. coli*. Incuber à 37 °C pendant 18h. Des disques de contrôles sont disposés à la surface des boîtes : contrôle positif (contient des antibiotiques, colistine pour *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*, de la gentamicine pour *Staphylococcus Aureus* et acide pipemidique PI 20 pour *Bacillus cereus*) ; un contrôle négatif (imprégné d'eau distillée) et l'autre disque contient l'ATB et l'extrait végétale à la même concentration que les disques contenant les échantillons.
- **Lecture :** l'incubation s'est faite à 37°C pendant 24h et la taille des zones d'inhibitions de croissance autour des disques a été mesurée. Elle exprimée en millimètres.

Les schémas suivants illustrent ces étapes :



**Figure 35 :** Etapes d'isolation des colonies

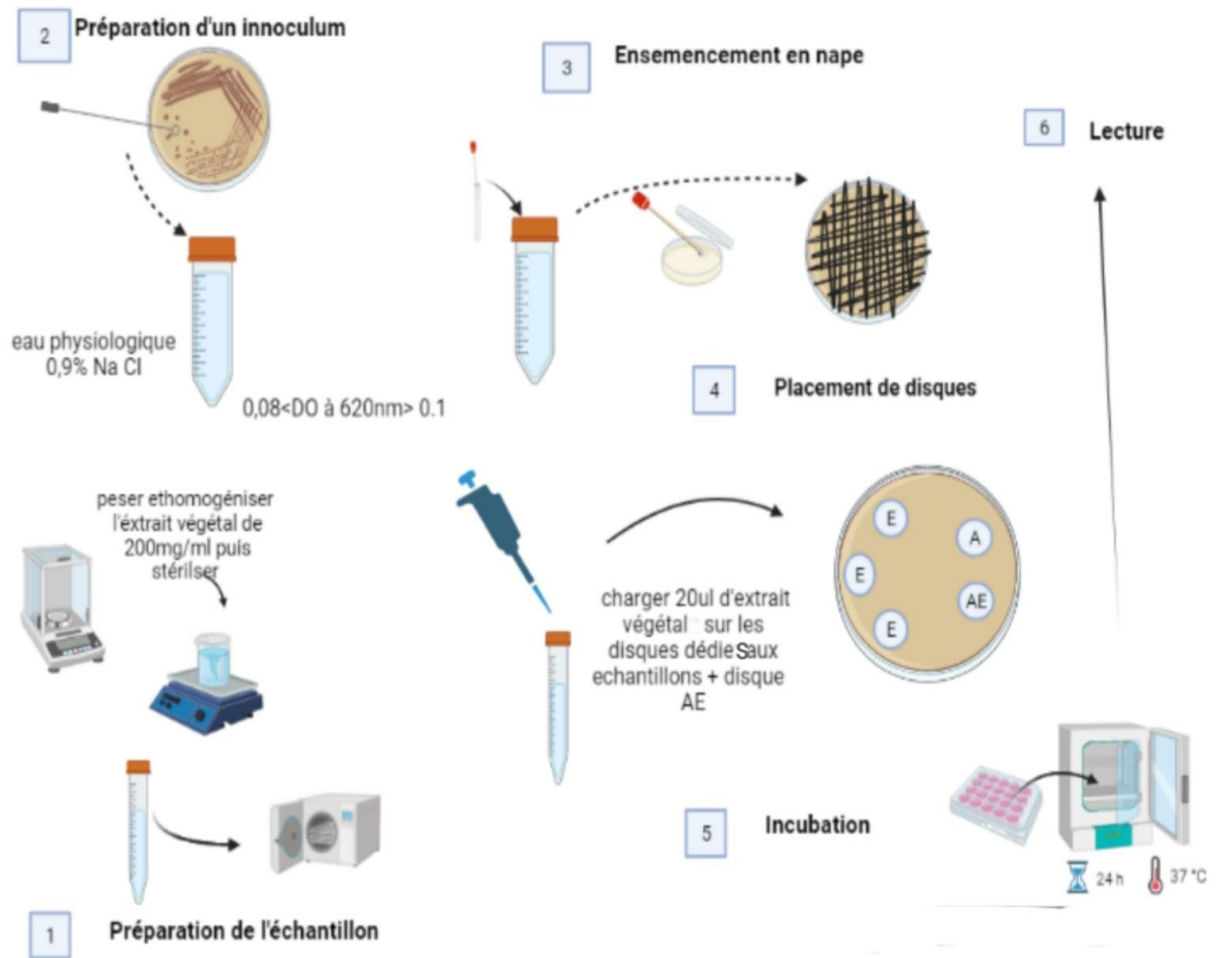


Figure 36 : Schéma récapitulatif des étapes nécessaires à la réalisation du test antibactérien

## **CHAPITRE V : Résultats et discussion**

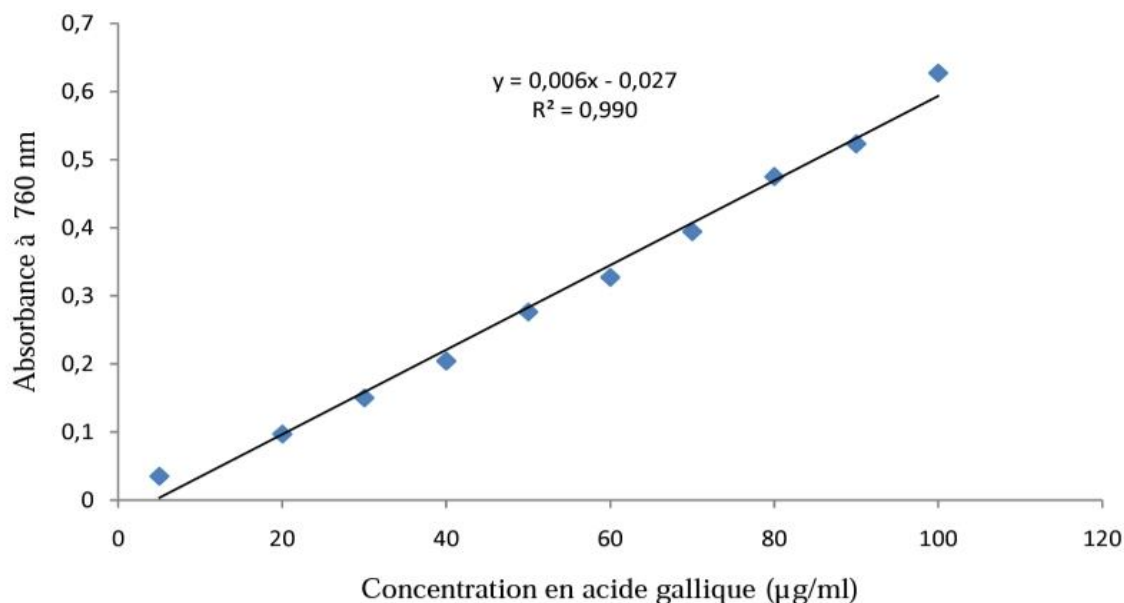
## 1. Rendement d'extraction :

Pour l'extrait aqueux étudié, nous avons obtenu un rendement d'extraction de l'ordre de 9.92% (végétal sec : 20g ; extrait : 1.983g)

Des résultats similaires ont été enregistrés par N'GUESSAN-IRIE et *al* (2012) dans leur étude sur les propriétés bioactives de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* avec un rendement d'extraction de 9.2% (végétal sec 50g ; extrait : 4.61g).

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 (GHEDADBH et *al.*, 2015).

## 2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux



**Figure 37 :** Courbes de densité optique du test d'hémolyse de l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* comparé à celui la saponine.

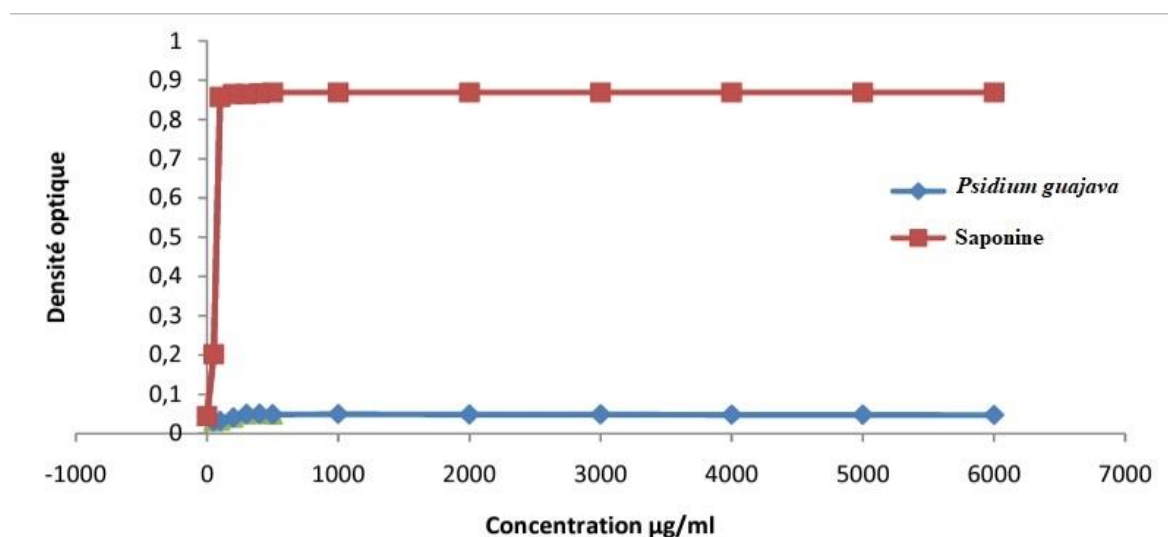
La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* est exprimée en milligramme d'équivalent de standard par gramme d'équivalent mgEAG/g. elle est calculée à partir de l'équation ( $y = 0.006x - 0.027$ ) donnant une valeur de  $211.58 \pm 4.73$  EAG/mg, cette dernière est très proche de celle mentionnée par SURYA et MAHSWARI (2018) évaluée à  $208.85 \pm 16.04$  EAG/mg.

Comparativement à un autre extrait aqueux d'une espèce de la même famille *Psidium guineense*, la teneur en polyphénols enregistrés est de  $21.62 \pm 0.4g\%$  de composés phénoliques totaux (FERNANDES et *al.*, 2012). Notre étude a donné des résultats situés bien au-dessus.

Des facteurs environnementaux biotiques et abiotiques influencent la biosynthèse des métabolites secondaires des végétaux y compris les composés phénoliques pour assurer leur survie. Les facteurs biotiques sont représentés par des êtres vivants unicellulaires ou pluricellulaires tels que les insectes, les champignons et les virus, tandis que les facteurs abiotiques sont représentés par la nature du sol, le rayonnement solaire, les éléments minéraux présents dans l'eau que consomme le végétal (Al Naser, 2018.). La période de collecte et les conditions de stockage ainsi que la maturité génétique de l'individu végétal jouent également un rôle dans ces variations.

### 3. Innocuité de l'extrait aqueux des feuilles de goyavier vis-à-vis des hématies :

Le test d'hémolyse est primordial pour la détermination de l'innocuité d'une plante destinée à une utilisation traditionnelle et pharmacologique, en effet ce test est un indicateur de toxicité sans quoi la plante est considérée comme inapte à l'utilisation.



**Figure 38 :** courbes représentant la densité optique du test d'hémolyse de l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* comparé à celui de la saponine.

Le test d'hémolyse a été réalisé pour des concentrations allant de 250 µg/ml à 1500 µg/ml et le résultat des densités optiques témoignant du taux d'hémolyse est mentionné dans la figure ci-dessous, ils ont été comparés à ceux de la saponine qui est la molécule hémolytique prise comme standard dans cette étude.

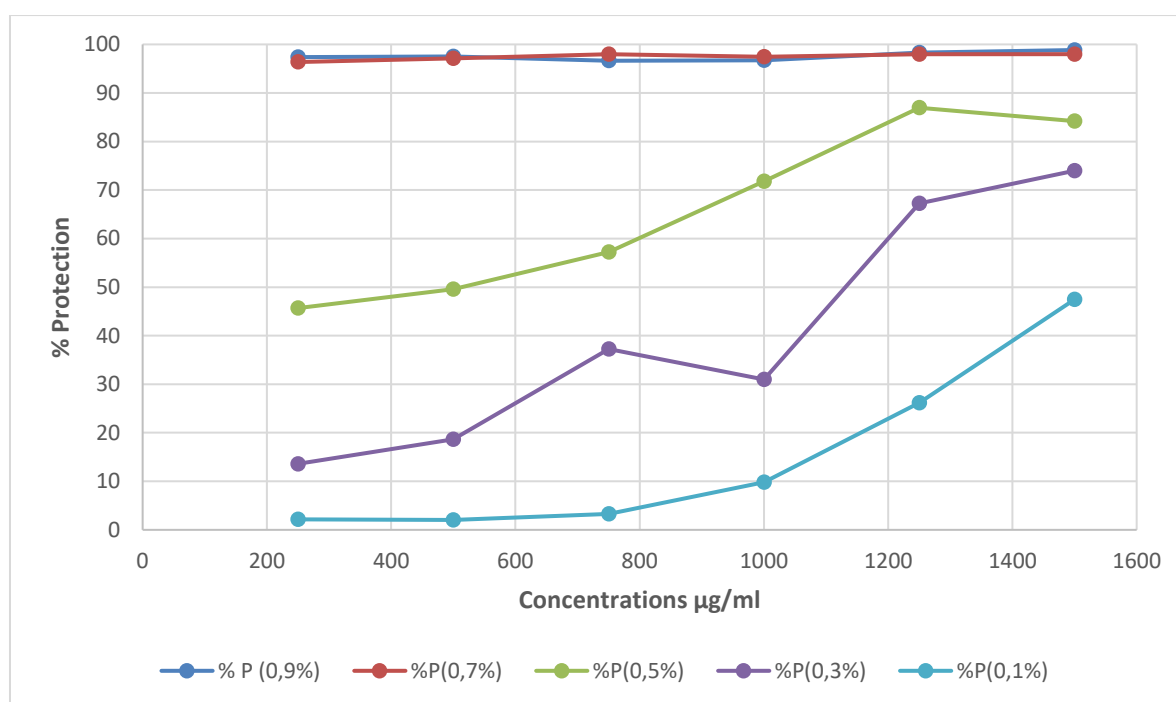
Cette figure montre clairement que l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* est non hémolytique. Ceci est dû à sa richesse en composés phénoliques qui, en s'attachant aux membranes cellulaires, réduisent l'oxydation causée par les radicaux libres à ce niveau, provoquant ainsi l'exposition de l'hémoglobine à la surface membranaire et par conséquent une diminution et une perte d'élasticité (MOREIRA *et al.*, 2011).

## 4. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

### 4.1. Tests de stabilisations de la membrane des globules rouges (activité anti hémolytique)

La vitalité des cellules dépend de l'intégrité de leur membrane, l'exposition des globules rouges à certains facteurs (milieu hypotonique, chaleur...) entraîne la lyse de leur membrane. L'étude anti hémolytique révélera la capacité de toute substance à stabiliser la membrane et à réduire le degré de lyse des globules rouges.

#### a. Protection de la membrane érythrocytaire contre le stress osmotique



**Figure 39 :** Courbe représentative du pourcentage de protection de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* vis-à-vis d'un stress osmotique.

Pour ce qui est du test d'hémolyse induite par le stress osmotique, les résultats sont représentés dans figure sous forme de 5 courbes, chacune de ces courbes présente une concentration en Na Cl variant entre 0.1 et 0.9%.

Les concentrations allant de 0.1% à 0.5% en Na Cl montrent une évolution du pourcentage de protection croissant proportionnellement aux concentrations de l'extrait, tandis que les concentrations de 0.7 et 0.9% reflètent une protection maximale (atteinte d'un plateau) proche de 100% (les courbes sont superposées). Des pourcentages de protection maximale ont été enregistrés pour chaque courbe à la concentration de 1500 $\mu\text{g/ml}$ . Ils sont de l'ordre de  $47.46 \pm 0.73\%$ ,  $73.98 \pm 0.37\%$ ,  $84.17 \pm 0.14\%$ ,  $97.99 \pm 0.011\%$ ,  $98.84 \pm 0.028\%$  pour des

concentrations en Na Cl de 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9% respectivement. Nous pouvons dire dans ce cas que le degré de protection est dose dépendant.

Les résultats d'une étude sur un extrait aqueux de l'espèce *Chenopodium opulifolium* à une concentration de 1000 µg/ml et 0.9% de Na Cl montrent une protection maximale de 40.3% (AJAYI *et al.*, 2016) qui reste inférieure à celle de *Psidium guajava* atteignant 96.75% de protection.

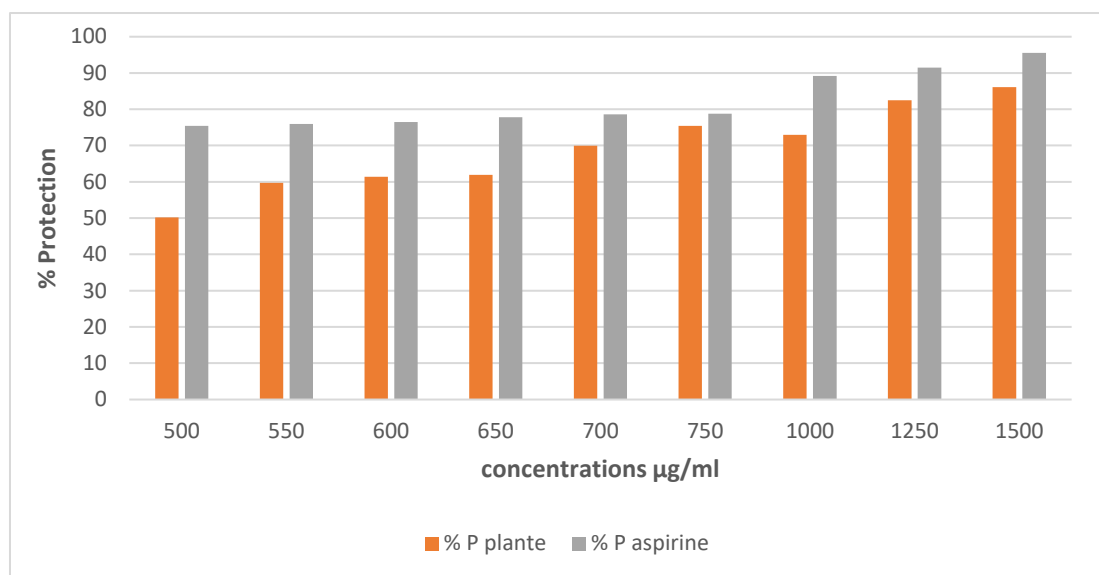
Il existe un rapport entre le taux d'hémoglobine libéré et la fragilité osmotique membranaire des érythrocytes mis dans des solutions à osmolarité décroissante, se traduisant par une lyse cellulaire, c'est le phénomène d'hémolyse (LOUERRAD, 2016). Ce dernier s'explique par une faible concentration d'électrolyte dans le milieu, provoquant un accroissement progressif du volume du globule rouge causé par la pénétration des molécules d'eau, répondant ainsi aux lois de l'osmose qui induisent l'éclatement de la membrane cellulaire tout en relâchant le contenu cellulaire y compris l'hémoglobine dans le milieu. Un tel phénomène entrainera des dommages secondaires par peroxydation lipidique induite par les radicaux libres.

Le rôle des composés aux propriétés stabilisatrices, en l'occurrence les polyphénols réside en la protection significative de la membrane cellulaire. SUWALSKY *et al* (2017) ont supposé que l'insertion des polyphénols, précisément les flavonoïdes modifie l'agencement de la bicouche lipidique et sa fluidité ce qui entraîne la protection de la membrane érythrocytaire contre l'hémolyse grâce à la formation d'une liaison lipide-eau ou à la distribution du noyau hydrophobe de la membrane.

Grâce à la richesse en polyphénols de l'extrait, il est possible d'inhiber le processus aboutissant au déferlement des composés intracellulaire. Ceci a été démontré par des études in-vivo sur des extrait végétaux énonçant que les flavonoïdes et les polyphénols en général ont la capacité d'interférer avec la production de phospholipases qui déclenchent la formation de médiateurs de l'inflammation, notamment la libération de prostaglandines E2(PGE2) dans le sérum et les tissus, ce qui indique que l'effet anti-inflammatoire de composé phénolique provient de l'inhibition de l'expression de la COX-2 aboutissant ainsi à l'inhibition, la synthèse, la libération ou l'action des PGE2 impliquées dans l'inflammation (YANG *et al.*, 2010).

#### **b. Protection de la membrane érythrocytaire contre un stress thermique :**

L'effet protecteur de l'extrait foliaire de *Psidium guajava* contre l'hémolyse des globules rouges induite par la chaleur est illustré dans la figure ci-dessous :



**Figure 40 :** Histogramme comparatif du pourcentage de protection de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* à un standard (acide acétylsalicylique) contre l'hémolyse induite par un traitement thermique.

Les résultats représentent sous formes d'histogrammes l'évaluation du pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges en fonction des concentrations en extrait.

L'extrait aqueux de goyavier présente, de manière générale une protection de la membrane érythrocytaire contre la lyse à toutes les concentrations allant de 500µg/ml à 1500µg/ml.

Nous observons que l'extrait de goyavier présente une inhibition de l'hémolyse comparable à celle de l'acide acétylsalicylique (aspirine) et a un effet dose dépendant. En effet l'inhibition maximale est de 86.11 % pour l'extrait contre une inhibition de 95.52 % pour l'aspirine à une dose de 1500µg/ml, des valeurs relativement proches.

D'après le diagramme, l'extrait aqueux des feuilles du goyavier présente une stabilisation relativement importante de la membrane érythrocytaire, une stabilisation notée concentration dépendante, on remarque qu'à une concentration de 500 µg/ml le pourcentage baisse à 50.22% et la différence avec l'aspirine est remarquable tout en restant éloignée des 50%.

D'après l'étude de GOVINDAPPA et al (2011), l'extrait aqueux de feuilles sèches de *Wedelia trilobata.L* atteint une protection maximale de 74.63±0.06%, ce résultat reste inférieur à celui de notre plante d'intérêt qui présente 86.11% d'inhibition d'hémolyse à la même concentration.

Toutes les plantes mentionnées présentent une protection dose dépendante et la dose est plus ou moins importante selon la composition de la plante. Prenons l'exemple de *G.vulgaris* qui présente une protection évaluée à 26.71% et ce à une concentration de 400mg/ml (SALEEM et al., 2011). Un pourcentage très faible comparé à ceux enregistrés par nos soins avec une gamme de concentrations nettement plus inférieure de l'ordre du microgramme.

Ces différences sont liées aux différences génétiques entre les individus, c'est la raison pour laquelle la synthèse des polyphénols n'est pas la même chez toutes les espèces végétales.

L'exposition des globules rouges à un stress thermique (comme lors de la réaction inflammatoire) entraîne la lyse des membranes suivies de l'hémolyse et de l'oxydation de l'hémoglobine. La membrane érythrocytaire est utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* en raison de son analogie avec la membrane lysosomale. Sa stabilisation par l'extrait implique donc la stabilisation de celle du lysosome. D'ailleurs, Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens dans leur mécanisme, limitent la réaction inflammatoire en stabilisant les membranes lysosomale évitant par la même occasion la libération de ses constituants (SUMATHI et ANURADHA, 2017).

Des études suggèrent que les flavonoïdes ont la capacité d'interagir à l'interface des lipides avec la tête polaire des phospholipides en augmentant la rigidité membranaire. La membrane devient moins fluide et la stabilité des bicouches lipidiques mécaniques est ainsi augmentée. Ajouté à cela, les interactions polyphénoliques a la surface de la bicouche par liaison hydrogène pourraient diminuer l'accès aux molécules nocives (antioxydants) préservant ainsi la structure et la fonction de la membrane (BOUHLALI *et al.*, 2020).

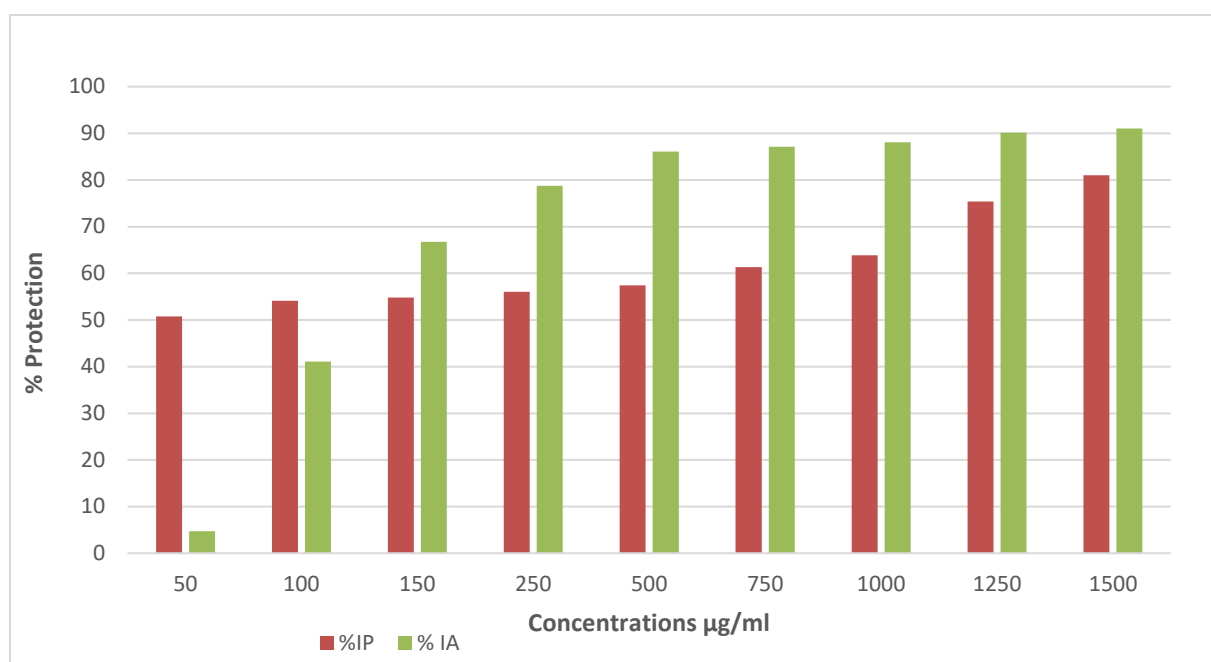
Le pouvoir stabilisateur des extraits est donc lié à l'inhibition de la libération des phospholipases responsables de la formation des médiateurs inflammatoires (SALEEM *et al.*, 2011).

L'extrait végétal arrive à empêcher l'hémolyse lors du traitement thermique grâce aux interactions qu'il constitue avec les protéines membranaires des érythrocytes, les flavonoïdes qu'il contient se lierait avec ces dernières au niveau des site tryptophane pour éviter leur dénaturation (CHAUDHURI *et al.*, 2007).

#### **4.2. Protection contre la dénaturation thermique de l'ovalbumine**

La dénaturation des protéines est une cause de l'inflammation bien documentée, elle est exploitée dans le cadre de l'enquête sur les mécanismes de l'activité anti inflammatoire *in vitro*.

La dénaturation repose sur la perte de la structure tridimensionnelle des protéines. De nombreux agents physiques et chimiques comme les traitements par chaleur, acide/ base, salin, solvants organiques peuvent être à l'origine de cette dénaturation qui est la cause de la perte des fonctions biologiques (LEELAPRAKASH et DASS, 2011). Dans le cadre de la prospection de l'activité anti-inflammatoire, nous avons testé le pouvoir de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* à empêcher l'altération de la chaîne peptidique de l'ovalbumine par un traitement thermique. Les résultats sont présentés ci-dessous.



**Figure 41 :** Pourcentage de protection de l'ovalbumine contre une dénaturation par traitement thermique.

La figure ci-dessus représente la différence entre l'effet de l'extrait végétal sur l'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine et celui de l'aspirine considérée comme l'anti-inflammatoire de référence par excellence. Ces résultats montrent un taux d'inhibition différent selon les concentrations. A de petites valeurs, la protection de l'extrait est nettement supérieure à celle de l'aspirine avec un pourcentage de 50.78% contre seulement 4.75% pour le standard ; à des valeurs moyennes l'aspirine montre une protection relativement élevée comparé à notre extrait allant de 66.72 à 88.11% contre 54.83 à 63.83% pour l'extrait. Cependant, à de fortes concentrations la protection des deux solutions est relativement proche atteignant les 80.98% pour la plante et 91% pour l'aspirine ; des valeurs qui représentent le maximum d'inhibition pour l'extrait et le standard respectivement a une concentration de 1500µg/ml.

L'étude comparative des feuilles de *Wedelia trilobata* (L.) a donné un résultat de  $86 \pm 0.06$  % qui est supérieure au pourcentage d'inhibition de notre plante.

Les études réalisées par FETNI et BERTELLA (2020) , affirment que le phénomène empêchant la dénaturation des composés protéiques contenant deux types de sites d'une part un récepteur riche en thréonine couplé à la tyrosine ( AA aromatique et aliphatique) et d'autre part des régions riches en lysine acide aminé basique ; Le mérite revient aux composés phénoliques qui interagissent avec ces deux sites cités précédemment.

L'intérêt de ce test est lié au fait que la dénaturation de l'albumine conduit à la formation d'antigène qui initie une réaction hyper sensible de type III conduisant à une inflammation. De ce fait, plus le degré d'inhibition d'un extrait est élevé, plus son potentiel anti-inflammatoire est important (ESHO et al., 2021).

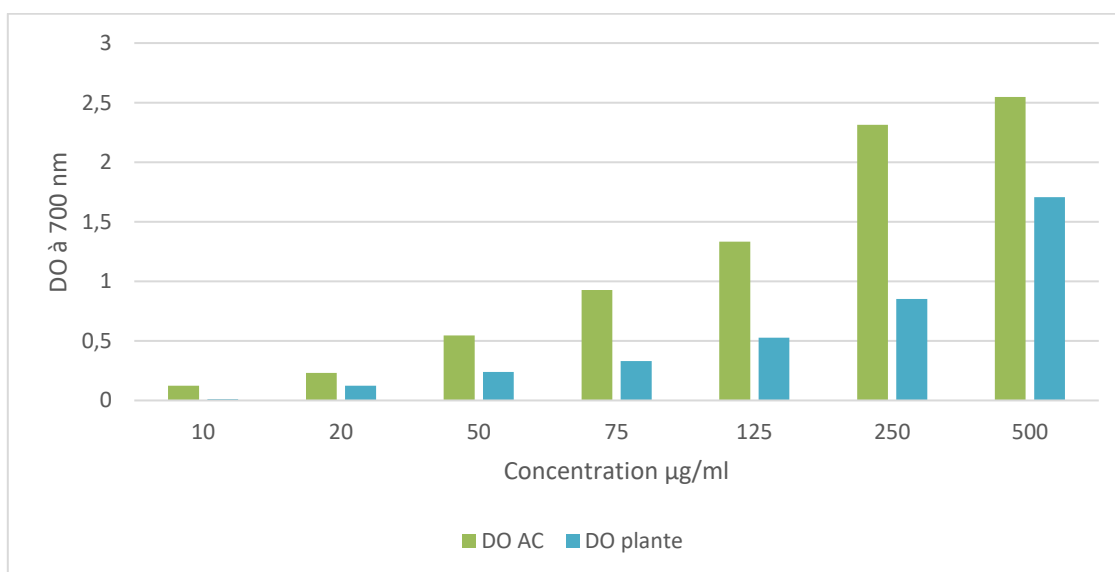
## 5. ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène en général, sont des agents oxydants *in vivo* générés lors du métabolisme physiologique chez les êtres vivants suite à la fuite d'électrons de la chaîne de transport et par les activités des enzymes oxydoréductases. Leur présence en excès peut provoquer des dégâts tel que les mutations génétiques, l'existence de mécanismes de défense dans l'organismes est un remède insuffisant et un apport supplémentaire par l'alimentation serait intéressant pour combler l'insuffisance en antioxydant étant donné qu'ils sont connus comme agent prophylactique (GOVINDAPPA *et al.*, 2011).

Comme l'activité antioxydante d'un extrait est directement liée à sa capacité réductrice, les tests FRAP et TAC sont deux méthodes simple et fiables pour évaluer l'activité antioxydante (ASHRAF *et al.*, 2016).

### a. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

Dans cette analyse qui est rapide, facile et reproductible, nous avons évalué l'activité antioxydante par la mesure de la réduction de l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Les résultats obtenus sont illustrés sous forme d'histogrammes sur la figure qui suit :



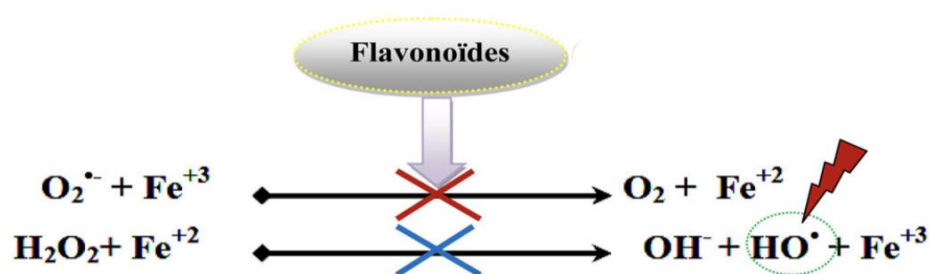
**Figure 42 :** Evaluation du pouvoir réducteur du fer par l'extrait végétal et l'acide ascorbique.

L'histogramme comparatif de la figure représente les DO à 700 nm de l'extrait végétal et l'acide ascorbique en fonction de leur concentration allant de 10 à 500 µg/ml. Le pouvoir réducteur est dose dépendant et l'extrait végétal montre une capacité réductrice moins importante que celle du standard pour toutes les concentrations enregistrées.

Afin de comparer l'activité antioxydante de l'extrait testé par cette méthode, nous avons calculé la concentration inhibitrice à 50% (IC50). L'extrait aqueux de *Psidium guajava* a donné une IC50 de  $115.42 \pm 4.43 \mu\text{g/ml}$  plus élevée que celle de l'acide ascorbique qui est de  $48.73 \pm 2.6 \mu\text{g/ml}$ .

Dans une étude de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante de la même espèce et dans les mêmes conditions expérimentales, les résultats ont montré une remarquable similitude avec des IC50 de  $157.56 \pm 18.41 \mu\text{g/ml}$  pour *Psidium guajava* et  $57.73 \pm 3.80 \mu\text{g/ml}$  pour l'acide ascorbique (SURYA et MAHESWARI, 2018).

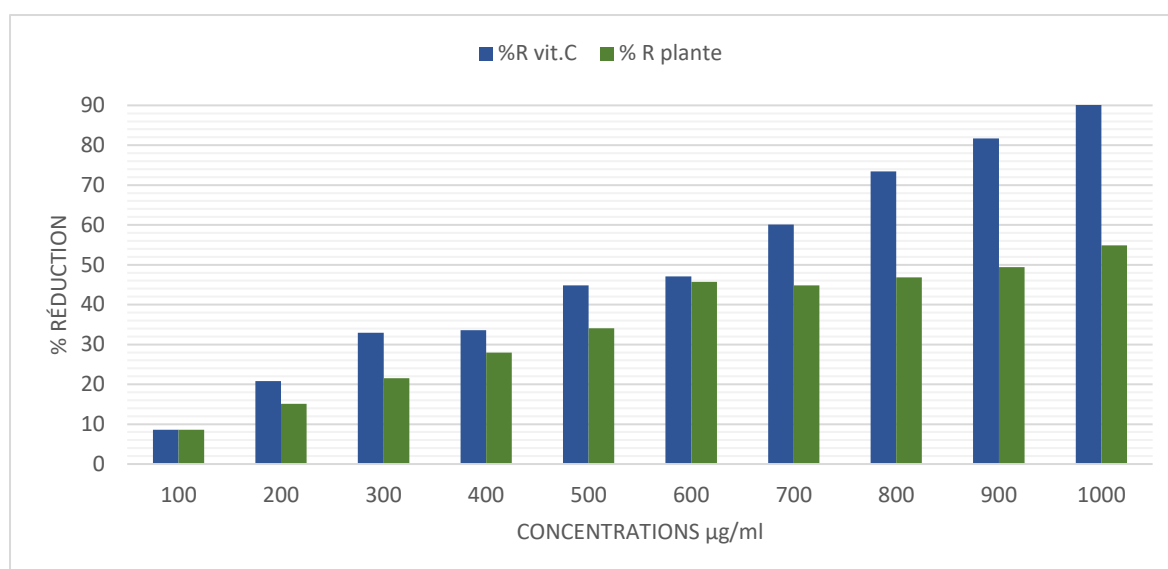
Des études ont démontré que la capacité réductrice d'un composé peut indiquer l'activité antioxydante potentielle d'un extrait végétal aqueux ou organique, les antioxydants de l'espèce *Psidium guajava* sont des substances inactivatrices des oxydants et ce pouvoir revient aux groupements hydroxyles des composés phénoliques qui servent de donneurs d'électrons (BOUGANDOURA et BENDIMERAD, 2013). Ces composés ont un pouvoir dans la chélation des métaux de transition impliqués dans la réaction de Fenton représenté par la formation de radicaux hydroxyles suite à l'interaction du fer avec le peroxyde d'hydrogène (GHEDADBA et *al.*, 2015).



**Figure 43** : Réaction de Fenton (Ghedadba et *al.*, 2015).

#### b. Evaluation de la capacité antioxydante totale (TAC)

La figure ci-dessous renseigne sur l'aptitude de notre extrait à réduire le molybdène comparé à celle de l'acide ascorbique en montrant l'existence d'une relation dose dépendante entre le pourcentage de réduction et les concentrations. À de petites valeurs les pourcentages de réductions des deux substances présentent une similarité, alors que nous notons une amélioration de la réduction pour la vitamine C de 96.2% à de fortes concentrations contrairement à notre extrait qui atteint un pourcentage de seulement 54.87%.



**Figure 44** : Capacité de l'extrait de feuille de goyavier et vitamine C à réduire le molybdène.

Après avoir calculé les IC<sub>50</sub> correspondantes utilisant les équations des droites respectives, nous avons obtenu des valeurs de  $404.95 \pm 18.19 \mu\text{g/ml}$  pour l'extrait aqueux de *Psidium guajava* et  $304 \pm 15.56 \mu\text{g/ml}$  pour l'acide ascorbique. Ces résultats sont en concordance avec les données bibliographiques qui pour le même extrait de la même espèce des IC<sub>50</sub> proches ont été trouvées, pour leur extrait IC<sub>50</sub> =  $462.68 \pm 5.17 \mu\text{g/ml}$  et pour leur standard IC<sub>50</sub> =  $293 \pm 8.55 \mu\text{g/ml}$  (SURYA et MAHESWARI, 2018).

La vitamine C possède un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava*. C'est un puissant agent réducteur et piègeur de radicaux libres dans les systèmes biologiques, cette propriété lui vient en cédant des électrons et ainsi arriver à stopper leurs nocives activités (OSEI AKOTO et al., 2020).

Les composés phénoliques totaux qui sont présents dans différentes parties à différentes proportions des plantes ont un effet antioxydant pour les organismes vivants. Ils sont très efficaces pour piéger les radicaux libres notamment les formes réactives de l'oxygène. La membrane biologique est la partie de la cellule la plus exposée aux espèces réactives de l'oxygène (ERO) du fait qu'elle représente le premier contact avec la cellule. D'après BONARSKA-KUJAWA et al (2011), la structure des membranes est endommagée par l'oxydation des lipides membranaire, par conséquent le fonctionnement de ces dernières est altéré et il y'a apparition de diverses pathologies, or l'incorporation des CPT dans les membranes empêchent cette oxydation ou du moins la diminuent drastiquement. La capacité des CPT à s'incorporer dans les bicouches lipidiques est ce qui conditionne leur efficacité et leur protection.

## 6. Activité antibactérienne

L'usage des antibiotiques est le principal traitement contre les infections antibactériennes et la surconsommation de ces substances chimiques conduit à la sélection de souches multi-résistantes. De part ce fait, l'homme se voit dans l'obligation développer la recherches sur les molécules palliatives comme celles issus des plantes médicinales s'inspirant ainsi de la médecine traditionnelle (ALI-SHTAVEH *et al.*, 1998).

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Dans notre étude, les tests de sensibilité ont été effectués vis-à-vis de deux souches Gram+ (*Bacillus cereus* ATCC 14975, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et deux souches Gram- (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7803), à une concentration d'extrait de 200 µg/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 comme suit :

**Tableau XI :** Diamètres des zones d'inhibition des bactéries

Souches bactériennes	EAPG	ATB	ATB + EAPG
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12 mm	27 mm	27 mm
<i>B. cereus</i> ATCC 14975	14 mm	19 mm	12 mm
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0 mm	15 mm	15 mm
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 7803	0 mm	12 mm	12 mm

Nous remarquons que notre extrait a présenté un effet positif sur les deux souches Gram +, il est capable d'inhiber la croissance des bactéries, avec des zones d'inhibition aux diamètres de 12 mm pour *S. aureus* et 14 mm pour *B. cereus*. Ces valeurs sont inférieures à celles de l'ATB qui atteignent respectivement les 27 mm et 19mm.

Nous observons aussi une égalité des deux diamètres de l'ATB et L'ATB + EAPG pour *S. aureus* ce qui signifie que l'extrait est indifférent vis-à-vis de l'ATB. Alors qu'une différence modérée a été enregistrée dans le cas de *B. cereus* avec des zones d'inhibition d'un diamètre de 19mm pour ATB et 12 mm pour le disque d'ATB et EAPG une différence de 7mm c'est l'effet antagoniste cela est dû à la présence des principes actifs qui ont des interactions négatives. Ces résultats sont inférieurs à ceux enregistré par MOUALEK (2018) qui pour *S. aureus* a eu un diamètre de 17.3±0.6 mm et pour *B. cereus* le diamètre est de 12.3±0.5 mm, alors que pour les souches Gram- les mêmes résultats ont été obtenus pour l'extrait aqueux de *Arbutus unedo*. NWINYI *et al* (2008), Quant à eux ont trouvé un diamètre d'inhibition de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* inférieur d'une valeur de 11mm.

Les acides organiques sont des inhibiteurs naturels de la croissance bactérienne ainsi que certains composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes présents dans l'extrait végétal. Ils peuvent être toxiques en vers les souches bactériennes cette toxicité s'exprime en fonction de l'hydroxylation des polyphénols, plus celle-ci est importante plus la toxicité est élevée comme elle peut être due au blocage des enzymes hydrolytique ce qui conduit à l'inhibition de la croissance bactérienne (COWAN, 1999). L'effet antibactérien des polyphénols est dû à la facilité d'entrée dans les membranes des bactéries à Gram+ vu leur finesse (DHAOUADI et *al.*, 2011).

Les diamètres enregistrés dans cette étude indiquent que notre extrait ne présente pas d'activité inhibitrice contre les Gram- contrairement à l'ATB qui lui présente une protection importante contre la croissance bactérienne qui reste inchangée comparé à l'ATB et EAPG, il y a absence de synergie.

Cette résistance est expliquée par la structure et la composition de la paroi des bactéries Gram- qui est constituée d'une paroi plus épaisse à laquelle s'ajoute une membrane externe qui constitue un élément structurel de défense supplémentaire (BALENTINE et *al.*, 2006).

## **CONCLUSION**

Les plantes médicinales comptent parmi les armes les plus puissantes pour combattre les maladies et les virus pathogènes qui peuvent toucher l'homme, elles sont bénéfiques pour la santé humaine en vue de leur richesse en composés bioactifs responsables de plusieurs propriétés thérapeutiques et pharmacologiques particulière. L'objectif assigné à cette étude a été de valoriser la feuille du goyavier en évaluant sa composante phytochimique et son intérêt dans le domaine médical.

Au cours de notre expérimentation, nous avons eu recours à de multiples testes dans le but d'évaluer trois activités biologiques de la partie aérienne (feuilles) de l'espèce *Psidium guajava* L, qui sont l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne.

Dans un premier temps nous avons quantifié la totalité des polyphénols par méthode Folin-Ciocalteu qui est de  $211 \pm 4,73$  EAG /mg ce qui prouve la richesse de la variété... en composés phénoliques. Dans un deuxième volet après s'être assuré de l'innocuité de notre extrait nous avons analysé l'activité anti-inflammatoire par deux différents tests qui ont mis en évidence cette dernière, les premiers étant les tests d'hémolyses vis-à-vis d'un stress osmotique et thermique. Les pourcentages de protection contre l'hémolyse ont atteint les  $98.84 \pm 0.028\%$  et  $86.11\%$  respectivement. Le second test s'est reposé sur la dénaturation des protéines dont le résultat est  $80.98\%$  de protection.

Par la suite nous avons évalué le potentiel radicalaire de l'extrait par les méthodes de détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP) et de capacité antioxydante totale (TAC) dont les résultats montrent que l'extrait foliaire de *Psidium guajava* est doté d'une moyenne protection contre le stress oxydatif.

Et enfin le test de l'activité antibactérienne suivant la technique de diffusion sur gélose a montré une faible inhibition de la croissance des bactéries Gram positif contre une absence d'inhibition de la croissance des bactéries Gram négatifs

Au terme de cette investigation, nous jugeons que le goyavier, encore mal connu en Algérie, mérite une attention particulière en vue de son utilisation en ethnomédecine dans les pays tropicaux a subtropicaux. Il est caractérisé par un immense réservoir de métabolites secondaires qui constituent un substituant de choix de molécules phénoliques à divers applications pharmacologiques notamment dans le domaine médical, agroalimentaire et cosmétique. Afin de valoriser plus encore les biomolécules de l'espèce *Psidium guajava* et approfondir l'étude sur de nombreux plans, des perspectives sont à instaurer :

- Élargir le spectre d'étude biochimique et microbiologique sur chacune des parties aériennes et souterraine de l'arbre.
- Purifier et identifier de nouvelles molécules responsables de ces effets thérapeutiques.
- Développer des médicaments dont le principe actif est issu de cette plante douée d'activités biologiques.
- Evaluer plus amplement la toxicité de la plante
- Approfondir les études in vitro par une expérience in vivo dans le but de s'assurer de l'innocuité de l'extrait chez les modèles animaux.

**BIBLIOGRAPHIE**

- **Abdelrahim, S.I., Almagboul, A.Z., Omer, M.E.A., Elegami, A.,** (2002). Antimicrobial Activity of *Psidium Guajava* L. *Fitoterapia* 73, 713–715.
- **Ajayi A. M., Khidzee Tanayen J., Magomere A., et O. C. Ezeonwumelu J.** (2016). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Chenopodium opulifolium* schrad leaves. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6 (1) 14-21.
- **Aldeyab, M.A., Harbarth, S., Vernaz, N., Kearney, M.P., Scott, M.G., Funston, C., Savage, K., Kelly, D., Aldiab, M.A., McElnay, J.C.,** 2009. Quasiexperimental Study of the Effects of Antibiotic Use, Gastric Acid-Suppressive Agents, and Infection Control Practices on the Incidence of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea in Hospitalized Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 2082–2088.
- **Ali-Shtayeh M.S, Yaghmour R.M.-R, Faidi Y.R, Salem K., et Al-Nuri M.A.** (1998). Antimicrobial activity of 20 Plants used in folkloric medicine in the palestinian Area. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (3) : 265-71
- **Al Naser O.** (2018). Effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morpho-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez *Inula montana* : une plante de la médecine traditionnelle Provençale. 178.
- **Al-Sowayan, N.S.,** (2020). Possible modulation of nervous tension-induced oxidative stress by vitamin E. *Saudi J. Biol. Sci.* 27, 2563–2566.
- **Alwash, M.S., Ibrahim, N., Ahmad, W.Y.,** 2013. Identification and Mode of Action of Antibacterial Components from *Melastoma malabathricum* Linn Leaves. *Am. J. Infect. Dis.* 9, 46–58.
- **Anand, V., M, M., Kumar, V., Kumar, S., P, P., Hedina, A.,** 2016. Phytopharmacological overview of *Psidium guajava* Linn. *Pharmacogn. J.* 8, 314–320.
- **Anzai, T., Yoshikawa, T., Kaneko, H., Maekawa, Y., Iwanaga, S., Asakura, Y., Ogawa, S.,** 2004. Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombus formation after first anterior myocardial infarction. *Chest* 125, 384–389.
- **Apak R., Capanoglu E., et Shahidi F.** (2018). Measurement of Antioxidant Activity and Capacity : Recent Trends and Applications. *John Wiley & Sons.* 352 pages.
- **Argueta, A., Gallardo Vasquez, M.C.,** 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista, Mexico, D.F.
- **Ashraf A., Sarfraz R. A., Abid Rashid M., Mahmood A., Shahid M., et Noor N.** (2016). Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and cytotoxic effects of *Psidium Guajava* Leaf Extracts. *Pharmaceutical Biology* 54 (10): 1971-81.

- **Asselineau, J., Zalta, J.-P., Boissier, J.R.,** 1973. Les antibiotiques: structure et exemples de mode d'action. Hermann, Paris.
- **Balentine, C. W., Crandall P. G., O'Bryan C. A., Duong D. Q., et Pohlman F. W.** (2006). The pre- and post-grinding application of Rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science* 73 (3): 413-21.
- **Barouki, R.,** 2006. Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences* 22, 266–272.
- **Barton, G.M.,** 2008. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J. Clin. Invest.* 118, 413–420.
- **Bbosa, G.S., Mwebaza, N., Odda, J., Kyegombe, D.B., Ntale, M.,** 2014. Antibiotics/antibacterial drug use, their marketing and promotion during the post-antibiotic golden age and their role in emergence of bacterial resistance. *Health (N. Y.)* 6, 410–425.
- **Belachew, K.,** 2011. Rooting of guava (*Psidium guajava* L.) shoots and stem cuttings. 53,234-265.
- **Bidaut-Russel, M., Gabriel, Sherine E.,** 2001. Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: Consequences and costs. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 15, 739–753.
- **Biswas, S., Talukdar, P., Talapatra, D.S.N.,** 2019. Presence of phytochemicals in fruits and leaves of guava (*Psidium guajava* Linn.) for cancer prevention: A mini review. *J. Drug Deliv. Ther.* 9, 726–729.
- **Blain, H., Jouzeau, J.-Y., Netter, P., Jeandel, C.,** 2000. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev. Med. Interne - REV MED INTERNE* 21, 978–988.
- **Boizot N., et Charpentier J. P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. 5.
- **Bonarska-Kujawa D., Pruchnik H., Oszmiański J., Sarapuk J., et Kleszczyńska H.** (2011). Changes caused by fruit extracts in the lipid phase of biological and model membranes. *Food Biophysics* 6 (1) : 58-67
- **Bottone, E.J.,** 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol. Rev.* 23, 382–398.
- **Borg, J., Reeber, A.,** 2008. Biochimie métabolique, \$ {35} édition. ELLIPSES, Paris.65.
- **Bougandoura N., et Bendimerad N.** (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Revue Nature et Technologie* 5 (2) : 14-19.
- **Bouhlali E.D.T., Hmidani, A., Bourkhis B., Khouya T., Ramchoun M., Filali-Zegzouti Y., Alem C.** (2020). Phenolic profile and anti-inflammatory activity of four Moroccan date (*Phoenix dactylifera* L.) seed varieties. *Heliyon* 6, e03436.

- **Bourgeois, P., Aurore, G.S., Abaul, J., Joseph, H.,** 1998. Valorisation de la graine de goyave : huile de l'amande et poudre abrasive des coques. *Cah. Agric.* 7, 105-109 (1).
- **Bravo, L.** (1998). polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. 317-333.
- **Brzozwska, J., et Hanower, P.,**(1976). sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. 65-87.
- **Buckley, C.D., Gilroy, D.W., Serhan, C.N.,** 2014. Pro-Resolving lipid mediators and Mechanisms in the resolution of acute inflammation. *Immunity* 40, 315–327.
- **Camarena-Tello, J.C., Martínez-Flores, H.E., Garnica-Romo, M.G., Padilla-Ramírez, J.S., Saavedra-Molina, A., Alvarez-Cortes, O., Bartolomé-Camacho, M.C., Rodiles-López, J.O.,** 2018. Quantification of Phenolic Compounds and In Vitro Radical Scavenging Abilities with Leaf Extracts from Two Varieties of *Psidium guajava* L. *Antioxidants* 7, 34.
- **Chaouche, T.M.** (2014). contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. tlemcen, algérie. 18.
- **CHAUDHURI, SUDIP ET AL. (2007).** Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins : antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules* 41(1) : 42-48.
- **Chiolero, A., Würzner, G., Burnier, M.,** 2000. Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques [Selective inhibitors of type 2 cyclooxygenase: less renal effects than the classical non-steroidal anti-inflammatory agents]. *Néphrologie* 21, 425–430.
- **Collin, S., et Crouzet, J.** (2011). Polyphénols et procédés. paris, france. 66
- **Correa, M.G., Couto, J.S., Teodoro, A.J.,** 2016. Anticancer Properties of *Psidium guajava* - a Mini-Review. *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP* 17, 4199–4204.
- **Cowan M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12 (4): 564-82.
- **Crozier, A., Clifford, M.N., et Ashihara, H.**(2006). plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet. 12.
- **Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J.,** 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356.
- **Daswani, P.G., Gholkar, M.S., Birdi, T.J.,** 2017. *Psidium guajava*: A Single Plant for Multiple Health Problems of Rural Indian Population. *Pharmacogn. Rev.* 11, 167–174.

- **De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., Manley, M.,** 2002. Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as In Vivo Antioxidants of Wine. *South Afr. J. Enol. Vitic.* 23, 48–61.
- **Decker, E.A., Xu, Z.,** 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technol. USA.* 62,53-85.
- **Deguchi, Y., Miyazaki, K.,** 2010. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of guava leaf extract. *Nutr. Metab.* 7, 9.
- **Denny C., Melo P.S., Franchin M., Massarioli A.P., Bergamaschi B.K., Alencar S.M., et Rosalen L.P.** (2013). Guava pomace: a new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13 (09) : 235.
- **Desmier, T.,** 2016. Les antioxydants de nos jours : définition et applications = Antioxidants today : definition and applications. Limoges.88.
- **Dewi, P., Sutjiatmo, A.B., Nurdiansyah, A.,** 2013. Antidiarrheal Activity of Water Extracts of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) and Water Extracts of Green Tea Leaves (*Camellia sinensis* L.) Combination in Swiss Webster Mice. 145,132-159.
- **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E., Hamdaoui M., et Fattouch S.** (2011). Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of tunisian date syrup (*Rub El Tamer*) polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (1): 402-6.
- **Díaz-de-Cerio, E., Verardo, V., Gómez-Caravaca, A.M., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A.,** 2017. Health effects of *Psidium guajava* L. leaves: an overview of the last decade. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 897.
- **Dorward, D.A., Lucas, C.D., Rossi, A.G., Haslett, C., Dhaliwal, K.,** 2012. Imaging inflammation: molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacol. Ther.* 135, 182–199.
- **Esho B.A., Samuel B., Akinwunmi K.F., Oluyemi W.M.** (2021). Membrane stabilization and inhibition of protein denaturation as mechanisms of the anti-inflammatory activity of some plant species. *Trends Pharm. Sci.* (7), 269–278.
- **Espié, E., Mariani-Kurkdjian, P., Filliol, I., Vaillant, V., de Valk, H.,** 2008. Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France: aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. *Rev. Francoph. Lab.* 2008, 59–65.
- **Eymard, S.,** 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés.126-135.
- **Fabre, G., Bayach, I., Berka, K., Palonciová, M., Starok, M., Rossi, C., Duroux, J.-L., Otyepka, M., Trouillas, P.,** 2015. Synergism of antioxidant action of vitamins

E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem. Commun. Camb. Engl.* 51, 7713–7716.

- **Farag, R.S., Abdel-Latif, M.S., Abd El Baky, H.H., Tawfeek, L.S.,** 2020. Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. *Biotechnol. Rep.* 28, e00536.
- **Fathilah, A.R.,** 2010. Piper betle L. and Psidium guajava L. in oral health maintenance 8.
- **Favier, A.,** 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64, 390–396.
- **Favier, A.,** 2003. Le stress oxydant. *L'actualité Chim.* 108, 863–832.
- **Fernandes T.G., Carneiro de Mesquita A. R., Perrelli Randau K., Franchitti A. A., et Azevedo Ximenes E.** (2012). In vitro synergistic effect of Psidium guineense (Swartz) in combination with antimicrobial agents against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains. *The Scientific World Journal* 01-07 (3).
- **Fetni S. et Bertella N.** (2020). In vitro study of anti-inflammatory properties of methanolic extract fruits from Rosa canina L. (Rosaceae). *Nutrition & Santé* 09 (02) : 117-25.
- **Freitas M.V., Netto Rde C., Da Costa Huss J.C., De Souza T.M., Costa J.O., Firmino C.B. Et Penha-Silva N.** (2007). Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicology in Vitro*, 22(1), 219–224.
- **Funaro, A., Ortolan, E., Bovino, P., Lo Buono, N., Giulia, N., Parrotta, R., Ferrero, E., Malavasi, F.,** 2009. Ectoenzymes and innate immunity: The role of human CD157 in leukocyte trafficking. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 14, 929–43.
- **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, 835–841.
- **Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z.,** 2003. Espèces réactives de l'oxygène 6.
- **Gashe, F., Shibeshi, A., Gebre-Mariam, T.,** 2012. Evaluation of Antimicrobial and Anti-inflammatory Activities and Formulation Studies on the Leaf Extracts of Psidium guajava L. *Ethiop. Pharm. J.* 28.
- **Ghedadba N., Hambaba L., Ammar A., Mohamed-Cherif A., Bousselsela H., Oued-Mokhtar S.** (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et

antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. *Phytothérapie* 13, 118–129.

- **Ghedira, K.** (2005). les flavonoides: structure , propriétés biologiques, rôle prophylactique et emploi en thérapeutique. tunisie.162-169.
- **Govindappa M., Sravya S.N., Poojashri M., Sadananda T.S., Chandrappa C.P., Santoyo G., Sharanappa P et al.** (2011). Antimicrobial, antioxydant and in vivo anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L) Hitchc. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(24), 5718-5729.
- **Gupta, G., Chahal, J., Arora, D.,** 2011. *Psidium Guajava* Linn: Current Research and Future Prospects. *J. Pharm. Res.* 04, 42–46.
- **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.
- **Haddouchi, F., Chaouche, T.M., Halla, N.,** 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d’Algérie. *Phytothérapie.* 1-35.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., Chapelle, J.-P.,** 2007. Le stress oxydant. *Rev. Médicale Liège* 62.
- **Halliwell, B.,** 1991. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? *Drugs* 42, 569–605.
- **Heuzé, V., Tran, G., Bastianelli, D., Lebas, F.,** 2015. *Guava (Psidium guajava)*.
- **Hostettmann K., et Marston A.** (1995). *Saponins. Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Cambridge University Press.*
- **Jamieson, S., Wallas, C., Das, N., Bhattacharyya, P., et Bishayye, A.** (2021). *Guava (Psidium guajava L.): a glorious plant with cancer preventive and therapeutic potential.*01-32
- **Jdrzejczak, P., Collin, M.N., Jesionowski, T., et Klapiszewski, L.** (2021). the rolr of lignin and lignin based materials in sustainable construction a comprhensive review. irland.624-650.
- **Joseph, B., Priya, M.,** 2011. *Phytochemical and Biopharmaceutical Aspects of Psidium guajava (L.) Essential Oil: A Review.* *Res. J. Med. Plant* 5. 432-442
- **Kamath, J.V., Rahul, N., Kumar, C.A., Lakshmi, S.M.,** 2008. *Psidium guajava L: A review.* *Int. J. Green Pharm. IJGP* 2.
- **Kempf, I., Zeitouni, S.,** 2012. Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathol. Biol.* 60, e9–e14.

- **Kim, J.H., Campbell, B.C., Mahoney, N., Chan, K.L., Molyneux, R.J., et Balajee, A.**(2010). augmenting the activity of antifungal agents against aspergilli using structural analogues of benzoic acid as chemosensitizing agents.817-824.
- **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.
- **Kortenska, V.D., Yanishlieva, N.V., Kasaikina, O.T., Totzeva, I.R., Boneva, M.I., Russina, I.F.,** 2002. Phenol antioxidant efficiency in various lipid substrates containing hydroxy compounds. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 513–519.
- **Krizova, L., Dadakova, K., Kasparovska, J., et Kasparovsky, T.** (2019). Isoflavones.01-28.
- **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.
- **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.
- **Leelaprakash G., et Dass S. M.** (2011). In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma Axillare*. *International Journal of Drug Development & Research* 3 (3), 189-196.
- **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.
- **Lesueur D., Rocca Serra de D., Bighelli A., Hoi T.M., Ban N.K., Thai T.H., Casanova J.** (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Michelia feveolata*. *Flavour Fragr*, 22(01) : 317-321.
- **Leverve, X.,** 2009. Stress oxydant et antioxydants ? *Cah. Nutr. Diététique, Antioxydants* 44, 219–224.
- **Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., Zhou, D.,** 2014. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol.* 9, 1071–81.
- **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.
- **Louerrad, Y., Haddi, R., & Kaid, H. M.** (2016). Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scoparium* Pomel. *J. Biores. Val*, 1, 28-33.

- **Luca, S. V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Wozniak, K.S., Aprotosoia, A.C., et Trifan, A.** (2019). bioactivity of dietary polyphenols: the role of metabolites.01-09.
- **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.
- **Marc, Françoise, Andre Davin, Laurence Deglene-Benbrahim, Carine Ferrand, Michel Baccaunaud, et Pierre Fritsch.** (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences* 20 (4) : 458-63.
- **Manaargadoo-Catin M.** (2015). Etude des interactions entre les cellules sanguines et les tensioactifs. 335.
- **McCord, J.M., Fridovich, I.,** 1988. Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Radic. Biol. Med.* 5, 363–369.
- **Metwally, A., Omar, A.A., Ghazy, N.M., Harraz, F., El Sohafy, S.,** 2011. Monograph of *Psidium guajava* L. leaves. *Pharmacogn. J.* 3, 89–104.
- **Mittal, P., Gupta, V., Kaur, G., Garg, A.K., Singh, A.,** 2010. Phytochemistry and pharmacological activities of *Psidium guajava*. *IJPSR* 1, 9–19.
- **Moreira L., Dias T., Dias L. G., Rogão M., Da Silva J. P., et Estevinho M. L.** (2011). Propolis influence on erythrocyte membrane disorder (Hereditary Spherocytosis): A First Approach. *Food and Chemical Toxicology* 49 (2), 520-26.
- **Moualek I.** (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. 176.
- **Mukhtar, H.M., Ansari, S.H., Ali, M., Naved, T., Bhat, Z.A.,** 2004. Effect of water extract of *Psidium guajava* leaves on alloxan-induced diabetic rats. *Pharm.* 59, 734–735.
- **Nathan, C.,** 2002. Points of control in inflammation. *Nature* 420, 846–852.
- **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.
- **Nwinyi O. C., Nwodo S. C. et Ajani Olayinka O.** (2008). Evaluation of antibacterial activity of *Psidium guajava* and *Gongronema Latifolium*. *Journal of Medicinal Plants Research* 2(8), 189-192
- **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.

- **Ojewole, J.A.O., Awe, E.O., Chiwororo, W.D.H.**, 2008. Antidiarrhoeal activity of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rodents. *J. Smooth Muscle Res. Nihon Heikatsukin Gakkai Kikanshi* 44, 195–207. <https://doi.org/10.1540/jsmr.44.195>
- **Osei Akoto C., Acheampong A., Boakye Y. D., Naazo A. A., et Adomah D. H.** (2020). Anti-inflammatory, antioxidant, and anthelmintic activities of *Ocimum Basilicum* (Sweet Basil) fruits. *Journal of Chemistry* 2020 (4), 1-9.
- **Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L.**, 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem. IJCB* 30, 11–26.
- **Pommer, C.V., Murakami, K.R.N.**, 2009. Breeding Guava (*Psidium guajava* L.), in: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M. (Eds.), *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. Springer, New York, NY, pp. 83–120.
- **Prabhudesai, A.P., Biyani, D.M., Umekar, M.J.**, 2019. *Psidium guajava*: Multipurpose Medicinal Herb. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 59, 125–132.
- **Prabu, G.R., Gnanamani, A., Sadulla, S.**, 2006. Guaijaverin -- a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J. Appl. Microbiol.* 101, 487–495.
- **Pungle R., Tambe A., More A., et Kharat A.** (2018). Anti-inflammatory and antioxidant potentiality of *solanum xanthocarpum*. *African Journal of Biotechnology* 17 (37) : 1188-95
- **Raja, P. B., Rahim, A.A., Qureshi, A.K., Awang, K.** (2014). green synthesis of silver nanoparticles using tannins.408-413.
- **Rajendran V., et LakshmiK.S.** (2008). In vitro and In vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssp *laurina*. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 3 (05) 121-124.
- **Rajesh A., Doss A., Tresina P., et Mohan V.** (2019). In-vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract of *Crotalaria longipes*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8 (01) : 1469-72
- **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.
- **Rawal, B.T., Zahran, M., Dhital, B., Akbilgic, O., et Petridis, L.** (2020). the relation between lignin sequence and it 3D structure.01-07.

- **Rezaire, A.**, 2012. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) (These de doctorat). Antilles-Guyane.
- **Rhen, T., Cidrowski, J.A.**, 2005. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N. Engl. J. Med.* 353, 1711–1723.
- **Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J.C., Krisa, S., Mérillon, J.M.** (2014). stiblène de la chimie à la neuroprotection. bordeaux, france.01-08.
- **Rishika, D., Sharma, R.**, 2012. An update of pharmacological activity of *Psidium guajava* in the management of various disorders. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 3, 3577.
- **Saleem T.M., Azeem A., Dilip C., Sankar C., Prasanth N., Duraisami R.**, (2011). Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 1, 147–149.
- **San, B., Yildirim, A.**, 2010. Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) selections. *J. Food Compos. Anal.* 23, 706–710.
- **Sánchez, S.A., Demain, A.L.**, 2015. Antibiotics: current innovations and future trends. Caister Academic Press, Norfolk, U.K.25.
- **Serhan, C.N., Ward, P.A., Gilroy, D.W.**, 2010. Fundamentals of inflammation. Cambridge University Press.14-46.
- **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.
- **Singh, R., Smitha, M.S., Singh, S.P.**, 2014. The role of nanotechnology in combating multi-drug resistant bacteria. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 14, 4745–4756.
- **Singla, K. R., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., Haddad, M.A., et al** (2019). natural polyphenol: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures.1397-1400
- **Sonar, K., Purohit, D.**, 2016. THERAPEUTIC EFFECT OF FLAVONOIDS AS ANTI- INFLAMMATORY AGENTS. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 5, 523–543.
- **Stankov, V.S.**, 2012. Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-inflammatory Strategies. *Open Inflamm. J.* 5, 1–9.
- **Stevens, C.D.**, 2010. Clinical immunology and serology: a laboratory perspective. F.A. Davis, Philadelphia.3-9.

- **Sumathi S. et Anuradha R.** (2017). In-Vitro anti-arthritis activity of methanolic extract of *Couroupita guianensis* Flower.
- **Surya, D, et R Maheswari.** (2018). Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of *Psidium Guajava* Linn Aqueous Extract. 46-57.
- **Suwalsky, Mario, José Duguet, et Hernán Speisky.** (2017). An in vitro study of the Antioxidant and Antihemolytic properties of *Buddleja Globosa* (Matico). *The Journal of Membrane Biology* 250(3), 239-48.
- **Taylor, T.A., Unakal, C.G.,** 2021. *Staphylococcus aureus*. StatPearls Internet.16,13-64.
- **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.
- **Tsao, R.** (2010). chemistry and biochemistry of dietary polyphenols.1231-1246.
- **Ullah, H., Hussain, Y., Santarcangelo, C., Baldi, A., Di minno, A., Khan, H., Xiao, J., et al.** (2022). natural polyphenols for the preservation of meat and dairy products.04-05-06.
- **Vandi, D., Nga, E.N., Betti, J.a., Etame Loe, G.M., Ottou, P.B.M., Priso, R.J., Foze, t.n., et al.** (2016). contribution des populations des villes de yaoundé et douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes.4799-4814.
- **Vyas, N., Tailang, M., Gavatia, N.P., Gupta, B.K.,** 2010. Antioxidant Potential Of *Psidium Guajava* Linn. *Int. J. PharmTech Res.* 2, 417–419.4.
- **Wang, J., Xu, J., Gong, X., Yang, M., Zhang, C., Li, M.** (2019). biosynthesis, chemistry and pharmacology of polyphenols from chinese salvia species A review. chine.10-11.
- **Wayman M. et Obiaga, T.I.**(1973). the modular structure of lignin.2102-2110.
- **Weidinger, A., Kozlov, A.V.,** 2015. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules* 5, 472–484.
- **Weill, B., Batteux, F.,** 2003. Immunopathologie et reactions inflammatoires. De Boeck, Bruxelles.235.
- **Winyard, P.G., Blake, D.R., Evans, C.H.,** 2013. Free Radicals and Inflammation. Springer.23,128-167

- **Yang G.M., Wang D., Tang W., Chen X., FanL., Zhang F., Yang H., et al.** (2010). Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Oxytropis Falcata* fractions and its possible anti-inflammatory mechanism. *Chinese Journal of Natural Medicines* 8 (4), 285-92.
- **Zimmer,N., et Cordesse, R.** (1996). influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants.167-179.

## **ANNEXES**

## ANNEXE 1

- **Tampon phosphate 0.2 M pH 6.6**

**Solution A**

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....2.40g  
 Eau distillée.....100ml

**Solution B**

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....2.84g  
 Eau distillée.....100ml

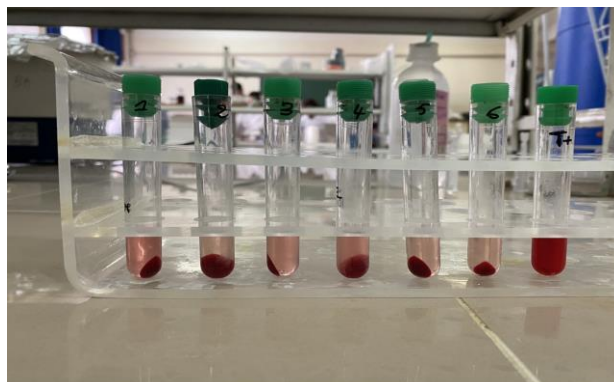
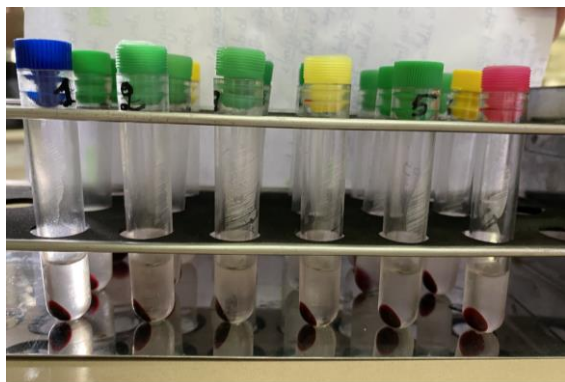
**Préparation de la solution tampon :**

Mélanger 62.5 ml de la solution A avec 37.5 ml de la solution B.

## ANNEXE 2

- **Appareillage et réactifs :**

Verrerie	Appareils	Réactifs/ solvant	Autre
-Béchers -Eprovettes -Tubes en verre -Flacons teintés -Pipette pasteur	-Centrifugeuse réfrigéré 4°C -Spectrophotomètre -Balance de précision -Agitateur magnétique -Vortex -Agitateur basculant -Bain marrie -Bec benzène -Lyophilisateur -PH mètre	- Folin -Acide gallique -Saponine -Aspirine -Ovalbumine -Tampon phosphate -Ferrocyanure de potassium -TCA -Fe Cl <sub>3</sub> -Acide ascorbique -NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Eau distillée -Colistine -Gentamicine -Acide pipemidique	-Micropipettes (10µl~100µl ; 100µl~1000µl) -Coupole -Spatule -Embouts bleues et jaunes -Cuves -Portoires en acier et en plastique -Barran magnétique -Disque de papier whatmann -Pince -Pipette pasteur -Ecouvillon -Boites de pétri -Eppendorf -Bec bunsen

**Quelques résultats du test d'activité anti-inflammatoire**

**ANNEXE 3 :** Comparaison des résultats du test d'hémolyse provoquée par stress hypotonique à différentes concentrations en NaCl

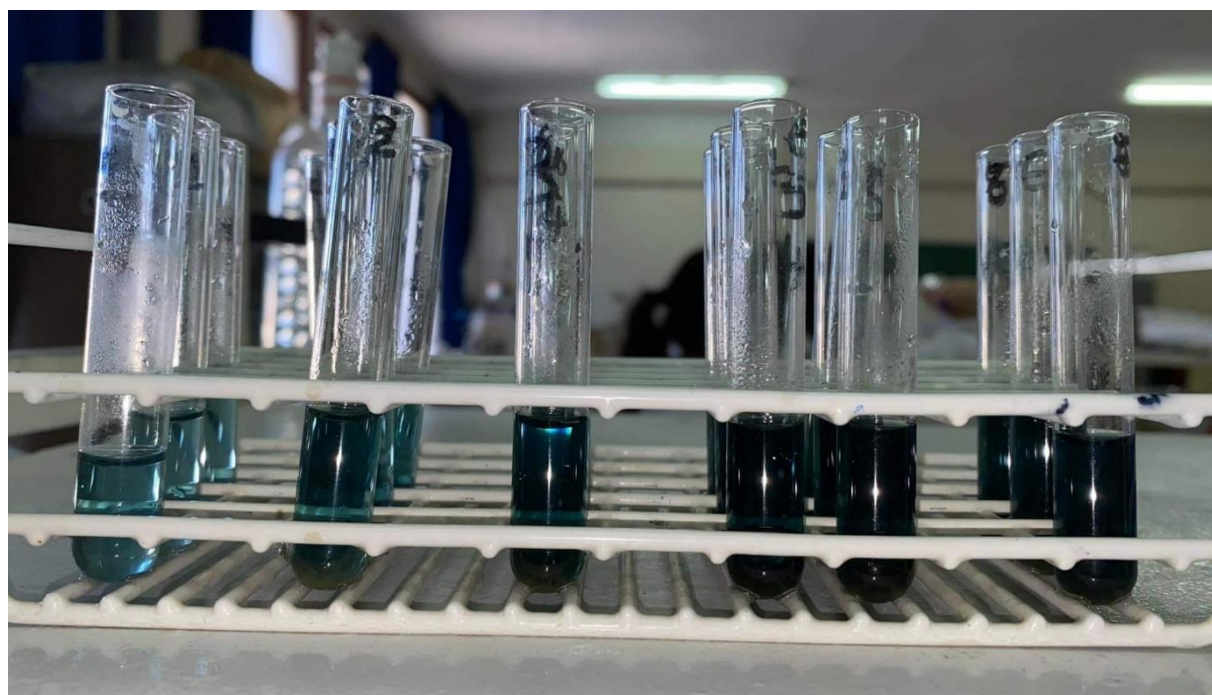


**ANNEXE 4 :** aperçue de la dénaturation de l'ovalbumine après traitement thermique

1. Résultats de l'activité antioxydante



ANNEXE 5 : aperçue des résultats de la FRAP sur pailleasse



ANNEXE 6: mise en évidence de la coloration bleue après l'oxydation des composants du réactif Folin en molybdène et tungstène (TAC).

## 2. Activité antibactérienne

### Annexe 7 Description des bactéries étudiées :

#### Les Bactérie Gram négatif

- *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae, de forme non sporulée de type anaérobie facultative. Dotée d'une mobilité conférée par ses flagelles, cette bactérie mesure entre 2 à 6µm de longueur.

L'espèce *E. coli* constitue la majeure partie de la flore microbienne du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont productrices de shiga-toxines (stx) sont très virulentes et peuvent déclencher de nombreuses infections des voies digestives ou urinaires, voire des méningites néo-natales (ESPIE et al., 2008). D'autres souches font partie des flores commensales et peuvent occasionner des infections opportunistes variées chez les sujets immunodéprimés.

- *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella* est un bacille à gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae possédant une capsule proéminente. Ce pathogène opportuniste est retrouvé dans la bouche, la peau et les intestins, ainsi que dans les milieux hospitaliers ; il affecte les personnes dont le système immunitaire est affaibli par d'autres infections ainsi que les immunodéprimés. Elle provoque chez ces individus, des infections acquises potentiellement mortelles telles que les abcès hépatiques pyogènes, des méningites, abcès nécrosants et pneumonies sévères (LI et al., 2014).

*K.pneumoniae* est formateur de biofilms qui la protègent contre les attaques immunitaires de l'hôte et des antibiotiques ; ce qui la rend chronique. Sa multirésistance est causée par la présence de B-lactamases à spectre étendu ou de carbapénème qui rendent difficile le choix d'antibiotiques appropriés pour le traitement (LI et al., 2014).

## Les bactéries Gram positif

- *Staphylococcus aureus* :

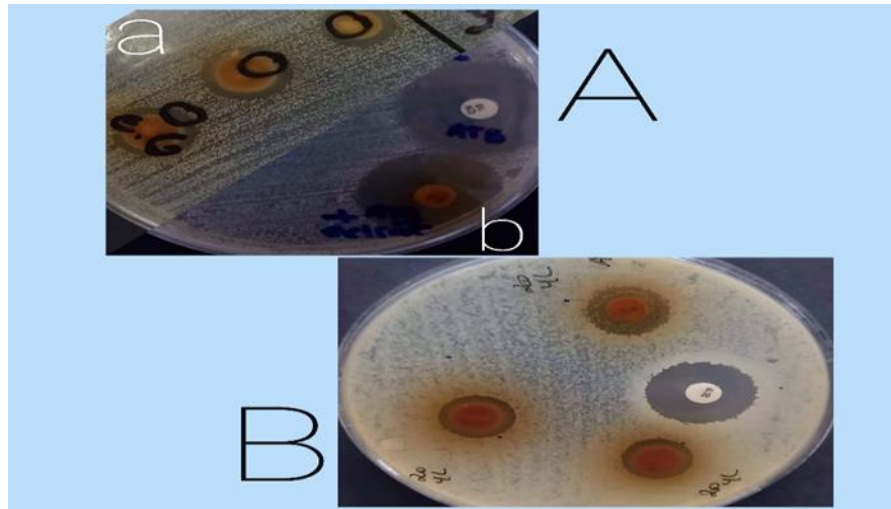
Les espèces de *Staphylococcus* sont des Cocci a gram positif de forme sphérique disposées en grappes, les colonies sont de couleur jaune (relatif a aureus qui signifie doré), elles peuvent se développer en milieu aérobie ou anaérobie facultative a des températures comprises entre 18°C et 40°C. on retrouve ces bactéries sur la peau et les muqueuses ( 15% de la population sont porteurs) les travailleurs de la santé ainsi que les patients immunodéprimés peuvent en porter jusqu'à 80% (TAYLOR et UNAKAL, 2021).

Une grande variété de maladies cliniques est causée par cette souche (méningite, ostéomyélite, diarrhée), et les traitements sont difficiles en raison de l'émergence de souches multi résistantes comme les SARM (*Staphylococcus aureus* résistants a la pénicilline). Cette résistance est due à la présence d'un gène sur le chromosome bactérien qui code pour la protéine PBP-2a ( protéine 2a liant la pénicilline), une enzyme essentielle qui catalyse la production du peptidoglycane dans la paroi bactérienne (TAYLOR et UNAKAL, 2021).

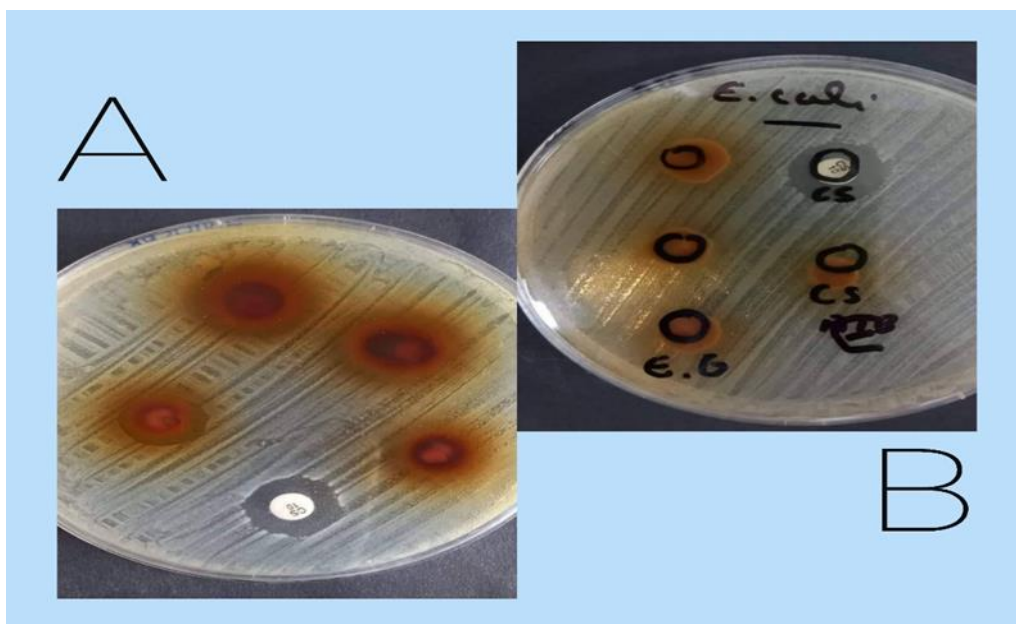
- *Bacillus cereus* :

C'est un bacille à gram positif, mobile de type aérobie ou facultativement anaérobie, formant des spores dispersées largement dans l'environnement. Elle est souvent incriminée dans les intoxications alimentaires, les maladies gastro-intestinales et une multitude d'autres affections cliniques telles que les pneumonies progressives ressemblant à la fièvre charbonneuse, les septicémies fulminantes et les infections dévastatrices du système nerveux central chez les personnes immunodéprimées (BOTTONNE, 2010).

La pathogénicité de cette espèce est liée à la production d'exoenzymes destructrices des tissus, parmi elles figurent les hémolysines les phospholipases distinctes, des protéases et une toxine provoquant des vomissements. De plus, *B. cereus* produit une puissante b-lactamase lui conférant une résistance aux antibiotiques de type  $\beta$ -lactamines. Cependant elle reste sensibles aux antibiotiques de type ciprofloxacine et la vancomycine (BOTTONNE, 2010).



**Annexe 8** : Aromatogramme de souches bactériennes Gram+. **A** : *S. aureus* (**a** : effet de l'extrait sur la croissance des *S. aureus*, **b** : effet de l'ATB /ATB+ extrait sur la croissance des bactéries), **B** : *B. cereus*



**Annexe 9** : Aromatogramme de souches bactériennes Gram-. **A** : *K. pneumoniae*, **B** : *E. coli*