

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Spécialité biochimie fondamentale



Réf :

En vue de l'obtention de diplôme MASTER

Thème

**Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de
feuilles de goyavier**

Présenté par :

KASSOURI Naoual & BOUDJOU Nawel

Soutenu le 04/07/2024

Devant le jury composé de :

Président	Mr GHIDOUCHE Abderezak	MCA	U.A.M.Bejaia
Encadreur	Mme AOUDIA Hassiba	MCB	U.A.M.Bejaia
Examineur	Mr ZAIDI Hicham.	MCB	U.A.M.Bejaia
Invité	Mme KOUACHI Kahina	Professeur	U.A.M.Bejaia

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude à Dieu pour nous avoir donné la force, la volonté et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail et poursuivre nos études avec succès.

*Nous remercions chaleureusement madame **AOUDIA HASSIBA** pour son encadrement rigoureux, sa patience, ses conseils précieux et sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, ainsi que pour ses encouragements constants et sa gentillesse.*

*Nous tenons également à remercier sincèrement le président monsieur **GHIDOUCHE ABDEREZAK** et l'examineur monsieur **ZAIDI Hicham** pour l'honneur de faire partie du jury lors de la soutenance.*

*Un remerciement spécial est adressé à madame **BOUDJOU Souhila** et madame **KOUACHI Kahina** pour leur assistance précieuse chaque fois que nous en avons eu besoin.*

Nos plus sincères remerciements vont à toute l'équipe du laboratoire où nous avons effectué notre travail pratique.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude envers toutes les personnes et nos amis qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Nous espérons que ce mémoire saura satisfaire le jury et honorer notre département de Biologie physico-chimique..



K.Naoual & B.Nawel -

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné à la vie,
qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite,*

*A ma
mère...*

*A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années
des études, qui a veillé à me donner l'aide,*

*A m'encourager et à me protéger, que dieu les gardes et
les protèges.*

A mon adorable sœur et mes frères

A ma très chère nièce

A tout ma famille

A mes très chers amis

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime



K.Naoual -

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné à la vie,
qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite,*

*A ma
mère...*

*A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années
des études, qui a veillé à me donner l'aide,*

*A m'encourager et à me protéger, que dieu les garde et
les protège.*

A mon adorable sœur et mes frères

A ma très chère nièce

A tout ma famille

A mes très chers amis

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime



Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction Générale..... 1

Chapitre I

Revue Bibliographique

I.1. L'inflammation et l'activité anti inflammatoire.....	4
I.1.1. Définition de l'inflammation.....	4
I.1.1.1. Facteurs et causes de l'inflammation	4
I.1.1.2. Types d'inflammation	4
A. Inflammation aigue.....	4
B. Inflammation chronique.....	6
I.1.1.3. Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	6
I.1.1.4. Les médiateurs de la réaction inflammatoire	6
I.1.1.4.1. Le système d'activation plasmatique.....	7
A. La coagulation/fibrinolyse	7
B. Le système du complément.....	7
C. Le système kinines/kallicréine.....	7
I.1.1.4.2. Les médiateurs cellulaires	7
A. Les amines vasoactives.....	8
B. Les prostaglandines et les leucotriènes	8
C. Les cytokines	8
I.1.1.5. Implication pathologique de l'inflammation.....	8
I.1.2. Les anti-inflammatoires.....	9
I.1.2.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	9
I.1.2.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	10
I.1.2.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	11
I.2. Généralités sur la goyave	12
I.2.1. Présentation du Goyavier	12
I.2.2. Description Botanique.....	12
I.2.3. Taxonomie.....	13

Sommaire

I.2.4. Origine et répartition géographique	13
I.2.5. Composition chimique de la goyave	14
I.2.6. Valeurs nutritionnelles	15
I.2.7. Les activités biologiques du goyavier	15
I.2.7.1. Activité antioxydante	16
I.2.7.2. Activité anti diarrhéique.....	16
I.2.7.3. Activité anti-microbienne et anti-parasitaire.....	17
I.2.7.4. Activité anti diabétique	17
I.2.7.5. Activité anti inflammatoire	17

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.1. Appareil et produits chimiques	20
II.1.1. Appareils utilisés.....	20
II.1.2. Produits chimiques.....	20
II.2. Matrice végétale.....	20
II.3. Méthodologie	21
II.3.1. Préparation des échantillons	21
II.3.2. Taux d'humidité.....	21
II.3.3. Rendement d'extraction	21
II.3.4. Extraction des composés phénoliques	21
A. Extraction par macération.....	22
B. Extraction par ultrasons	22
II.3.4.2. Dosage des composés phénoliques totaux	22
II.3.4.3. Dosage des flavonoïdes.....	23
II.3.4.4. Dosage des tanins condensés	23
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante	24
II.4.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	24
II.5. Evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles de goyavier	25
II.5.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation des Albumine Sérique Bovine (BSA).....	25
II.5.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique des feuilles de goyavier	25
II.5.2.1. Evaluation de la toxicité des extraits optimisés de feuilles de goyavier vis-à-vis des globules rouges	26

Sommaire

II.5.2.2. Evaluation de l'effet des extraits de feuilles de goyavier sur la stabilisation de la membrane des globules rouges.....	27
---	----

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Rendement en extrait sec	29
III.2. Teneurs en composées phénoliques.....	29
III.2.1. Teneurs en composées phénoliques totaux (CPT).....	29
III.2.2. Teneur en flavonoïdes	30
III.2.3. Teneur en tanins.....	30
III.3. Résultat du test d'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH	32
III.4. Evaluation in vitro des activités anti-inflammatoires des extraits éthanoliques des feuilles de goyavier.....	33
III.4.1. Activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de la BSA.....	33
III.4.2. Activité anti-inflammatoire in vitro vis-à-vis des globules rouges	35
III.4.2.1. Evaluation de la toxicité des extraits du goyavier vis-à-vis des globules rouges.	35
III.4.2.2. Evaluation de L'effet des extraits sur la stabilisation de la membrane des globules rouges	37
Conclusion et perspectives	40
Références bibliographiques.....	43
Annexes.....	54

Liste d'abréviation

Liste des abréviations

COX Cyclo oxygénase

BSA bovine sérum albumine

CI concentration inhibitrice

MS matière sèche

Mac extrait obtenue par macération

US20 extrait obtenue par ultrason 20%

US40 extrait obtenue par ultrason 40%

US60 extrait obtenue par ultrason 60%

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I: Teneur en composées phénolique de la goyave..... 15

Tableau II: Valeur nutritionnelle pour 100 g de feuilles de goyavier..... 15

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Les grandes étapes de la réaction inflammatoire	5
Figure 2 : Médiateurs cellulaires et biochimiques de l'inflammation	8
Figure 3 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	10
Figure 4 : Mécanisme d'action et effets des AINS.....	11
Figure 5 : Différentes parties de goyavier : arbuste, fleurs, feuilles et fruits.	13
Figure 6 : Utilisations mondiales de la goyave dans la médecine traditionnelle.....	16
Figure 7 : Teneur en composées phénoliques totaux.....	29
Figure 8 : Teneur en flavonoïdes.....	30
Figure 9 : Teneur en tanins.....	30
Figure 10 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par différents extraits de feuilles de goyavier.	32
Figure 11 : Effet des extraits testés sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de BSA.....	33
Figure 12 : Les valeurs des CI50 de l'effet d'inhibition de dénaturation de BSA des extraits et du diclofenac.....	34
Figure 13 : Evolution du % d'hémolyse en fonction des différentes concentrations d'extraits de feuille du goyavier et du diclofenac.....	37
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition (%) d'hémolyse des globules rouge en fonction des différentes concentrations des extraits et du diclofenac.	38
Figure 1 : Les valeurs des CI50 de l'effet d'inhibition d'hémolyse des globules rouges des extraits et du diclofenac.....	39

Introduction Générale

Introduction Générale

L'inflammation est un mécanisme de défense essentiel de l'organisme, visant à éliminer les agents pathogènes et à réparer les lésions tissulaires. Cependant, elle peut devenir nuisible en raison de l'agressivité ou de la persistance de l'agent pathogène, de sa localisation, de son dysfonctionnement dans la régulation du processus inflammatoire, ou du déséquilibre dans les cellules impliquées. Une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au-delà des capacités anti oxydantes des systèmes biologiques entraîne un stress oxydatif, souvent lié à des maladies inflammatoires chroniques (**Rousselet et al., 2005**).

Les traitements anti-inflammatoires conventionnels, comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), sont couramment utilisés pour gérer les effets de l'inflammation. Cependant, ces médicaments sont souvent associés à des effets secondaires indésirables, notamment des troubles gastro-intestinaux, des risques cardiovasculaires accrus et une suppression immunitaire (**Lee et Feldman, 1997**). Par conséquent, il y a un intérêt croissant pour l'utilisation de la phytothérapie, qui propose des alternatives naturelles avec potentiellement moins d'effets secondaires. Les plantes médicinales offrent une source riche en composés bioactifs pouvant moduler les processus inflammatoires de manière plus sûre et plus soutenue.

En Algérie, la phytothérapie est une pratique ancestrale intégrée dans la médecine traditionnelle. Les plantes y jouent encore un rôle crucial, bien que leur utilisation manque parfois de rigueur scientifique. Ces dernières années, de nombreuses recherches ont visé à vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes médicinales utilisées, et à établir des règles scientifiques pour leur usage (**Rahmani et al., 2016**).

Le goyavier (*Psidium guajava*.L), largement utilisé en médecine traditionnelle, est riche en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les saponines. Ces composés lui confèrent des propriétés thérapeutiques variées, notamment anti-inflammatoires et antioxydantes, ce qui le rend particulièrement intéressant pour la recherche de traitements naturels (**Gutiérrez et al., 2016**).

L'objectif de notre étude est de déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits de feuilles de *Psidium guajava* et d'évaluer leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Introduction Générale

Ce document est divisé en trois grands chapitres ;

- Le premier est une synthèse bibliographique divisée en trois parties : la première concerne l'inflammation et l'activité anti-inflammatoire ; la deuxième présente quelques généralités sur les anti-inflammatoires et la troisième partie traite des généralités sur la goyave.
- Le deuxième chapitre est le matériel et méthodes utilisés dans nos différentes expérimentations

Enfin le troisième chapitre expose des résultats obtenus et de leur discussion.

Chapitre I
Revue Bibliographique

I.1. L'inflammation et l'activité anti inflammatoire**I.1.1. Définition de l'inflammation**

L'inflammation, ou la réaction inflammatoire, est une réponse immédiate et temporaire du corps (Figure 01). Elle consiste en une série de réactions cellulaires et moléculaires localisées et périphériques, déclenchées pour contenir une agression, une infection ou un traumatisme (**Raymondjean, 2007**). Ce processus inflammatoire inclut la production de cytokines, qui ont des effets tant locaux que systémiques. La régulation de cette réaction repose sur un équilibre délicat entre les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires (**Cynober, 2000**).

I.1.1.1. Facteurs et causes de l'inflammation

La réaction inflammatoire est déclenchée suite à l'intrusion d'un agent pathogène, comme une bactérie ou un virus, ou par des lésions physiques, comme une blessure ou une piqure d'insecte. L'inflammation peut également être manifestée suite à une fausse menace comme dans le cas des réactions allergiques et les maladies auto-immunes (**Dorward et al., 2012**).

I.1.1.2. Types d'inflammation**A. Inflammation aigue**

L'inflammation aiguë est déclenchée par des pathogènes ou des produits tissulaires interagissant avec des récepteurs sur les cellules inflammatoires et épithéliales. Cela libère des médiateurs pro-inflammatoires, activant les cellules endothéliales, augmentant la perméabilité vasculaire, et facilitant l'adhésion et la transmigration des neutrophiles, ainsi que l'activation des cellules phagocytaires et des plaquettes (**Dorward et al., 2012**). Elle comporte trois phases : une phase vasculaire immédiate, une phase cellulaire, et une phase de résolution et de cicatrisation (Figure 01) (**Weill et al., 2003**).

➤ Phase vasculaire (initiation)

Elle se caractérise par des modifications de la microcirculation locale, notamment la dilatation des vaisseaux et l'augmentation de l'espace intercellulaire (**Genet et al., 1997; Raymondjean, 2007**). Cliniquement, cela se manifeste par rougeur, chaleur, œdème et douleur, sous l'effet des radicaux libres de l'oxygène, du NO et des métabolites de l'acide arachidonique (**Rousselet et al., 2005; Raymondjean, 2007**). Elle comprend trois phénomènes principaux : congestion active déclenchée par des mécanismes nerveux et des médiateurs chimiques, œdème inflammatoire résultant de l'augmentation de la pression

hydrostatique et de la perméabilité vasculaire, et diapédèse leucocytaire avec migration et accumulation des leucocytes dans le foyer lésionnel (Rousselet et al., 2005).

➤ **Phase cellulaire (amplification)**

La caractéristique principale de cette étape est la formation du granulome inflammatoire (Rousselet et al., 2005). La phase cellulaire est marquée par la formation du granulome inflammatoire, impliquant un afflux de leucocytes polymorphonucléaires, l'activation des cellules résidentes et la libération de médiateurs pro-inflammatoires (Rousselet et al., 2005; Ravat et al., 2011; Barnig, 2016). Cette étape dépend des cytokines et chimiokines, comme l'IL-8, qui attirent neutrophiles, monocytes-macrophages et lymphocytes, rendant la réponse inflammatoire variable selon le type d'agression (Cynober, 2000).

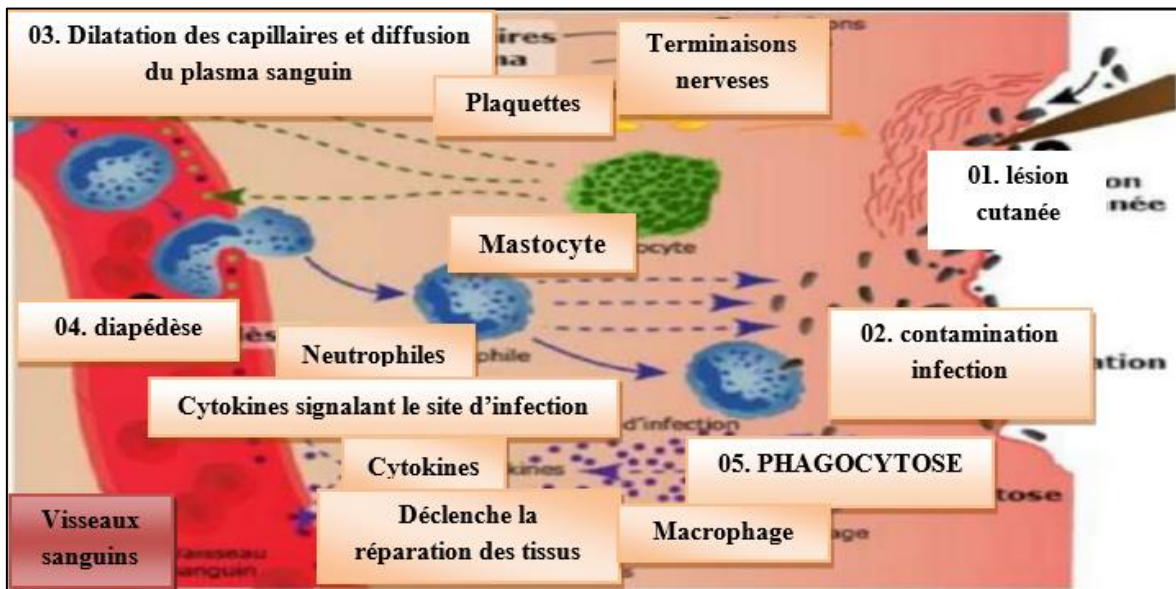


Figure1 : Les grandes étapes de la réaction inflammatoire (Ghalem, 2014).

➤ **Phase de réparation (résolution)**

La résolution de l'inflammation nécessite la production de médiateurs anti-inflammatoires et pro-résolvants (Barnig, 2016). La réparation commence par la formation de tissu conjonctif, appelé bourgeon charnu, pour remplacer les tissus endommagés. Ce processus conduit à la formation d'une cicatrice, laissant une marque définitive. Les cellules épithéliales détruites sont ensuite remplacées par la prolifération des cellules épithéliales saines autour du foyer inflammatoire (Rousselet et al., 2005).

B. Inflammation chronique

L'inflammation chronique se développe lorsque l'agression persiste ou dans des tissus soumis à des réactions auto-immunes (**Rankin, 2004**). Elle peut durer des mois, des années, voire toute la vie (**Fauve et Hevin, 1998**). Contrairement à l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires coexistent. Elle se caractérise par la destruction tissulaire et des tentatives de réparation (**Weill et al., 2003**). Les macrophages dominent l'infiltrat cellulaire, accompagnés de lymphocytes, tandis que les polynucléaires éosinophiles sont présents dans les inflammations chroniques allergiques et parasitaires (**Fauve et Hevin, 1998; Weill et al., 2003; Dombrowicz et Capron, 2007**).

I.1.1.3. Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire mobilise plusieurs types cellulaires (Figure 03) :

- **Polynucléaires neutrophiles** : Les principaux composants de l'inflammation aiguë (40-75 %), migrent vers le site inflammatoire pour phagocyter les agents agresseurs et libérer des molécules pro-inflammatoires, jouant aussi un rôle dans la réparation tissulaire (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 1999; Eming et al., 2007**).
- **Mastocytes** : Résidents des tissus conjonctifs, ils déclenchent la réaction inflammatoire en libérant des médiateurs tels que la sérotonine, l'histamine et l'héparine, et participent à la réparation tissulaire (**Williams et Galli, 2000; Eming et al., 2007**).
- **Monocytes** : Migrent vers le site inflammatoire, se différencient en macrophages pour phagocyter les agents agresseurs et libérer des médiateurs inflammatoires, participant à la réparation tissulaire (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 1999; Eming et al., 2007**).
- **Plaquettes sanguines** : Contribuent au processus inflammatoire en libérant divers médiateurs tels que le fibrinogène, le plasminogène et des protéases plasmatiques (**Steinhubl, 2007**).
- **Polynucléaires basophiles** : Contiennent des granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires, intervenant principalement dans les réactions allergiques (**Rankin, 2004**).
- **Polynucléaires éosinophiles** : Possèdent des propriétés phagocytaires, jouent un rôle dans la lutte contre les parasites et modulent la réponse immunitaire adaptative en activant les lymphocytes T (**Hogan et al., 2008**).

I.1.1.4. Les médiateurs de la réaction inflammatoire

Le déclenchement de l'inflammation implique une multitude de facteurs synthétisés localement ou systémiquement, certains étant pro-inflammatoires tandis que d'autres sont anti-inflammatoires. Un déséquilibre entre ces deux groupes de médiateurs peut conduire à

la chronicité de la réaction inflammatoire et à la destruction des tissus enflammés (**Eming et al., 2007**)

I.1.1.4.1. Le système d'activation plasmatique

Les trois systèmes plasmatiques interdépendants liés à l'inflammation sont : le système de coagulation/fibrinolyse, le système du complément et le système kinine/kallicréine (**Abbal et al., 2013**).

A. La coagulation/fibrinolyse

Pendant l'inflammation, la formation de dépôts de fibrine dans les interstitiels vasculaires et extravasculaires est fréquente. Ce processus est causé par un déséquilibre entre la formation de thrombine par le système de coagulation à partir du fibrinogène, et la formation de plasmine par le système fibrinolytique qui dégrade la fibrine (**Abbal et al., 2013**).

B. Le système du complément

Le système du complément est constitué de trente protéines ou composants qui participent à la défense antimicrobienne et à l'inflammation. Les produits d'activation du complément, tels que les toxines anaphylactiques C3a, C4a et C5a, sont des polypeptides issus du clivage de C3, C4 et C5, et sont actifs pendant l'inflammation (**Abbal et al., 2013**).

C. Le système kinines/kallicréine

Ce système est une cascade d'enzymes activée par le facteur de coagulation appelé facteur Hagemen après une lésion tissulaire. La kallikréine générée par l'activation de la prékallikréine clive le kininogène pour former de la bradykinine, un médiateur inflammatoire qui augmente la perméabilité vasculaire et provoque une vasodilatation (**Thomas et al., 2007**). La kallikréine agit également sur le système du complément en clivant C5 en C5a et C5b.

I.1.1.4.2. Les médiateurs cellulaires

La réponse inflammatoire entraîne la libération de divers médiateurs qui influencent la croissance et la résolution en agissant sur différentes cellules impliquées dans l'inflammation (Figure 02) (**Amulic et al., 2012**).

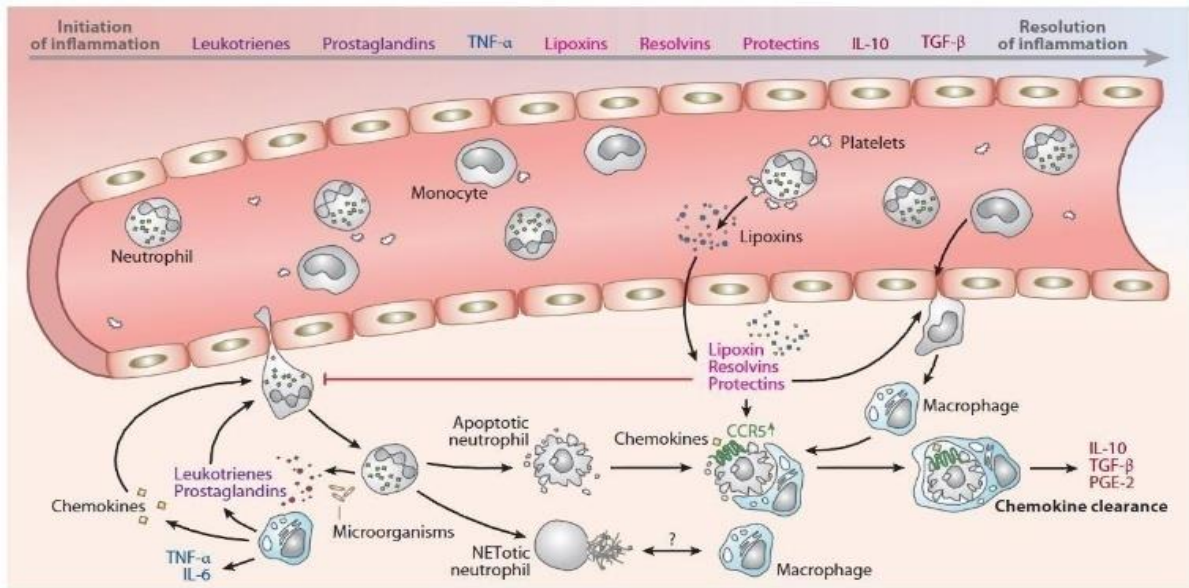


Figure 2 : Médiateurs cellulaires et biochimiques de l'inflammation (Amulic *et al.*, 2012).

A. Les amines vasoactives

La sérotonine et l'histamine sont les principaux médiateurs vasoactifs. La sérotonine, stockée dans les plaquettes sanguines et les cellules chromaffines, stimule les fibres lisses vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales. L'histamine, libérée par les mastocytes et les basophiles, joue un rôle dans la perméabilité vasculaire et l'attraction des phagocytes (Capron, 1998).

B. Les prostaglandines et les leucotriènes

Ces médiateurs, formés à partir de l'acide arachidonique, interviennent dans les processus inflammatoires en augmentant la perméabilité capillaire, en produisant une vasodilatation locale et en favorisant l'oedème et l'afflux leucocytaire (Miossec, 2003).

C. Les cytokines

Les cytokines, sécrétées par divers types cellulaires, jouent un rôle essentiel dans les communications intercellulaires au sein du processus inflammatoire (Miossec, 2003).

I.1.1.5. Implication pathologique de l'inflammation

L'inflammation, bien qu'essentielle comme mécanisme de défense, peut être problématique dans de nombreuses pathologies humaines (Meziti, 2018). Voici quelques exemples de maladies associées à l'inflammation : asthme, polyarthrite rhumatoïde, artériosclérose, arthrose, thyroïdite d'Hashimoto, maladie d'Alzheimer, eczéma, maladie de Crohn, spondylarthrite ankylosante, rectocolite hémorragique, broncho-pneumopathie

chronique obstructive, hépatite C, tuberculose, gastrite induite par *Helicobacter pylori*, dysenterie bactérienne, pneumonie virale, syndrome de septicémie, fibrose pulmonaire idiopathique, cirrhose hépatique et bilharziose (Nathan, 2002; Meziti, 2018).

Les maladies inflammatoires, souvent chroniques, peuvent entraîner le développement de cancer, diabète, maladies cardiovasculaires, ostéoporose, maladies neurodégénératives, et maladies intestinales inflammatoires (Afsar, 2011; Kada, 2018).

Ces maladies sont classées en deux catégories :

- **Maladies auto-inflammatoires** : Rares, souvent dues à un dysfonctionnement génétique entraînant une production excessive de substances inflammatoires.
- **Maladies auto-immunes** : Peuvent être systémiques (polyarthrite rhumatoïde) ou spécifiques à un organe (diabète de type 1).

Les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle majeur en amplifiant la réaction inflammatoire et en maintenant les cellules inflammatoires sur le site, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, et les maladies intestinales chroniques (Kada, 2018 Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

I.1.2. Les anti-inflammatoires

La thérapie anti-inflammatoire est essentielle pour contrôler l'excès de réaction des tissus et prévenir la transition de l'inflammation aiguë vers sa forme chronique (Muster, 2005; Adepo Apie, 2018). Les principaux médicaments utilisés sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdiens (AIS) comme les corticoïdes. Cependant, leur utilisation peut entraîner des effets secondaires graves, notamment des risques de toxicité rénale et digestive (Trabsa, 2015). Ces médicaments ciblent différents mécanismes physiopathologiques de l'inflammation, nécessitant une surveillance attentive pour minimiser les risques pour la santé (Adepo Apie, 2018).

I.1.2.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), ou glucocorticoïdes, dérivés du cortisol, sont utilisés pour atténuer des maladies inflammatoires chroniques comme l'asthme, l'arthrite rhumatoïde et les maladies inflammatoires de l'intestin (Payne et Adcock, 2001). Leur mécanisme d'action (Figure 03) implique la liaison au récepteur des glucocorticoïdes, influençant l'expression des gènes pour augmenter les protéines anti-inflammatoires et diminuer les protéines pro-inflammatoires (Barnes, 1998).

Cependant, l'utilisation prolongée et à haute dose des glucocorticoïdes peut entraîner des effets indésirables aigus (hypertension, perturbations hormonales, troubles du sommeil, ulcères gastro-duodénaux) et chroniques (ostéoporose, cataractes, prise de poids) (Henzen, 2003). Une surveillance étroite est donc nécessaire pour minimiser ces risques.

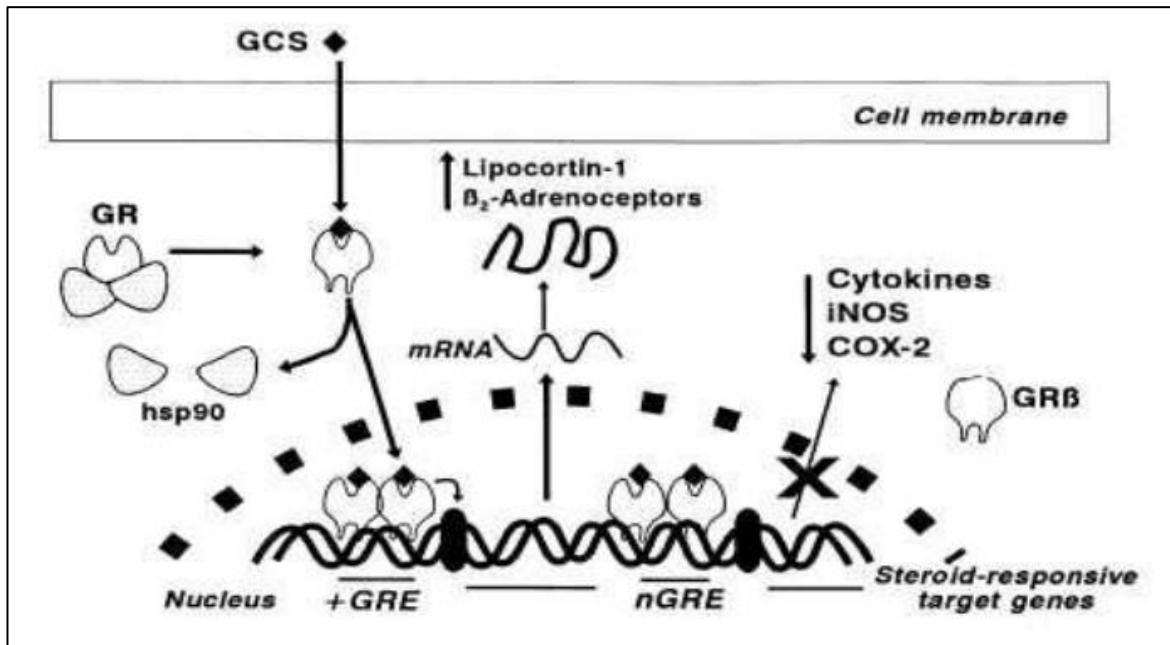


Figure 3 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

I.1.2.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Contrairement aux glucocorticoïdes, les AINS sont une classe chimique diverse utilisée pour traiter l'inflammation d'origine chimique, infectieuse ou immunologique, et sont particulièrement efficaces contre la douleur et l'inflammation (Muster, 2005). Les AINS représentent 4,5 % de la consommation médicamenteuse dans les pays industrialisés (Taïba et al., 2017). Cependant, ils sont associés à des effets indésirables, tels que des saignements gastro-intestinaux, des problèmes cardiovasculaires et une toxicité rénale (Wongrakpanich et al., 2018).

Les AINS agissent en inhibant l'enzyme cyclo-oxygénase (COX), qui convertit l'acide arachidonique en thromboxane (Figure 04), prostaglandines et prostacyclines (Vane, 1971). Il existe deux isoenzymes de la COX : COX-1, qui maintient la muqueuse gastro-intestinale, la fonction rénale et l'agrégation plaquettaire, et COX-2, exprimée lors des réponses inflammatoires. La plupart des AINS inhibent les deux isoenzymes, mais les AINS sélectifs pour la COX-2, comme le célécoxib, ciblent uniquement la COX-2, réduisant ainsi les effets secondaires gastro-intestinaux (Chaiamnuay et al., 2006).

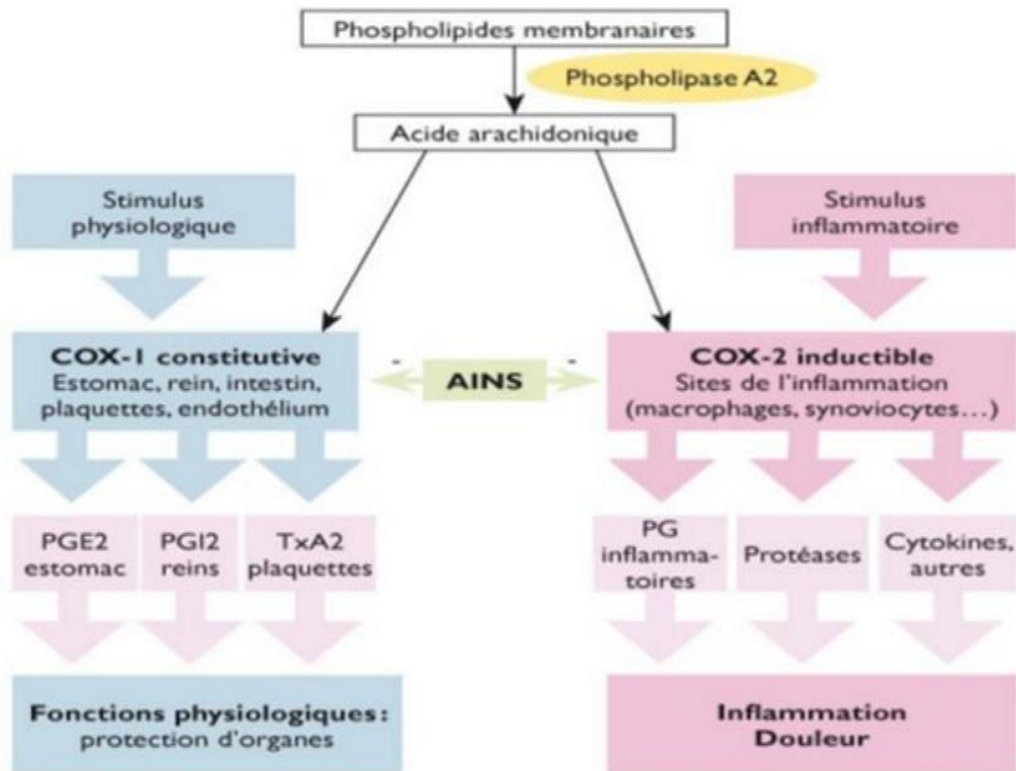


Figure 4 : Mécanisme d'action et effets des AINS (Mansour, 2015).

I.1.2.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Les anti-inflammatoires naturels ou végétaux sont des substances présentes dans la nature dont la structure chimique reste inchangée après leur extraction. De nombreuses recherches ont été menées sur ces substances d'origine végétale, qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires grâce à leurs molécules bioactives. Ces composés naturels sont utilisés pour traiter diverses maladies inflammatoires (Bourkhiss et al., 2010).

Les plantes offrent une large gamme de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tannins, les polyphénols, qui ont montré des effets anti-inflammatoires. Par exemple, les feuilles de goyave (*Psidium guajava*) possèdent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes, les rendant utiles dans diverses applications thérapeutiques pour traiter des infections et réduire l'inflammation.

I.2. Généralités sur la goyave

I.2.1. Présentation du Goyavier

Le goyavier, également connu sous le nom scientifique de *Psidium guajavan* est un arbre fruitier de la famille des Myrtacées qui regroupe la muscade, la girofle, l'eucalyptus...etc. (Bourgeois et al., 1998). Le fruit « pomme des tropiques » communément appelé goyave est considéré parmi les fruits tropicaux les plus riches en valeurs nutritionnelles et le plus apprécié dans le monde avec un taux de productivité très élevé et un rendement économique très satisfaisant (Gill, 2016). Le genre *Psidium* comprend 150 espèces et une centaine de variétés mais seulement 20 d'entre elles produisent des fruits consommables et répartis dans les régions tropicales et chaudes du monde (Afrique, Asie et Australie) (Nogueira et al., 2014).

I.2.2. Description Botanique

Le goyavier est un arbre fruitier de petite taille, qui mesure en moyenne 7 m de hauteur et pouvant atteindre dans des conditions d'humidité élevées 10m de haut et 20cm de diamètre (Heuze et al., 2015). Son tronc tortueux et lisse est fait de bois dur et son écorce brun-verdâtre s'exfolie. Il existe environ 150 variétés d'arbustes qui se distinguent selon la couleur, la taille et la forme du fruit de rond à ovoïde en forme de poire (Prance., 2003).

Les feuilles sont aromatiques de forme oblongue de 15 cm de long et 7 cm de largeur, de couleur verte avec un apex aigu et ovale. Elles sont couvertes d'un fin duvet sur la face inférieure et une nervure médiane est plus proéminente sur cette face (Metwaly et al., 2011).

Les fleurs sont un peu voyantes à 5 pétales blanchâtres de 2 cm de long et de nombreuses étamines (Prabhudesai et al., 2019).

Le fruit est de forme ronde ou ovoïde, mesurant 3 à 10 cm de diamètre avec un poids de 50 à 80 g. Il présente une peau mince et molle, de couleur vert ou jaune à maturité et une pulpe interne d'épaisseur variable blanche, rose, saumon, jaune ou encore orange (Bourgeois et al., 1998) de consistance légèrement crémeuse et une saveur parfumée et acidulée évoquant à la fois celle de la pêche et de la fraise (Guillouty., 2016). A l'intérieur de la pulpe se trouvent de nombreuses petites graines en forme d'haricot possédant une coque très dure (Prabhudesai et al., 2019).

La figure 05 regroupe les différentes parties énumérées ci-dessus du goyavier.



Figure 5 : Différentes parties de goyavier : arbuste, fleurs, feuilles et fruits
(fr.m.wikitionnery.org).

I.2.3. Taxonomie

Classification scientifique de la goyave selon **Tensaout et Gaoua (2018)** :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : Psidium

Espèce : Psidium Guajava

I.2.4. Origine et répartition géographique

Originaire de l'Amérique centrale, le goyavier est de nos jours cultivé dans de nombreuses régions. Cet arbre a envahi totalement certaines îles d'Océanie (Tahiti) et s'est réparti, à l'état sauvage est cultivé au Mexique, aux Antilles, dans le Guatemala, le Brésil, la Thaïlande, le Pérou et la Chine (**Singh, S et al., 2011**). En Afrique, le goyavier s'est installé sous forme de petits îlots forestiers à travers les savanes côtières de la Côte d'Ivoire et la zone Soudanaise qui demande par contre plus de soins.

En Algérie, le goyavier a été introduit par les français au jardin botanique de l'ancienne école d'agriculture de Philippeville (Skikda) en 1952. A l'époque un seul arbre était planté sans identifier sa variété suivie en 2010 par la plantation de de trois autres arbres réussis dans le même jardin (**Bouchoukh., 2021**). D'autre part, certains affirment que ce fruit a été introduit en Algérie directement du Moyen-Orient, d'autres pensent qu'il a été ramené d'Amérique Latine par les colons. Par ailleurs, cet arbre a été introduit à la fin des années 1970 à titre d'expérimentation et se trouve dans certaines maisons coloniales situées à Fouka comptant deux goyaviers dans leurs jardins. En 1978, un verger de 2 hectares a été créé au niveau d'un ex-domaine agricole social (Das) à Fouka, qui relevait à l'époque de la wilaya de Blida, qui porte aujourd'hui le nom de Domaine M'seguem-Abdelkader, sur la route de Douaouda. Abandonné en 1987, il a été repris en 1991 par Hadj Hamada pour pouvoir préserver ce fruit exotique. Aujourd'hui cet agriculteur, récolte près de 3 tonnes par ans, commercialisés uniquement à Fouka.

I.2.5. Composition chimique de la goyave

La composition type de la goyave est difficile à établir au vu de la multiplicité de variétés, des régions ou des techniques culturelles. Les valeurs moyennes indiquent une composition globale comprenant de la peau (5%), de la pulpe (90%) et des graines (5%). L'eau est le constituant majeur avoisinant les 83% en moyenne. La goyave contient des polyphénols (Tableau I), notamment des flavonoïdes (quercétine, guayavérinen, leucocyanidine, acide gallique), qui sont responsables de couleur et des propriétés astringentes du fruit, ainsi que des composés volatils responsables de l'arôme. En 1988, plus de 154 molécules avaient été isolées et la plupart identifiées. Les plus représentatives sont des monoterpènes, des alcools terpéniques, des dérivés carbonylés (aldéhydes, cétones, esters) et un dérivé soufré (le benzothiazole). Une molécule très courante dans les Myrtacées, l'acétate de cinnamyle, semble être une des bases de l'arôme goyave (**Barbalho et al., 2012**).

Les feuilles de goyave renferment une teneur naturellement élevée en zinc et fournissent également de précieux polyphénols, flavonoïdes, tanins, et un certain nombre d'autres substances fixes, graisse, cellulose, chlorophylle et sels minéraux. (**Gutiérrez et al., 2008**).

Tableau I: Teneur en composés phénolique de la goyave (**Gutiérrez et al., 2008**)

Tannin (mg/gms)	Flavonoïde (mg/gms)	Quercétine (mg/gms)	CPT (mg EAG/gms)	Vitamine C (mg/100gms)
3,81	5,03	4,47	575,3	25

Les Graines de la goyave contiennent 14 % d'huile en poids sec, 15 % de protéines et 13 % d'amidon, des composés phénoliques et flavonoïdes dont la quercétine-3-O-β-d-(2-O-galloyl-glucoside)-4-O-vinylpropionate. Elles sont riches en acides gras polyinsaturés oméga-3, oméga-6 et surtout en fibres alimentaires (**Nimisha et al., 2013**). Toutefois, certains composés isolés sont cytotoxiques (**Gutiérrez et al., 2008**).

I.2.6. Valeurs nutritionnelles

La goyave est connue par sa richesse en fibres alimentaires, en vitamines A, C, acide folique, en sels minéraux comme le potassium, le calcium et le magnésium et les oligo-éléments (zinc fer cuivre..). Le fruit de goyave a un profil hypocalorique (Tableau II) de 68 kCal/100g de goyave vu sa teneur moyenne en sucre 8,92 g/100g représenté essentiellement par les sucres simples, et sa faible teneur des autres éléments énergétiques, un seul fruit de goyave commun (*P. guajava*) contient environ quatre fois la quantité de vitamine C en tant que orange (**Hassimotto et al., 2005**).

Tableau II: Valeur nutritionnelle pour 100 g de feuilles de goyavier. (**Hassimotto et al., 2005**).

Energie (kcal)	68g	Lipides	0.95g	Vitamine A	31 g
Glucides	8,92g	Fibres	5.4g	Vitamine C	228,3mg
Protéines	2,55g	Eau	80g	Sodium	2 mg
Fer	0,26 mg	Manganèse	0,15 mg	Zinc	0,2 mg
Magnésium	22 mg	Phosphore	40 mg	Patassium	417 mg

I.2.7. Les activités biologiques du goyavier

Le goyavier est une plante médicinale par excellence, elle est connue dans les différents pays du monde pour ses bienfaits sur la santé humaine et ses propriétés pharmacologiques. Toutes les parties de cette plante ont été exploité, y compris les feuilles en représentant la partie la plus utilisée suivie du fruit et de l'écorce (**Gupta et al., 2011 ; Barbalho et al., 2012**).

La figure 08 représente l'utilisation à travers le monde de la goyave dans la médecine traditionnelle. (Kamanth et al., 2008).

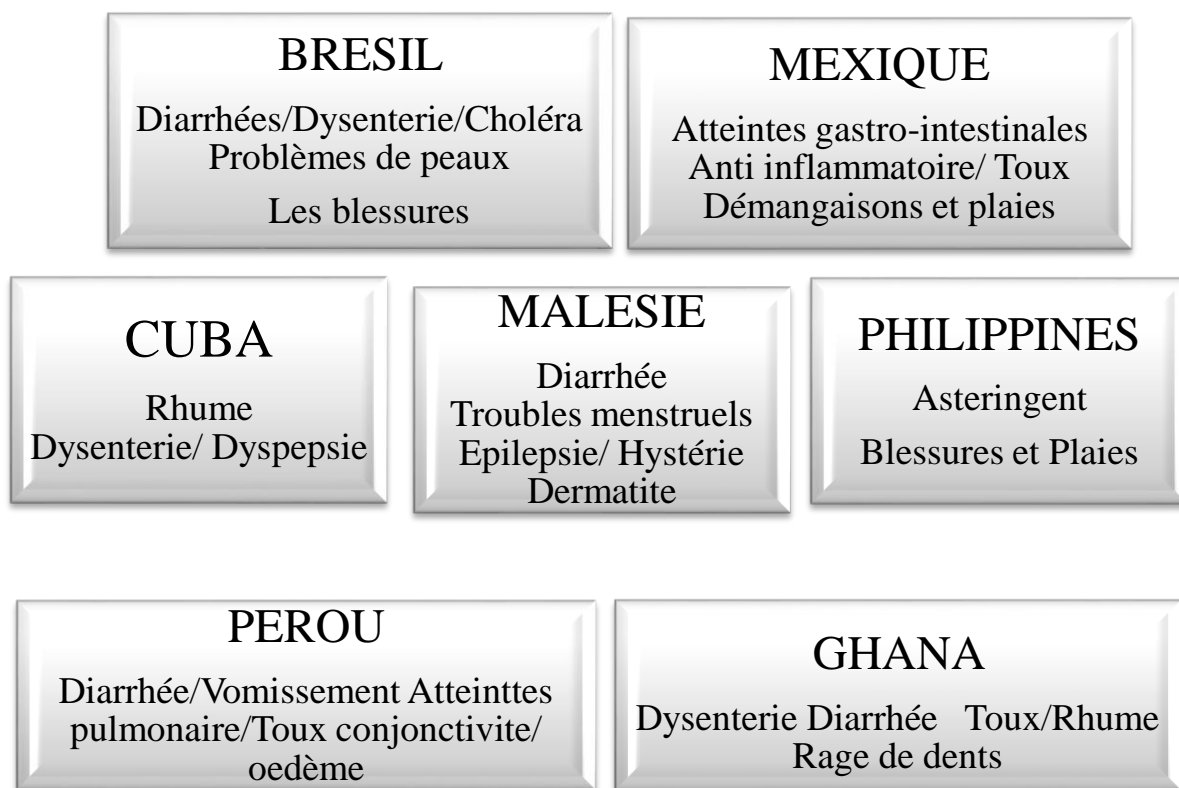


Figure 6 : Utilisations à travers le monde de la goyave dans la médecine traditionnelle (Kamanth et al., 2008).

I.2.7.1. Activité antioxydante

P.guajava est connu pour son pouvoir antioxydant (Okwu et Ekeke., 2003). Des études ont montré que l'extrait des feuilles du goyavier présente une activité antioxydante élevée. Les principes actifs sont la quercétine, quercétine-3-Oglucopyranoside, morine, acide ascorbique, caroténoïdes et polyphénols (Jimenez-Escrig et al., 2001).

I.2.7.2. Activité anti diarrhéique

La diarrhée est un symptôme digestif très fréquent le plus souvent d'origine virale, elle peut être aussi d'origine inflammatoire bactérienne ou parasitaire. Les feuilles de *P.Guajava* connues par leurs efficacité contre la diarrhée ont été utilisées pour traiter la dysenterie et les gastro-entérite (Lozoya et al., 1994 ; Ross, 1999.). Cette activité anti diarrhéique a été attribuée à une double action entre l'effet antimicrobien et anti spasmodique de l'extrait aqueux des feuilles de goyave (Ezekwesili et Nkemdilim, 2010). Une étude expérimentale

réalisés sur des rongeurs avec de l'extrait aqueux de feuilles de goyave a révélé un fonctionnement similaire aux médicaments témoins en offrant une protection ralentissant le transit intestinal et retardant la vidange gastrique. De même, il a été démontré par un test sur les lapins que l'effet antispasmodique est lié au de blocage des canaux calciques, par conséquent l'inhibition de la motilité intestinale. La protection antidiarrhéique a également été testée chez la souris (**Shah et al., 2011**).

I.2.7.3. Activité anti-microbienne et anti-parasitaire

Il a été démontré que les extraits aqueux et organiques de feuilles de goyave ont une activité antibactérienne en raison d'un effet inhibiteur contre les isolats cliniques résistants aux antibiotiques de souches de *Staphylococcus aureus*. Une étude sur l'effet des feuilles de goyave sur différentes souches bactériennes a révélé une action synergique entre les feuilles et divers antibiotiques en boostant son activité antibactérienne (**Bezerra et al., 2016**). Cet effet a également été observé par (**Betoni et al., 2006**) avec des médicaments cibles pour la synthèse des protéines, la synthèse de la paroi cellulaire et l'acide folique.

La pâte de feuille de goyavier utilisée traditionnellement pour maintenir une bonne hygiène buccale a un effet contre les bactéries à gram négatif et gram positif. Cette activité est attribuée aux flavonoïdes à la guaijaverine et à la quercétine (**Prabuet et al., 2006**). Un effet antiparasitaire a aussi été observé avec des propriétés antihelminthiques contre les nématodes gastro-intestinaux en raison de la présence de tanins condensés dans la plante de goyave. Ceci a contribué à augmenter les niveaux d'hémoglobine, le volume cellulaire emballé, les protéines totales, la globuline, le glucose et le calcium, et a abaissé les niveaux d'urée sanguine (**Jan et al., 2015**).

I.2.7.4. Activité anti diabétique

Les feuilles de *P. guajava* sont utilisées comme remèdes populaires pour le traitement du diabète en Chine et dans d'autres pays (**Braga et al., 2016**). Somans *et al.*,(2010) ont évalué le potentiel anti-glycatif des feuilles de goyavier et ont démontré que l'extrait inhibait, in vitro, la formation des produits finaux de glycation avancée. Plusieurs autres études in vivo et in vitro ont put démontrer l'activité antidiabétique des feuilles du goyavier.

I.2.7.5. Activité anti inflammatoire

La goyave est largement utilisée dans la médecine traditionnelle, elle est réputée par ses propriétés anti inflammatoire (**Gash et al., 2012**). Son action réside en sa capacité à

inhiber les prostaglandines, les kinines, l'histamine et les chimiokines intervenant dans le processus inflammatoire **(Ravi et Divyashree, 2014)**.

Brièvement, Jang *et al.*, (2006) évaluant la prostaglandine E₂ a révélé que l'effet inhibiteur était fortement corrélé à la teneur en phénols totaux des feuilles. L'extrait aqueux des feuilles de goyavier 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 **(Josef et Priya., 2011)**. Des études ont démontré que les extraits foliaires et les tiges de goyave utilisées dans la médecine traditionnelle agissaient comme des modulateurs de la réponse inflammatoire en diminuant les niveaux de la CRP **(Kwaminet *al.*, 2012)**. Laily *et al.*, (2015) ont suggéré l'utilisation de feuilles de goyave comme agent immunostimulant du fait qu'elles modulaient la réponse de prolifération des lymphocytes. De même, l'inhalation de l'huile essentielle des feuilles de goyavier inhibe la lipoxygénase ce qui explique l'amélioration de plusieurs symptômes inflammatoire de l'appareil respiratoire haute comme la toux et la congestion nasale ...etc **(El-Ahmady *et al.*, 2013)**.

Kaileh *et al.*, 2007 ont suggéré que la suppression du facteur nucléaire κ B pourrait être au niveau transcriptionnel en raison de l'absence de liaison entre le facteur nucléaire κ B et l'ADN dans le fibrosarcome murin (L929sA) et deux lignées cellulaires du cancer du sein (MDA-MB231 et MCF7). Une étude à base de l'extrait de feuille de goyave fermenté sur les cellules de macrophages de souris (RAW 264.7) a montré la capacité de cet extrait à diminuer l'expression de l'oxyde nitrique synthase inductible par les lipopolysaccharides et du niveau des protéines cyclooxygénase-2, deux médiateurs pro-inflammatoires, cela grâce à la régulation négative de l'activité transcriptionnelle du facteur nucléaire κ B (NF- κ B) **(Choiet *al.*, 2008)**. Sen *et al.*, (2015) ont vérifié l'inhibition de l'activation du facteur nucléaire κ B dans les macrophages tête-rein de *Labeorohita* par la fraction flavonoïde de l'extrait de feuille de goyave et Jang *et al.*, (2013) ont amélioré l'inhibition de la prostaglandine E induite par les lipopolysaccharides et la production d'oxyde nitrique par l'optimisation des conditions d'extraction. Les extraits méthanoliques et éthanoliques des feuilles ont également montré leurs effets bénéfiques par l'inhibition de la lyse induite par l'hypotonie de la membrane érythrocytaire. L'ensemble de ces études confirment le potentiel des feuilles de goyave en tant que traitement anti-inflammatoire et en tant qu'agent stimulant du système immunitaire.

Chapitre II
Matériel et Méthodes

Le présent travail cible l'évaluer de l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles de goyavier « *Psidium guajava* L. » obtenus via deux méthodes d'extraction. Pour ce faire deux objectifs ont été fixés :

- Extraction et dosage des composés phénoliques des extraits de feuilles de goyavier optimisés.
- Evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles de goyavier.

II.1. Appareil et produits chimiques

II.1.1. Appareils utilisés

Balance analytique, Broyeur électrique, Centrifugeuse., Etuve, Plaque agitatrice, Spectrophotomètre, PH-mètre, Tamiseur, Vortex, Bain marine et un Thermomètre.

II.1.2. Produits chimiques

Solvants	Réactifs	Standards
Ethanol pure 100%.	Carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 2%)	Acide gallique
Méthanol.	FolinCiocalteu 10%.	Quercétine.
Eau distillée	DPPH.	Catéchine.
Eau physiologique NaCl 0,9%	Persulfate de potassium	Trolox
Solution hypotonique NaCl 0,36%	BSA.	Diclofénac
	HCl	
	NaCl	
	KCl	
	Na_2HPO_4	
	KH_2PO_4	
	Tempon phosphate	

II.2. Matrice végétale

La matrice végétale utilisée dans le présent travail correspond aux feuilles de goyavier. Ces feuilles ont été récoltées durant la période octobre-novembre 2023 dans la région d'Aokas, située sur le littoral méditerranéen à 28 Km à l'est de la willaya de Béjaïa. Lechoix de cette matrice végétale repose sur la valorisation de cette espèce sur au vu de son bienfait sur la santé et usage médicinal

II.3. Méthodologie

II.3.1. Préparation des échantillons

Les feuilles de goyavier récoltées ont été bien lavées, séchées à l'air libre puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et tamisées pour retenir une granulométrie de 250 µm. La poudre obtenue a été conservée dans un flacon en verre, étiqueté et stocké à l'abri de la lumière à température ambiante.

II.3.2. Taux d'humidité

La teneur en humidité a été réalisée par la méthode de **Afroze et al., (2015)**. Une quantité de 1g de poudre des feuilles de *Psidium guajava* pesée avec précision a été déshydratée dans une étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le calcul du taux d'humidité (H%) a été établi selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{Pay - Pap}{Pay} \times 100$$

Avec : Pay et Pap, représentent le poids de l'échantillon avant séchage et après séchage (g), respectivement.

II.3.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage et définis comme le rapport entre la masse obtenue après extraction (mf) et la masse de la matière végétale utiliser (mi) il est calculer selon la formule suivante :

$$R (\%) = \left(\frac{mf}{mi} \right) \times 100$$

Avec :

R : le rendement de l'extraction (%). mf : Masse de l'extrait sec(g). mi : poids de la poudre soumise à l'extraction (g).

II.3.4. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénolique est une étape très importante en raison de leurs forte activité antioxydante, anti inflammatoire et antimicrobienne avec des applications dans des différents domaines notamment dans le domaine de la santé et de l'alimentaire. Plusieurs facteurs influencent cette extraction comme la méthode, le temps d'extraction, le solvant, la température et la concentration.

Dans la présente étude, deux méthodes d'extraction des composés phénoliques ont été utilisées : l'extraction par macération et par ultrason.

A. Extraction par macération

Dans 100mL d'éthanol 50%, 1g de poudre de feuilles a été dilué et laissé macérée sous agitation pendant 24h à température ambiante. Le mélange a été par la suite filtré sous vide sur un papier filtre pour obtenir une solution limpide et homogène. L'extrait final obtenu a été centrifugé à 6000 tours pendant 10min.

Pour la déshydratation des extrait obtenus, lyophilisation a été utilisée à raison de 30mL de filtrat dans un cristalliseur de 125mm de diamètre. Après obtention d'une couche sèche et mince, la surface du cristalliseur a été grattée et la poudre résultante a été conservée à température ambiante dans des flacons en verre préalablement lavés, stérilisés et séchés.

B. Extraction par ultrasons

L'extraction par ultrasons a été réalisée dans 3 conditions différentes. Pour cela, une quantité fixe de 3g ; 1g et 1g de poudre des feuilles de goyavier a été diluée chacune dans 100 ml d'éthanol à 45%, 61% et 50% respectivement. Les ultrasons ont été appliqués aux mélanges à travers une sonde à 20% pendant 5min, et 40% et 60% pendant 15min. Le mélange a été par la suite filtré sous vide pour obtenir une solution limpide et homogène. La solution obtenue a été centrifugé à une vitesse de 6000 tours pendant 10min.

La déshydrater de l'extrait des feuilles obtenu, a été réalisé via lyophilisation à raison de 30mL de filtrat dans un cristalliseur de 125 mm de diamètre. Après obtention d'une couche sèche et mince, la surface du cristalliseur a été grattée, la poudre résultante a été par la suite conservée à température ambiante dans des flacons en verre préalablement lavés, stérilisés et séchés.

II.3.4.2. Dosage des composés phénoliques totaux

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué en présence du réactif Folin-Ciocalteu (FC). Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). De sorte, que ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise

entre 725 nm et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ **Mode opératoire**

La détermination de la teneur en polyphénols des extraits de feuilles de goyavier a été réalisée selon la méthode décrite par Alimi *et al.*, (2011). Un volume de 2mL de Na₂CO₃ à 2 % a été rajouté à un volume de 100µL de chaque extrait (avec dilution adaptée). Le mélange résultant a été agité puis incubé pendant 2 min à température ambiante. Après incubation, 100µL de réactif du Folin-Ciocalteu dilué (50/50 v/v) ont été ajoutés au mélange. Ce dernier a été incubé à l'obscurité pendant 30min avant d'effectuer la mesure via un spectrophotomètre contre un blanc à 760 nm.

Les concentrations en phénols totaux solubles ont été déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (Annexe 1). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche (mg EqAG/g MS).

II.3.4.3. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe**

Le principe de la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium est que le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme des complexes avec les atomes d'oxygène présent sur les carbones C4 et C5 des flavonoïdes. Il résulte de cette réaction une coloration jaunâtre avec un maximum d'absorption à 430nm (Lagnika, 2005).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué selon la méthode décrite par Djeridane *et al.*, (2006). Un volume de 1ml d'une solution d'AlCl₃ à 2% a été ajouté à un volume de 1ml d'extrait (avec dilution convenable). Le mélange est homogénéisé et incubé pendant 15min à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée contre un blanc à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par référence à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec de la quercétine (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche (mg EqQ/gMS).

II.3.4.4. Dosage des tanins condensés

➤ **Principe**

Les quantités des tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se

transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500nm (Sun et al., 1998).

➤ **Le mode opératoire**

Un volume de 50 µL de chaque extrait a été mélangé avec 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v). Après agitation du mélange, 750 µL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été additionnés. Le mélange résultant a été incubé pendant 20 min à température ambiante. La lecture de l'absorbance a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/mL). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extraits (mg EQC/gE).

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

II.4.1. Piégeage du radical libre DPPH

➤ **Principe**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre instable et se stabilise en acceptant un électron ou un radical hydrogène. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leur capacité à lui donner un radical hydrogène. Cette capacité de réduction (sur le radical DPPH[•]) est déterminée par la diminution des absorbances à 517 nm, paramètre induit par l'antioxydant. Cela est visualisé par le changement de couleur du violet au jaune (Majhenič et al., 2007).

➤ **Mode opératoire**

50 µL de chaque extrait à différentes concentrations est additionné à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH préparée préalablement (24 mg DPPH dilué dans 100 mL de méthanol), pour chaque extrait un blanc est préparé contenant 50 µL d'extrait et 1950 µL de méthanol. Le mélange est ensuite incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Annexe 3) (Atoui et al., 2005).

➤ **Calcul des pourcentages d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition (I) a été calculé via la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{AC - AT}{AC} \times 100$$

Avec : Ac et AT qui représente, respectivement, l'absorbance du contrôle et du test effectué.

Les valeurs des CI50 ou la concentration inhibitrice de 50 %, correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•.ont été calculées graphiquement par les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés.

II.5. Evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles de goyavier

II.5.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation des Albumine Sérique Bovine (BSA)

La technique est menée selon la méthode décrite par Williams et *al.*,(2008). Un volume de 500µL de l'extrait des feuilles de goyavier a des concentrations allant de 280 à 2800µg/mL, Chaque concentration de l'extrait de feuilles de goyavier est mélangée séparément avec 500 µL de BSA (0,5% poids/volume(0.5g de BSA pour 100 mL de soluté) et 500 µL de Tris-HCl, puis incubée à 37°C pendant 20 min avant d'être chauffée à 70°C pendant 5 minchacune. Aprèsrefroidissement, 500µL de tris HCl ont été additionné aux solutions. L'absorbance (Abs) est mesurée en utilisant un spectrophotomètre à une longueur d'onde de660nm.

Le contrôle représente 100% de la dénaturation des protéines. L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \frac{\text{Abs de controle} - \text{Abs de l'extrait}}{\text{Abs d econtrol}} \times 100$$

II.5.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique des feuilles de goyavier

➤ Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 6 mL) ont été récupérés dans des tubes EDTA, à l'université Abderrahmane Mira de Béjaia, où la prise de sang a été effectuée sur des volontaires (18-40 ans) qui ne présente aucune maladie inflammatoire et n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

➤ Préparation du phosphate buffered saline (PBS)

Pour préparer la solution tampon de PBS à pH7,4, les composés suivants ont été utilisés avec les concentrations qui leurs correspondent : Na₂HPO₄(8mM) ; KH₂PO₄(2mM);KCl (2,7 mM) ; NaCl (137mM) (Mohan, 2006).

➤ **Préparation de la suspension des globules rouges humains 10%**

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Le surnageant a été ensuite éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique (NaCl 0,9%), jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min. La suspension érythrocytaire ainsi obtenue a été diluée 10 fois avec le PBS (1mL de culot dilué dans 9mL de solution tampon).

➤ **Préparation des extraits végétaux**

Différentes concentrations d'extraits de feuilles de goyavier (15,12 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000 µg/ml) sont solubilisées dans le PBS.

II.5.2.1. Evaluation de la toxicité des extraits optimisés de feuilles de goyavier vis-à-vis des globules rouges

Avant d'entreprendre le test de l'activité anti-hémolytique des extraits de feuilles de goyavier, un test de toxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser. En effet, 750 µL de différentes concentrations (15,12 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000 µg/mL) des 4 extraits optimisés, ainsi que du diclofénac pris comme molécule anti-inflammatoire de référence, ont été mélangées avec 750µL de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 10 min, puis centrifugé à 3000 rpm pendant 5 min. L'absorbance du surnageant a été effectuée à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant du PBS.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 750 µL de la suspension de globules rouges et 750µL de la solution hypotonique (NaCl 0,36%) a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100% d'hémolyse, respectivement. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la relation ci-dessous (Shobana et Vidhya, 2016) :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{Abst - Absb}{Absc} \times 100$$

Avec : Abst, Absb et Absc représentent, respectivement, les absorbances de l'échantillon testé, du blanc et de control (100% d'hémolyse)

II.5.2.2. Evaluation de l'effet des extraits de feuilles de goyavier sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test se base sur l'effet des extraits optimisés des feuilles de goyavier sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique NaCl 0,36% associée à une température élevée, selon le protocole établi par **Ganesh-Gadamsetty et al., 2013**.

Dans des tubes de 10mL, 250µL des 4 extraits optimisés des feuilles de goyavier avec différentes concentrations (15,12 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000 µg/ml), 750µL d'eau physiologique (NaCl 0,9%) et 01mL de la solution hypo saline (NaCl à 0,36%) ont été mélangés, puis un volume de 250µL de la solution érythrocytaire 10% a été ajouté à chaque tube. Après incubation à 37°C pendant 30min, les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture de l'absorbance du surnageant a été faite par spectrophotomètre à 560 nm.

Le contrôle consiste en un mélange de 1mL de la solution hypo saline, 1mL d'eau physiologique et 0,25 mL de la suspension de globules rouges 10%. Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire standard. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\%d' inhibition de l'hémolyse = \frac{Absc - Abst}{Absb} \times 100$$

Aves : Absc, Absb et Abst, représentent, respectivement, les absorbances de control, du blanc et de l'échantillon testé.

Chapitre III
Résultats et discussion

III.1. Rendement en extrait sec

Notre étude a révélé un rendement d'extraction de 26.6 % soit 266 mg d'extrait sec, un rendement beaucoup plus élevé que celui obtenu par ultrasons, soit un rendement qui varie de 8,74 % à 9,68 %.

Des résultats similaires ont été enregistrés par N'guessane-iré *et al.*, 2012 et Mailloa *et al.*, 2013 pour l'extrait aqueux de feuilles de goyave (9.2% et 9,88%) avec les extraits US 20%, 40% et 60% avec un rendement d'extraction de 8.74%, 8.801%, 9.68% respectivement. Tandis que comparé au rendement de l'extrait MAC (26.6%), les résultats rapportés sont largement inférieurs.

III.2. Teneurs en composées phénoliques

III.2.1. Teneurs en composées phénoliques totaux (CPT) des extraits de feuilles de goyavier.

Les résultats d'analyse statistique de la teneur en composées phénoliques totaux montrent une différence significative ($p < 0.05$) entre tous les extraits.

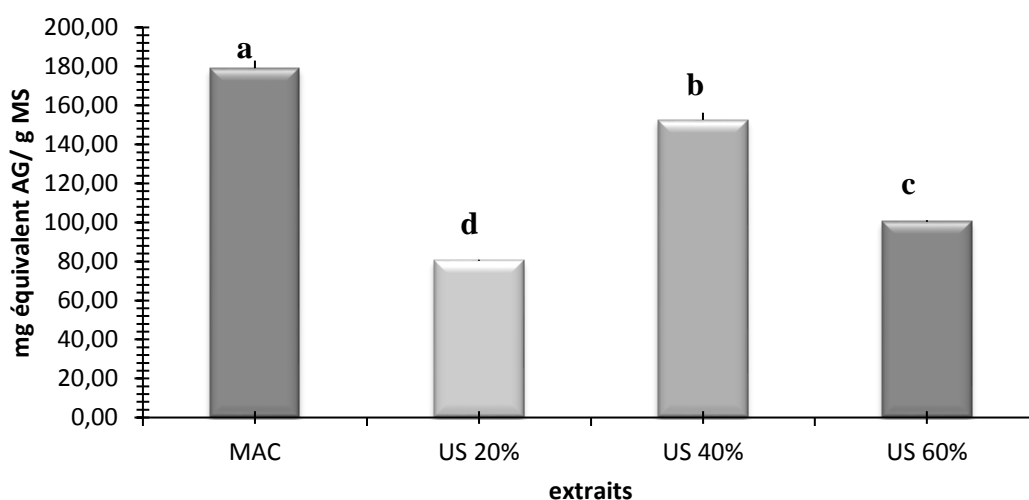


Figure 7 : Teneur en composées phénoliques totaux.

Les résultats illustrés par la figure 01 montrent que l'extrait MAC a traduit la teneur en CPT la plus élevée (179,11 mg EAG/g MS) suivi de l'extrait US 40% avec une teneur de 152,59 mg EAG/g MS, puis de l'extrait US 60% (100,34 mg EAG/g MS) et la teneur la plus faible a été observée pour l'extrait US 20% (80,33 mg EAG/g MS).

III.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes (**figure 08**) montrent que l'extrait MAC est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 4.09 mg d'équivalent quercétine/g MS tandis que l'extrait US 40% a la plus basse concentration en flavonoïdes (0.29 mg d'équivalent quercétine/g MS).

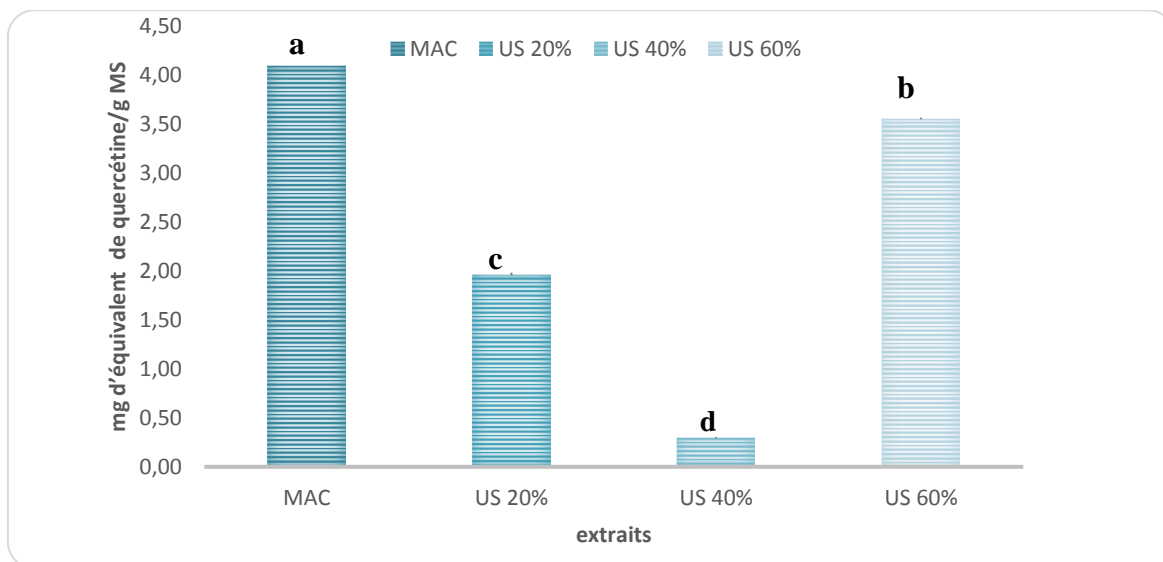


Figure 8 : Teneur en flavonoïdes

III.2.3. Teneur en tanins

Les résultats présentés dans la figure 09 révèlent une différence significative ($p < 0,05$) dans la teneur en tanins entre les différents extraits de feuilles du goyavier.

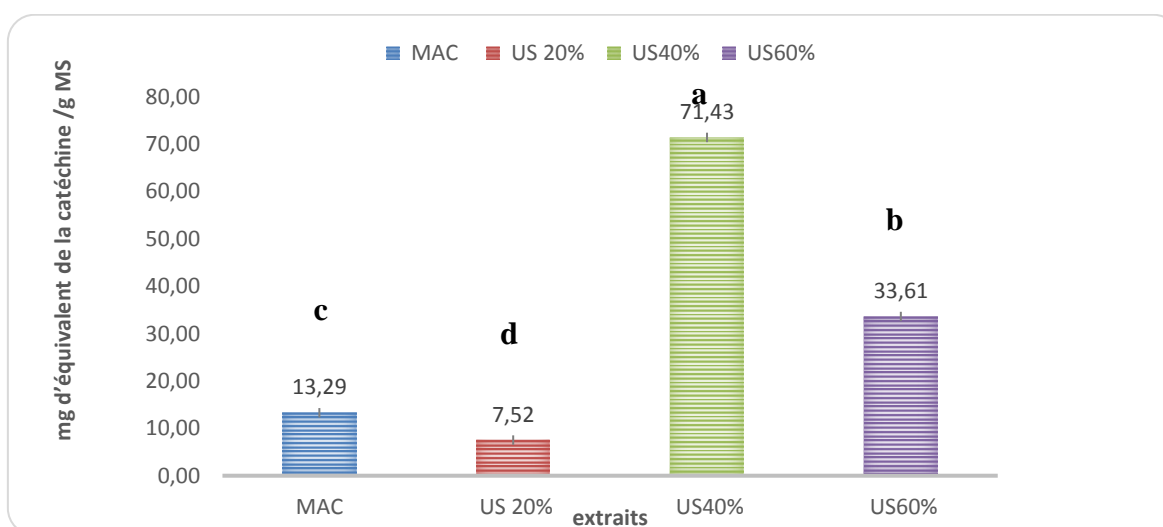


Figure 9 : Teneur en tanins.

Les données enregistrées montrent que l'extrait US 40% affiche la teneur en tanins la plus élevée (71,43 mg équivalent catéchine /g MS), tandis que l'extrait US 20% exhibe la teneur la plus faible (7,52 mg équivalent catéchine /g MS).

L'extraction des composées phénoliques à partir du matériel végétal est une étape essentielle pour exploiter ces principes actifs. Elle repose sur la sélection du solvant et de la méthode appropriée qui maintiennent leurs propriétés biologiques (**Mahmoudi et al., 2012**). La structure chimique des composées, la taille des particules de l'échantillon, le temps de l'extraction, les conditions de stockage ainsi que la présence d'interférents influencent également ce processus (**Naczk et Shahidi, 2004**).

Des études antérieures sur le dosage des composées phénoliques totaux des feuilles de goyavier réalisées par Chen et Yen (2007) ont rapporté des teneurs inférieures (166 mg Eq AG/ g) à celles enregistrées pour l'extrait MAC (178.87 mg Eq AG/ g) et sont proches de celles obtenue pour l'extrait US 40% (152,39 mg Eq AG/ g). D'autres études de Braga *et al.* (2014) ainsi que Fernandes *et al.* (2014) ont exhibé des teneurs nettement inférieures (0.77 mg Eq AG/ g et 0.26 mg Eq AG/ g respectivement) comparées aux données de tout nos extraits.

Pour les teneurs en flavonoïdes, les extraits MAC, US à 60 % et US à 20 % ont révélé des teneurs relativement élevées de 4,09 mg Eq Q/g, 3,55 mg Eq Q/g et 1,96 mg Eq Q/g respectivement. Ces valeurs sont nettement supérieures à celles rapportées par Chang (2008) pour des extraits aqueux de feuilles du goyavier (0,208 mg Eq Q/g) et dépassent également celles rapportées par Braga *et al.* (2014) et Fernandes *et al.* (2014) avec des teneurs de 0,1189 mg Eq Q/g et 0,2348 mg Eq Q/g respectivement pour des extraits éthanoliques.

Plusieurs autres auteurs ont confirmé les niveaux élevés en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes présents dans les feuilles de *Psidium guajava* (**Chen et al. 2009 ; Kawakami et al. 2009 et Jang et al. 2013**).

Des teneurs en tanins très inférieures par rapport à celles enregistrées pour nos extraits ont été rapportés par Mailoa *et al.*, (2013) pour des extraits de feuille de goyavier à l'éthanol 50%, par ailleurs d'autres teneurs supérieures (103 mg eq de catéchine /g) ont été enregistrés par Chen et Yen (2007) pour des extraits aqueux.

III.3. Résultat du test d'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH (figure 10) montrent que tous les extraits testés affichent un pourcentage d'inhibition inférieur à celui de l'acide ascorbique (88,80%) utilisée comme standard.

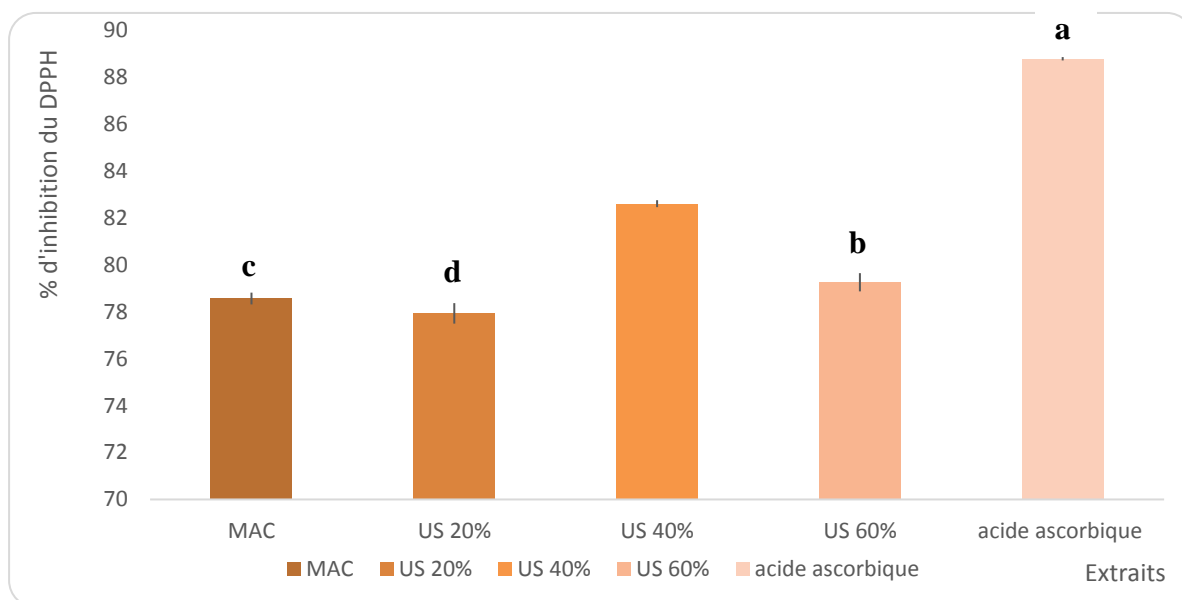


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par différents extraits de feuilles de goyavier.

Les résultats illustrés par la figure ci-dessus montrent une variabilité d'inhibition du DPPH par les extraits du goyavier. Nous notons que l'extrait US40% présente la plus haute capacité à inhiber le radical libre DPPH avec 82,62% d'inhibition, suivi par les extraits US 60% (79,26% d'inhibition), MAC (78,57% d'inhibition) et 20% (77,94% d'inhibition).

Les valeurs observées sont inférieures à celles de l'acide ascorbique, qui a montré une inhibition de 88,80%. Cela démontre que la capacité des extraits à piéger les radicaux libres est proportionnelle à leur concentration en substances antioxydantes, confirmant les principes décrits par Mahmud *et al.* (2012) et Musa *et al.* (2011).

Les résultats du pouvoir anti-radicalaire du DPPH observé par Haida *et al.*, 2011 pour des extraits aqueux de feuille de goyavier sont supérieurs (92,86%) à ceux enregistrés pour nos extraits, par ailleurs nos données sont proches de celles enregistrées pour des extraits éthanoliques (76,10%). Ceci souligne la diversité des effets antioxydants en fonction des méthodes d'extraction et des conditions spécifiques de chaque étude.

En termes de valeur de CI50, l'extrait MAC présente une valeur de CI50 de 791,50 $\mu\text{g/ml}$, tandis que les extraits par ultrasons à 20%, 40%, et 60% ont montré des CI50 de 2817,86 $\mu\text{g/ml}$, 1704,72 $\mu\text{g/ml}$ et 1228,49 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. En comparaison, l'acide ascorbique a montré une valeur de CI50 de 136,63 $\mu\text{g/ml}$, indiquant une meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres par rapport aux extraits testés.

Les résultats de différentes études antérieures confirment la variabilité des capacités d'inhibition des radicaux libres des extraits de goyavier. Selon Jani *et al.*, 2020 et You *et al.*, (2011) des valeurs de CI50 de 25,32 $\mu\text{g/ml}$, 53,83 $\mu\text{g/ml}$ et 43,46 $\mu\text{g/ml}$ ont été noté pour un extrait méthanolique, aqueux et éthanolique respectivement, des valeurs de CI50 nettement inférieurs à celles enregistrés pour nos extraits (CI50 791,50 $\mu\text{g/ml}$ à 2817,86 $\mu\text{g/ml}$) ce qui témoignent de leur faible pouvoir anti-radicalaire.

III.4. Evaluation in vitro des activités anti-inflammatoires des extraits éthanoliques des feuilles de goyavier

III.4.1. Activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de la BSA

Les résultats du test d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA (figure 11) effectué sur les extraits de feuille du goyavier ainsi que le diclofénac molécule anti inflammatoire utilisée comme référence sont illustrés par la figure. Les résultats ont montré que tous les extraits testés (feuilles du goyavier ainsi que le diclofénac) présentent un effet d'inhibition de dénaturation de BSA.

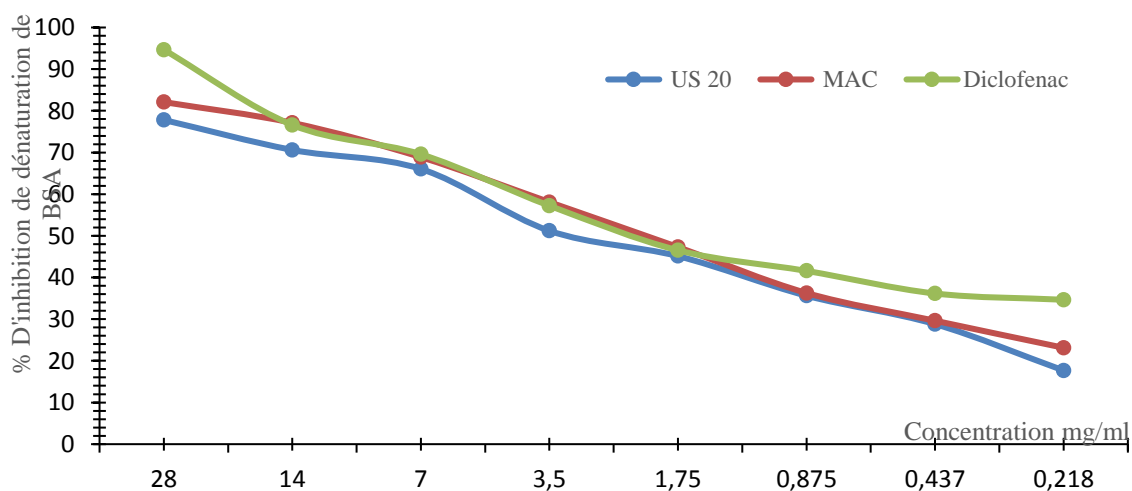


Figure 11 : Effet des extraits testés sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de dénaturation de BSA

L'effet maximum d'inhibition et de dénaturation de l'extrait par macération, à la concentration de 28 mg/ml est de 82,1%, et celui de l'extrait US 20% est de 77,81 % alors que le standard diclofénac à la même concentration enregistre une inhibition de 94,67 %. La corrélation entre la concentration et le pourcentage d'inhibition (annexe) a montré que la capacité d'inhibition de la dénaturation de la BSA dépend de la concentration de l'extrait.

Selon la figure ci-dessus le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA diminue avec la diminution des concentrations pour atteindre une inhibition de dénaturation moyenne de 20,40% à la concentration de 218µg/ml pour les deux extraits éthanoliques (macération et ultrason).

La valeur CI50 obtenue par une régression logarithmique, activité inhibitrice de dénaturation de 50%, de l'extrait MAC est de 1972,4 µg/ml, celle de l'extrait US20% d'une valeur de 2766,9 µg/ml alors que la CI50 du diclofenac est de 1221,7 µg/ml. Le paramètre de la CI50 nous donne une classification des extraits de feuille de *Psidium guajava* avec le diclofénac selon l'ordre suivant : diclofénac > Extrait MAC > extrait US 20%.

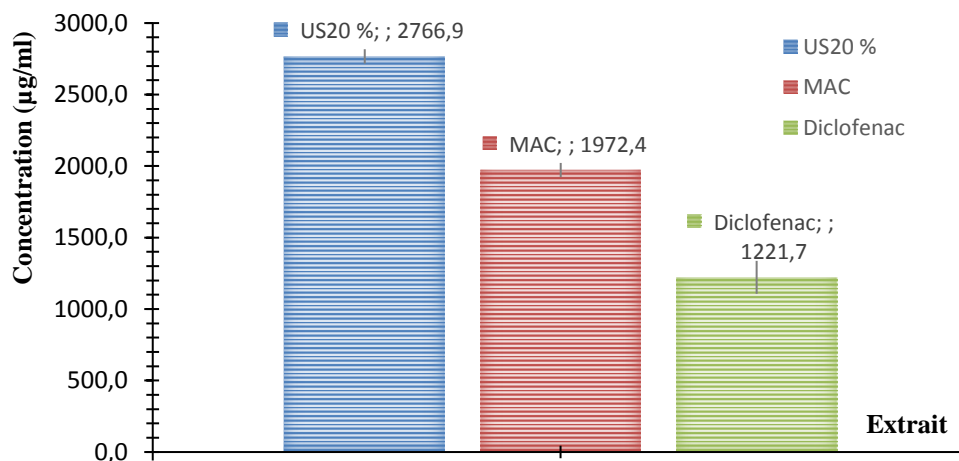


Figure 12 : Les valeurs des CI50 de l'effet d'inhibition de dénaturation de BSA des extraits de feuilles de goyavier et du diclofenac

La figure 12 montre les valeurs de CI50 de l'effet d'inhibition de dénaturation de BSA des extraits de feuilles de goyavier et du diclofenac

Ces résultats nous renseignent sur l'efficacité moindre d'inhibition de dénaturation de la protéine BSA par les extraits du goyavier par rapport à l'anti-inflammatoire synthétique le diclofenac.

Il est difficile de comparer nos résultats aux données d'autres auteurs, en raison du manque de travaux de recherche sur l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des feuilles du goyavier. Cependant, vu les résultats obtenus, on peut supposer que les feuilles de *Psidium guajava* L ont des capacités anti-inflammatoires ce qui a d'ailleurs été confirmé par les travaux de différents auteurs sur l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits de feuilles du goyavier (Weni *et al.*, 2011; Jang *et al.*, 2014).

La dénaturation des protéines se réfère à la perte de leurs structures tertiaires et secondaires en réponse à des stress externes ou à des agents comme les acides forts, les bases, des concentrations élevées de sels inorganiques, des solvants organiques ou la chaleur. Cette perte de structure entraîne généralement une perte de fonction biologique pour la plupart des protéines (Marliyah et Ananthi, 2015). Selon Chandra *et al.*, (2012) il est bien établi que la dénaturation des protéines peut provoquer une inflammation en générant des auto-antigènes, contribuant ainsi à des maladies arthritiques telles que la polyarthrite rhumatoïde. Par conséquent, l'étude de la dénaturation des protéines est couramment utilisée pour explorer les mécanismes de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Govindappa *et al.*, 2011).

Fetni et Bertella, 2020 ont rapporté que la propriété anti-dénaturation des protéines est due à la présence de deux sites de liaison dans la thréonine riche en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine des protéines, et la molécule du diclofénac pourrait également activer le récepteur riche en tyrosine couplé avec la thréonine qui régulent les voies biologiques de transduction du signal. Les composés phénoliques, tels que les polyphénols, les terpénoïdes et les tanins interagissant avec les régions aliphatiques autour du résidu lysine des protéines et sont des antioxydants avec une activité anti-inflammatoire puissante (Clemenzi *et al.*, 2018).

III.4.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro* vis-à-vis des globules rouges

III.4.2.1. Evaluation de la toxicité des extraits des feuilles de goyavier vis-à-vis des globules rouges

Les résultats de l'effet de toxicité des extraits de feuilles du goyavier vis-à-vis des globules rouges humaines sont représentés par la figure en comparaison au diclofénac molécule anti inflammatoire prise comme référence.

La figure représente les pourcentages d'hémolyse des globules rouges dans un tampon phosphate (pH 7,4) en présence des extraits de feuilles de goyavier à différentes concentrations (15.12, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$) ainsi que celui de l'anti inflammatoire synthétique le diclofénac calculés par rapport à un contrôle contenant la suspension des globules rouge à 10% dans un milieu hypotonique.

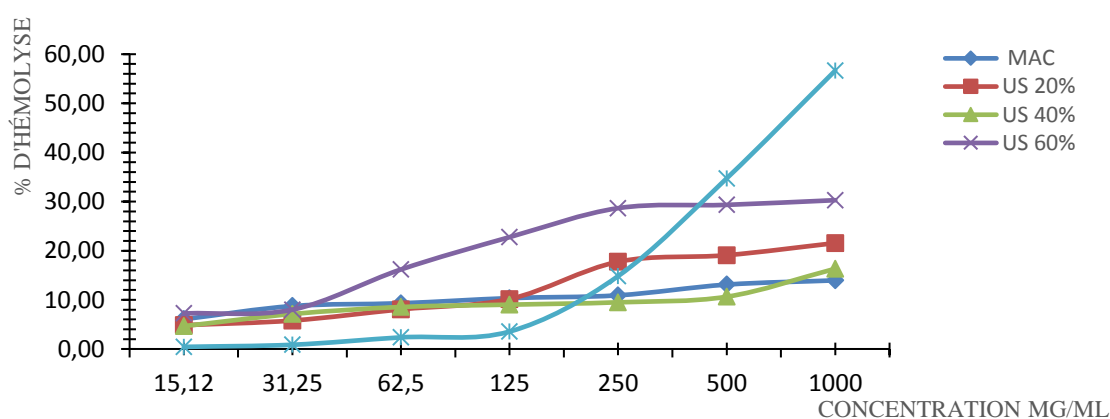


Figure 13 : Evolution du % d'hémolyse en fonction des différentes concentrations d'extraits de feuille du goyavier et du diclofénac.

Les résultats obtenus montrent un pourcentage d'hémolyse qui augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et du diclofénac testés.

La figure ci-dessus illustre un faible taux d'hémolyse aux concentrations (15.12, 31.25 et 62,5 $\mu\text{g/ml}$) pour tous les extraits avec le diclofénac, tandis qu'au-delà de la concentration de 62,5 $\mu\text{g/ml}$ le pourcentage d'hémolyse se voit augmenté d'une manière progressive pour les extraits de feuilles du goyavier alors que le diclofénac augmente d'une façon brusque et significative atteignant les 76% pour une concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Le maximum d'hémolyse due aux extraits (MAC, US20, US40) varie de 13,96 à 21,56% à la plus grande concentration testée 1000 $\mu\text{g/ml}$ alors que l'extrait US60% atteint un maximum d'hémolyse de 31,29% à la même concentration, des résultats qui reste

significativement inférieur à ceux du diclofénac qui atteint 56,67 % d'hémolyse à la même concentration.

III.4.2.2. Evaluation de L'effet des extraits sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test effectué se base sur l'effet protecteur des différentes concentrations choisies d'extraits de feuille de *Psidium guajava*. L sur la stabilisation des globules rouges, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique.

Tous les extraits ainsi que l'anti-inflammatoire de référence : le diclofenac, les concentrations choisies pour l'évaluation de leur effet anti-inflammatoire sont celles qui ont permis d'obtenir moins de 32% de toxicité.

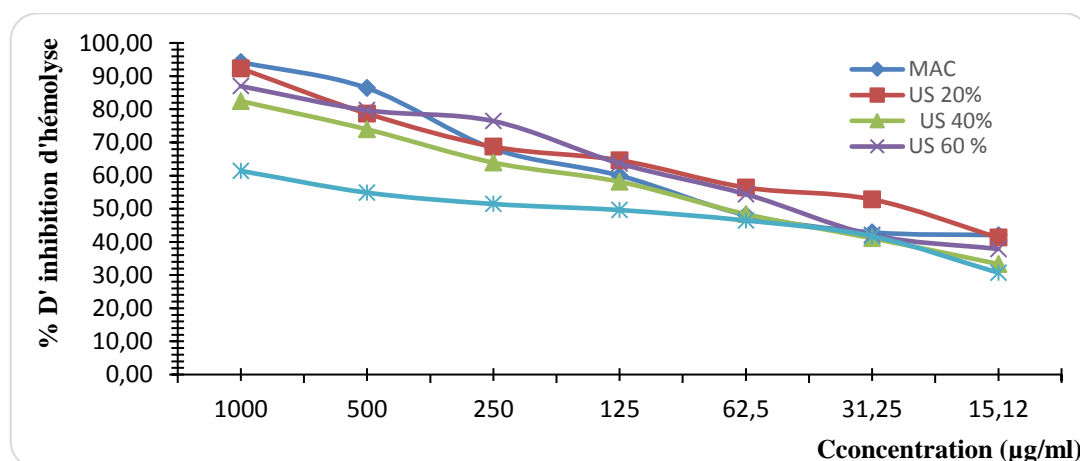


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition (%) d'hémolyse des globules rouge en fonction des différentes concentrations des extraits et du diclofenac.

Les résultats obtenus après le traitement des globules rouges par différentes concentrations d'extrait de feuille de *Psidium guajava*. L ont permis de constater une diminution en pourcentage d'inhibition (figure 14) en fonction d'une diminution des concentrations des extraits testés. Cependant, tous les extraits gardent des pourcentages de protection bien élevés et compris entre 82,46 % et 94,20% par rapport a celui du diclofenac qui n'est que de 61,42% à la même concentration (1000µg/ml).

Les résultats des CI50 des extraits de feuille de *Psidium guajava* présentés dans la figure ci-dessous, montrent des valeurs largement inférieures à celle de l'anti-inflammatoire de référence utilisée. Des valeurs de CI50 plus faibles reflètent de l'efficacité des extraits à des concentrations plus basses.

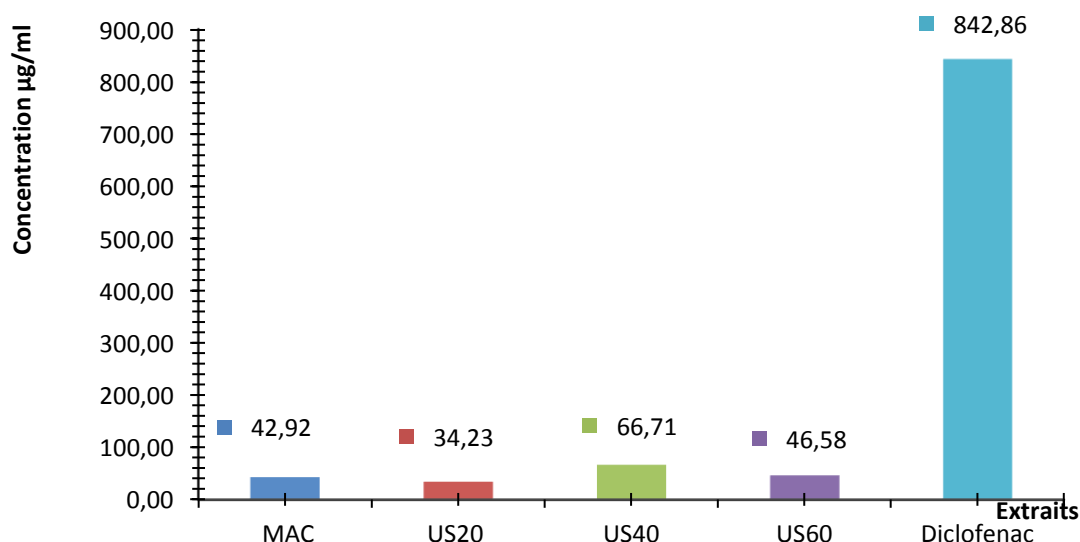


Figure 15 : Les valeurs des CI50 de l'effet d'inhibition d'hémolyse des globules rouges des extraits et du diclofenac

On observe que l'extrait US 20% est le plus efficace parmi les extraits testés avec une valeur de CI50 de 34,23 µg/ml, valeur la plus basse des CI 50, ce qui indique une activité anti-hémolytique vis-à-vis des globules rouges supérieure à celle de l'extrait MAC (43,92µg/ml) et celle du diclofenac (842,86µg/ml).

Le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains a été utilisé comme méthode *in vitro* pour évaluer l'activité anti-inflammatoire en raison de la similarité de la membrane érythrocytaire avec celle des lysosomes (*Marliyah et Ananthi., 2015*). En stabilisant cette membrane on démontre que les extraits testés ont la capacité et peuvent stabiliser également la membrane lysosomale et par la suite la limitation de la réaction inflammatoire en empêchant la libération des composants lysosomaux libérées par les neutrophiles activés tel que les bactéries les enzymes et les protéases qui provoquent l'inflammation et des dommages tissulaire. Les enzymes lysosomales libérés dans le milieu extracellulaire sont lié à des inflammations aiguës et chroniques les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent en inhibant ses enzymes ou en stabilisant leurs membranes ce qui permet de limiter l'inflammation ainsi que ses faits néfastes.

L'hémolyse et la libération de l'hémoglobine sont liée à la fragilité osmotique des membranes des globules rouges mises dans un milieu hypotonique NaCl 0.39% suite à une lyse membranaire. Ce phénomène d'hémolyse est expliqué par la différence de concentration entre le milieu hypotonique pauvre en électrolyte et le cytoplasme des globules rouges ce

qui provoque le passage des molécules d'eau à l'intérieur des globules rouges suivant le gradient de concentration selon la loi de l'osmose. L'entrée massive de l'eau dans la cellule entraîne le gonflement des globules rouges puis l'éclatement de la membrane cellulaire tout en relâchant le contenu cellulaire y compris l'hémoglobine dans le milieu.

Les extraits testés ont montrés un grand pourcentage d'inhibition d'hémolyse vis-à-vis des globules rouges grâce un effet de stabilisation de la membrane offert par leur composition riche en composés phénoliques. Selon Swalsky *et al.*, 2017, l'insertion de polyphénols en particuliers les flavonoïdes modifie la structure et la fluidité de la bicouche lipidique, cette modification offre une protection notable aux globules rouges contre l'hémolyse grâce à la formation d'une liaison lipide-polyphénols.

Ceci a été démontré par des études *in vivo* sur des extraits végétaux annonçant 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 des composés phénoliques 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**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales représentent une ressource précieuse pour lutter contre diverses maladies et infections, grâce à leur richesse en composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques et pharmacologiques spécifiques.

Psidium guajava L ou communément appelé goyavier, étant mal connu en Algérie, est une espèce tropicale qui mérite une attention particulière vu son utilisation en médecine traditionnelle. Les objectifs de la présente étude portent sur la valorisation des extraits de feuille de *Psidium guajava*. A travers cette étude nous avons tenté d'une part de doser les composés phénoliques (CPT, flavonoïdes et tanins) de cette plante et évaluer d'autre part leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Notre étude sur l'extrait de feuille du goyavier confirme sa richesse en molécules bioactives, notamment les composés phénoliques avec une teneur en composés phénoliques totaux qui varie de 80,33 mg EAG/g MS à 179,11 mg EAG/g MS. Les résultats du dosage des flavonoïdes ont montré la richesse de l'extrait par macération avec une teneur de 4.09 mg d'équivalent quercétine/g MS par rapport aux autres extraits. Tandis que l'extrait US 40% affiche la teneur en tanins la plus élevée (71,43 mg équivalent catéchine /g MS).

Utilisés in vitro, ces extraits de feuilles de *Psidium guajava* ont révélé un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire. L'évaluation de l'activité antioxydante par le test du piégeage du DPPH a montré que tous les extraits testés affichent un pourcentage d'inhibition variant de 77,94% à 82,62%.

Globalement, l'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits de feuilles de goyave a traduit un maximum d'inhibition de dénaturation de la BSA (82,1%) par l'extrait par macération, à la concentration de 28 mg/ mL. Tout les extraits ainsi que l'anti-inflammatoire de référence : le diclofenac à différentes concentrations ont permis d'obtenir moins de 32% de toxicité sur les globules rouges humains.

Les résultats des CI50 d'inhibition d'hémolyse des globules rouges par les extraits de feuille de *Psidium guajava* se sont révélés largement inférieures à celle de l'anti-inflammatoire de référence utilisée ce qui reflètent de l'efficacité des extraits à des concentrations plus basses (34,23 µg/ml).

Les résultats obtenus révèlent que les extraits de feuilles du goyavier exercent un effet anti-inflammatoire puissant, et surpassant celui de la molécule de référence diclofenac ce

Conclusion et perspectives

qui rend possible son utilisation comme un traitement alternatif dans la prévention de l'inflammation.

Afin de mieux valoriser ce travail il serait souhaitable de ;

- Explorer les différentes parties de l'arbre à savoir les graines et le fruit
- Effectuer une séparation et purification des composés phénoliques dosés
- Identifier les composés phénoliques extraits par le biais d'une HPLC
- Combiner des études in vitro avec des expériences in vivo sur des modèles animaux

Ces efforts visent à développer de nouveaux médicaments contre les maladies inflammatoires et autres pathologies tels que les processus tumoraux, exploitant ainsi les plantes médicinales pour des traitements innovants et efficaces.

Références bibliographiques

A

1. **Abbal, M. (2013).** L'immunité innée partenaire essentiel de l'immunité adaptative [Innate immunity is an essential partner of adaptive immunity]. *Medecine Sciences*, 29(4), 399-405.
2. **Adepo Apie Annick, (2018).** Présentée en vue de l'obtention du DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, Evaluation des activités anti-inflammatoire et antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae), ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUE, 8-9, 13-15.
3. **Afroze F, Tanvir H.** Proximate analysis, phytochemical screening and antioxidant activity of *Psidium guajava* leaves growing in coastal area of Bangladesh. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2015; 4(4):140-151
4. **Afsar, A. (2011).** An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6:4, 274-281.
5. **Alimi H, Hfaiedh N, Bouoni Z, Sakly M, Rhouma K.B.** Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. *Environmental toxicology and pharmacology* 2011; 32(3), 406-416.
6. **Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD and Zychlinsky A, (2012).** Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Immunol.* 30,459–89.
7. **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005).** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Nom de la revue, volume(numéro), pages.*

B

8. **Barbalho S. M., Flávia M. V. Farinazzi-Machado, Ricardo de Alvares Goulart, Brunnati A. C.S., Ottoboni A.M. B and Teixeira Nicolau C.C. (2012).** *Psidium Guajava* (Guava): A Plant of Multipurpose Medicinal Applications » in *Medicinal&Aromatic Plants*
9. **Barnes, P. J.(1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, 94(6) ,557-572.
10. **Barnig C.** Médiateurs Lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique, 2016.
11. **Begon-Pescia C. (2020).** Etude in-vitro de l'impact de la drogue ABX sur les macrophages primaires humains issus de monocytes du sang périphérique dans un contexte

Références bibliographiques

inflammatoire: Implication du micro-ARN 124. Doctoral dissertation, Université Montpellier, 21-49.

12. Betoni J.E.C., Passarelli Mantovani R., Nunes Barbosa L., Di Stasi L.C., Fernandes Junior A. Synergie entre l'extrait de plante et les médicaments antimicrobiens utilisés sur les maladies de *Staphylococcus aureus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2006; 101:387 à 390.

13. Bezerra Morais-Braga M.F., Lima Sales D., dos Santos Silva F., Pereira Chaves T., de Carvalho Nilo Bitu V., Torres Avilez W.M., Ribeiro-Filho J., Douglas Melo Coutinho H. *Psidium guajava* L. et *Psidium brownianum* Mart ex DC. potentialisent l'effet des antibiotiques contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. *Eur. J. Integr. Med.* 2016; 8:683 à 687.

14. Bouchoukh I. (2021). contribution à l'étude de quelques espèces fruitières exotiques acclimatées de la région de Skikda en Algérie. Thèse de doctorat en sciences spécialité biologie végétale. Universités Badji Mokhtar. Annaba.

15. 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).. Gill K.S. (2016). Guavas. In *Encyclopedia of Food and Health*.

16. Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*. 79, 141 –154.

C

17. Chaiamnuay, S., & Alarcón, G. S. (2006). Does obesity play a role in functional capacity and inflammation in patients with lupus? Comment on the article by Oeser et al. *Arthritis & Rheumatism*, 54(8), 2924-2925.

18. Chang Y.S. (2008). The bioactive constituents of aqueous guava budding leaf extract and their apoptotic mechanism on DU145 prostate cancer cells. M.S. Thesis, Research Institute of Biotechnology: Hungkuang University. 100 p.

19. Chen K.C., Hsieh C.L., Huang K.D., Ker Y.B., Chyau C.C., Peng R.Y. (2009). Anticancer activity of rhamnoallosan against DU-145 cells is kinetically complementary to coexisting polyphenolics in *Psidium guajava* budding leaves. *J. Agric. Food Chem.* 57(14): 6114-22.

Références bibliographiques

20. **Chen, H.-Y., & Yen, G.-C.** (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chemistry*, 101(2), 686-694.
21. **choi S.Y., Hwang J.H., Park S.Y., Jin Y.J., Ko H.C., Moon S.W., Kim S.J.** L'extrait de feuille de goyave fermenté inhibe l'expression de la COX-2 et de l'iNOS induite par le LPS dans les cellules macrophages de souris par inhibition du facteur de transcription NF-kappaB. *Phyther. Res.* 2008; 22:1030 à 1034.
22. **Clemenzi, M. N., Wellhauser, L., Aljghami, M. E., & Belsham, D. D.** (2018). Tumour necrosis factor α induces neuroinflammation and insulin resistance in immortalised hypothalamic neurones through independent pathways.
23. **Cynober L.** médiateurs de l'inflammation : contrôle par les nutriments azotés, 2000. *J. Nutr Clin Mdtabol.* Vol. 14, p. 194-200.

D

24. **Descamps-Latscha, B., & Witko-Sarsat, V.** (1999). Neutrophil polymorphonuclear leukocyte and monocyte-macrophage relationships. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 14(Suppl_1), 47-52.
25. **Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P et Vidal N.** Antioxidant Activity of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chemistry* 2006; 97, 654-660.
26. **Dombrowicz D., Capron M.** — Eosinophils, allergy and parasites. *Curr. Op. Immunol.*, 2001, 13, 716-720.
27. **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. *Pharmacology and Therapeutics*, 135; 182-199.

E

28. **El-Ahmady, S. H., M. L. Ashour, M. Wink** (2013). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Psidium guajava* fruits and leaves. *Journal of Essential Oil Research* 25 (6):475-481).
29. **Eming S A, Krieg T, Davidson J M,** (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127.

30. Ezekwesili J.O., Nkemdilim U.U., Okeke U.U. (2010). Mechanism of antidiarrhoeal effect of ethanolic extract of *Psidium guajava* leaves. *Biokemistri*.22 (2): 85-90.

F

31. 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).

G

32. 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.

33. Ghalem M., Merghache S., Belarbi M. (2014). Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal*, 6(4): 32-42.

34. Guillout, A. 2016. *Plantes médicinales et antioxydants*. Thèse de doctorat : En pharmacie, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques, Université Toulouse III Paul Sabatier, 53p.

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

H

36. Haida, S., Essadik, F. Z., Kribii, A., Habsaoui, A., Ounine, K., Benmoumen, A., & Kribii, A. (2020). Study of chemical composition of rosemary essential oil from Western Morocco and evaluation of antioxidant and antibacterial activity of its extracts. *Journal of Essential Oil Research*, 32(4), 324-331.

37. Hassimotto N.M., Genovese M.I. (2005), Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 2928–2935.

38. Henzen C, (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442,446.

Références bibliographiques

39. **Heuzé, V., Tran, G., Bastianelli, D., Lebas, F.,** 2015. Guava (*Psidium guajava*) Prance, G.T. 2003. FRUITS OF TROPICAL CLIMATES. Fruits of Central and South America. In: Caballero, B. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 2810-2816.
40. **Hogan, S. P., Rosenberg, H. F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P. S., Lacy, P., Kay, A. B., & Rothenberg, M. E.** (2008). Eosinophils: Biological properties and role in health and disease. *Clinical & Experimental Allergy*, 38(5), 709-750.

J

41. **Jan O.Q., Kamili N., Ashraf A., Iqbal A., Sharma R.K., Rastogi A.** Haematobiochemical parameters of goats fed tannin rich *Psidium guajava* and *Carissa spinarum* against *Haemonchus contortus* infection in India. *J. Parasit. Dis.* 2013;39:1-8.
42. **Jang M., Jeong S.W., Cho S.K., Ahn K.S., Kim B.K., Kim J.C.** Effets anti-inflammatoires de 4 extraits de plantes médicinales dans des cellules RAW 264.7 induites par les lipopolysaccharides. *Sciences alimentaires Biotechnol.* 2013; 22:213 à 220.
43. **Jang, M., Jeong, S.-W., Cho, S. K., Yang, H. J., Yoon, D.-S., Kim, J.-C., ... Park, K.-H.** (2014). Improvement in the anti-inflammatory activity of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts through optimization of extraction conditions. *Korea Food Research Institute; Kyung Hee University; Jeju National University; Chung-Ang University.*
44. **Jani, N. A., Ahmad Azizi, N. A., & Aminudin, N. I.** (2020). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Psidium guajava*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 24(2), 173-178.
45. **Jimenez-Escrig A., Rincon M., Pulido R, Saura-Calixto F.**(2001). Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5489-93.
46. **Joseph, B and Priya, M.R.** 2011- REVIEW ON NUTRITIONAL, MEDICINAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF GUAVA (*PSIDIUM GUAJAVA* LINN.). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 53-69

K

47. **Kada, S.** (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat en Sciences Spécialité : Biochimie. Université Ferhat Abbas Setif 1. 6-11.

Références bibliographiques

48. **Kaileh M., Vanden Berghe W., Boone E., Essawi T., Haegeman G.** Criblage des plantes médicinales palestiniennes indigènes pour une activité anti-inflammatoire et cytotoxique potentielle. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 113:510 à 516.
49. **Kamath J.V., Nair Rahul, Ashok Kumar C.K., Mohana Lakshmi S.**(2008). *Psidium guajava* L: A review, *International Journal of Green Pharmacy*, 2 (1), 9-12.
50. **Kawakami Y., Nakamura T., Hosokawa T., Suzuki-Yamamoto T., Yamashita H. and Kimoto M.** (2009). Antiproliferative activity of guava leaf extract via inhibition of prostaglandin endoperoxide H synthase isoforms. *Prostaglandins Leukot Essent FattyAcids.* 80 (5-6): 239-45.
51. **Kwamin, F., Gref, R., Haubek, D., Johansson, A.,** 2012. Interactions of extracts from selected chewing stick sources with *Aggregati bacteractinomyce temcomitans*. *BMC Res. Notes* 5, 203.

ℒ

52. Lagnika L. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg 2005; p 249.
53. **Laily N., Kusumaningtyas R.W., Sukarti I., Rini M.R.D.K.** La puissance des feuilles de goyave *Psidium guajava* (L.) en tant qu'ingrédient immunostimulant fonctionnel. *Procedia Chem.* 2015; 14:301 à 307. DOI : 10.1016/j.proche.2015.03.042.
54. Linda Weni¹, Harliansyah¹ and Widayanti² Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, YARSI University Department of Anatomy, Faculty of Medicine, YARSI University Anti-Inflammatory Activity of The Extract of Guava Leaves (*Psidium guajava* in The Rat (*Rattus norvegicus* L) Article in Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention · February 2011
55. **Lozoya X., Meckes M., Abou-Zaid M., Tortoriello J., Nozzolillo C., Arnason J.T.**(1994). Quercetin glycosides in *Psidium guajava* L. leaves and determination of a spasmolytic principle. *Arch medres. Archives of Medical Research* 25(1): 11-5.

ℳ

Références bibliographiques

- 56. M.F. Morais-Braga, J.N. Carneiro, A.J. Machado, et al.** *Psidium guajava* L., from ethnobiology to scientific evaluation: elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms.
- 57. Mahmoud I.I., Marzouk M.S., Moharram F.A., El-Gindi M.R. and Hassan A.M.** (2001). Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. *Phytochemistry*.58: 1239-1244.
- 58. Mahmoudi S., Khali M., et Mahmoudi N.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.), 2013. *J. Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*. N°09, P. 35-40.
- 59. Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., & Djide, N.** (2013). Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) variation with concentration organic solvents. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2(11), 106-110.
- 60. Majhenič, L., Škerget, M., Knez, Ž., & Mozetič Vodopivec, B.** (2011). Phenolic content and antioxidant potential of macerated white wines. *European Food Research and Technology*, 233(3), 465–472
- 61. Mansour, S.** (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthisme* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericumscarboide*-étude in vivo. Thèse Doctorat en sciences Spécialité : Biologie. Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf. Oran. 16.
- 62. Meziti, H.** (2018). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydante des extraits de *Malva parviflora* L (Doctoral dissertation).
- 63. Miossec, P.** (2003). Physiopathologie de l'inflammation. *La Revue du Praticien*, 53(5), 482-488.
- 64. Mohan, C.** (2006). Buffers. A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems.
- 65. Musa, M. S., Abdelrasool, F. E., Elsheikh, E. A., Ahmed, L. A. M. N., Mahmoud, A. L. E., & Yagi, S. M.** (2011). Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State, South-eastern Sudan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4287-4297.
- 66. Muster, D.** (2005) .Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier Paris. 21-29.

Références bibliographiques

- 67. 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.
- 68. Naczk M., Shahidi F.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, 2006. *J. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 41, p. 1523-1542.
- 69. Nathan C,** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 19-26.
- 70. Nimisha, S., Kherwar, D., Ajay, K.M., Singh, B and Usha, k.** 2013. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. *Scientia Horticulturae*, 164: 578-588.
- 71. Noack, M. et Kolopp-Sarda, M. N.** (2018). Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018 :499, 28-37.

O

- 72. Okwu DE, Ekeke O**(2003) . Phytochemical screening and mineral composition of chewing sticks in South Eastern Nigeria. *Global Journal of Pure and Applied Sciences* ,9(2): 235-238.

P

- 73. Payne, D. N. R., Adcock, I. M., Wilson, N. M., Oates, T., Scallan, M., & Bush, A.** (2001). Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164(8), 1376-1381.
- 74. Prabhudesai, A.P., Biyani, D.M., Umekar, M.J.,** 2019. *Psidium guajava*: Multipurpose Medicinal Herb. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 59, 125–132. 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.

R

- 75. Rankin J. A.** (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues*, 15, 3-17.

Références bibliographiques

76. **Ravi, K., Divyashree, P.**, 2014. Psidium guajava: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. *Pharmacogn. Rev.* 8, 96–100.
77. **Raymondjean M.** les mécanismes de l'inflammation périphérique, 2007. *J. revue francophone des laboratoires*. N°C389, P. 21-28. Reports .vol. 5, p . 1-11.
78. **Raymondjean M.** les mécanismes de l'inflammation périphérique, 2007. *J. revue francophone des laboratoires*. N°C389, P. 21-28. Reports .vol. 5, p . 1-11.
79. *Revue française d'allergologie*. Vol. 56, p. 38-42.
80. **Ribereau-Gayon P.** Notion générale sur les composés phénoliques. In : « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed. Dunod 1968; 1-40.
81. **Rousselet, J.M. Vignaud, P. Hofman et F.P. Chatelet Mai**, (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire, 6.
82. **Rousselet, M., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P**, (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire (Chapitre 3). Copyright AFECAP, 50, 52.

S

83. **Sen S.S., Sukumaran V., Giri S.S., Park S.C.** La fraction flavonoïde de l'extrait de feuille de goyave atténue la réponse inflammatoire induite par les lipopolysaccharides en bloquant la voie de signalisation NF- κ B dans les macrophages de *Labeorohita*. *Poisson Crustacés Immunol.* 2015; 47:85 à 92.
84. **Seo N., Ito T., Wang N., Yao X., Tokura Y., Furukawa F., Takigawa M., Kitanaka S.** Les extraits anti-allergiques de *Psidium guajava* exercent un effet antitumoral en inhibant les cellules T régulatrices et en augmentant les cellules Th1 qui en résulte. *Anticancéreux Res.* 2005; 25 :3763-3770 .
85. **Shah A.J., Begum S., Hassan S.I., Ali S.N., Siddiqui B.S., Gilani A.-H.** Base pharmacologique de l'utilisation médicinale de la feuille de goyave *Psidium* dans les troubles intestinaux hyperactifs. *Bangladesh J. Pharmacol.* 2011; 6 :100-105.
86. **Singh, S.P.** 2011. Chapitre: 10 - Guava (*Psidium guajava* L.). In: Elhadi, M.Y. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits : Cocona to Mango* Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 213-245, 246.
87. **Soman S., Rauf A.A., Indira M., Rajamanickam C.** Potentiel antioxydant et antiglycatif de la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait de feuille de *Psidium guajava* chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine. *Aliments végétaux Hum. Nutr.* 2010; 65:386 à 391.

Références bibliographiques

88. Steinhubl, S. R., Badimon, J. J., & Lüscher, T. F. (2007). Clinical evidence for anti-inflammatory effects of antiplatelet therapy in patients with atherothrombotic disease. *Vascular Medicine*, 12(2), 113-122.

T

89. Taïba, I., Boumahrat, M., Boulifa, A. (2017). Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia Officinalis*. L. Mémoire de Master en Biologie spécialité : Toxicologie. Université Frères Mentourie. Constantine. 2-14.

90. Tensaout, F and Gaoua, A. 2018. Caractéristiques chimiques et propriétés antioxydantes de la goyave « *Psidium guajava* » .Mémoire . Option Génie Alimentaire. Bejaia : Université Abderrahmane Mira - BEJAIA, 57p.

91. Thomas, E., Smith, J., & Brown, R. (2007). *Le système des kinines/kallicréine et son rôle dans l'inflammation*. *Journal de la Physiologie*, 34(2), 123-134.

92. Trabsa, H. (2015). Activité antioxydantes et anti-inflammatoire des fractions des plantes: *sedum sediforme* et *lyciumarabicum* .Thèse de doctorat en sciences Spécialité : Biochimie. Université ferhet abbas sétif 1.19

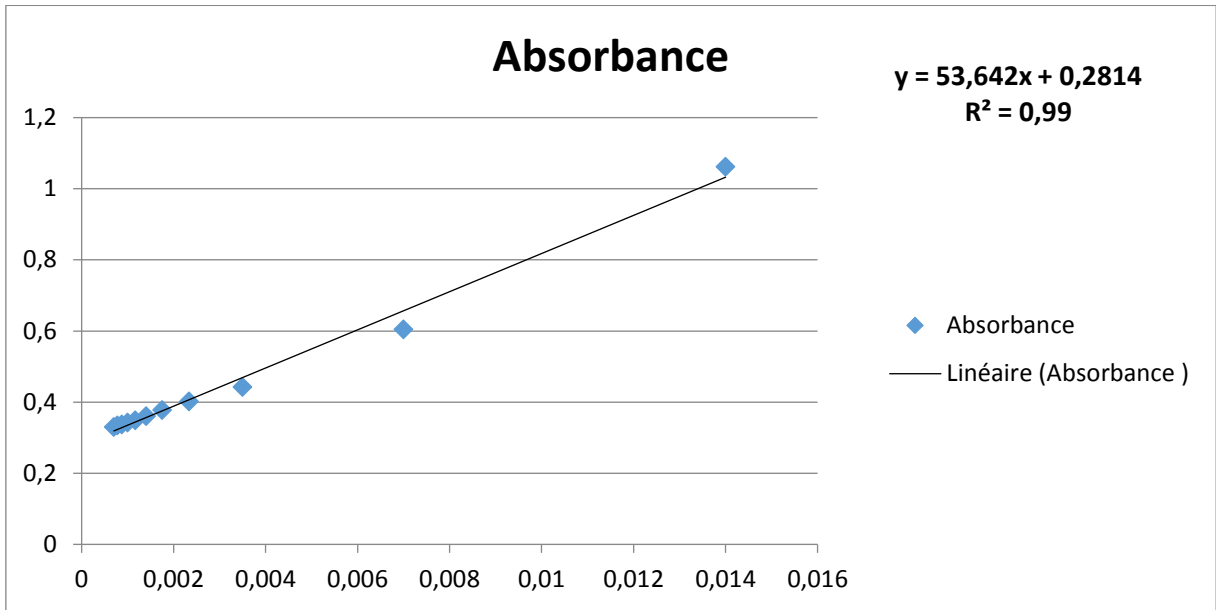
W

93. Weill B, Batteux F and Dhainaut J, (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), pp: 12-23.

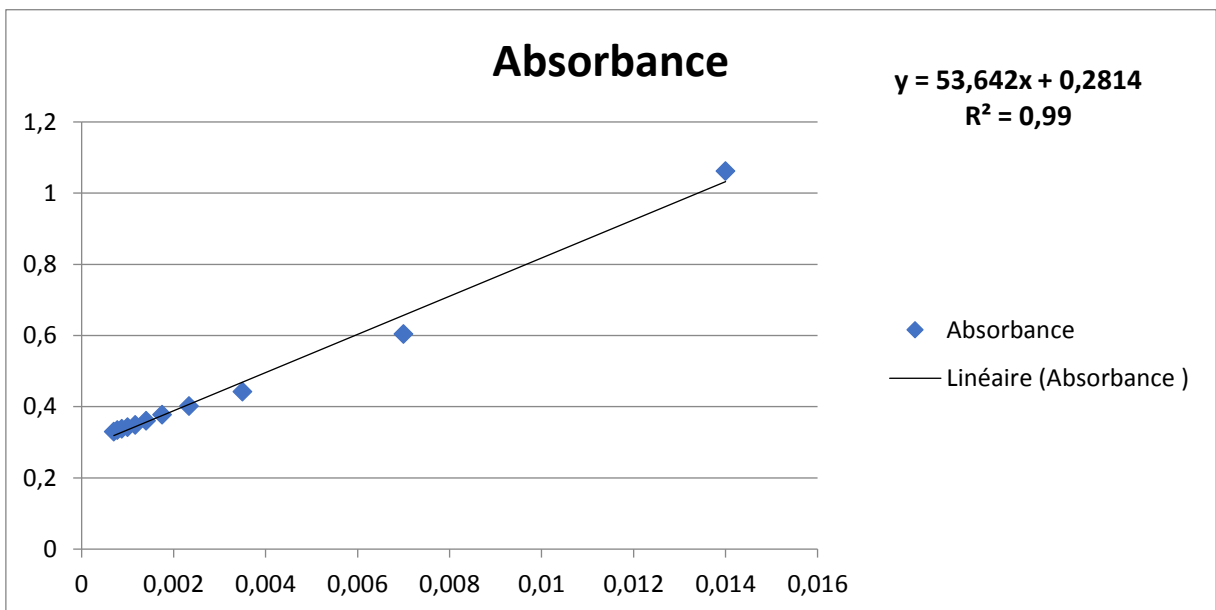
94. Williams, C. M. M., & Galli, S. J. (2000). The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105(5), 847-859.

95. Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., et Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 9:1, 143.

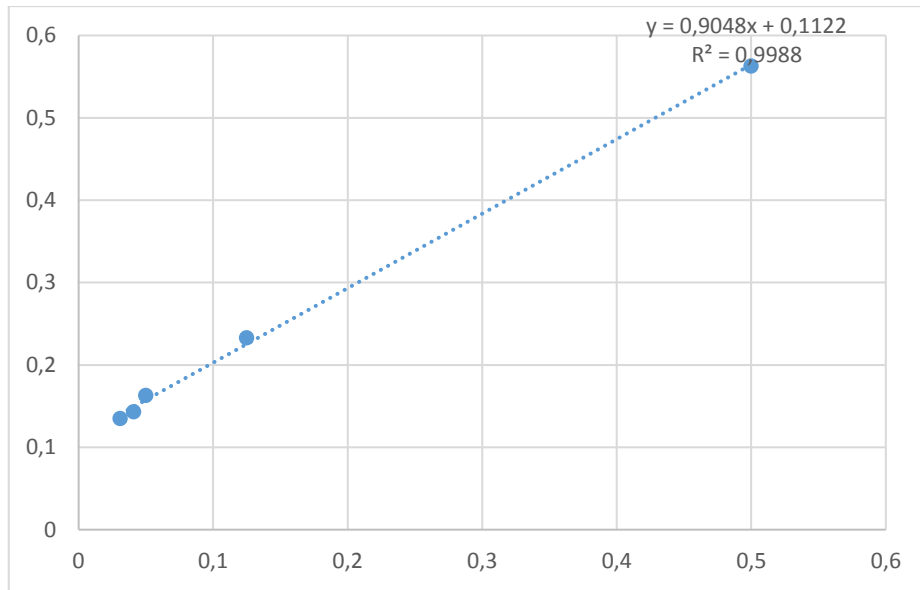
Annexes



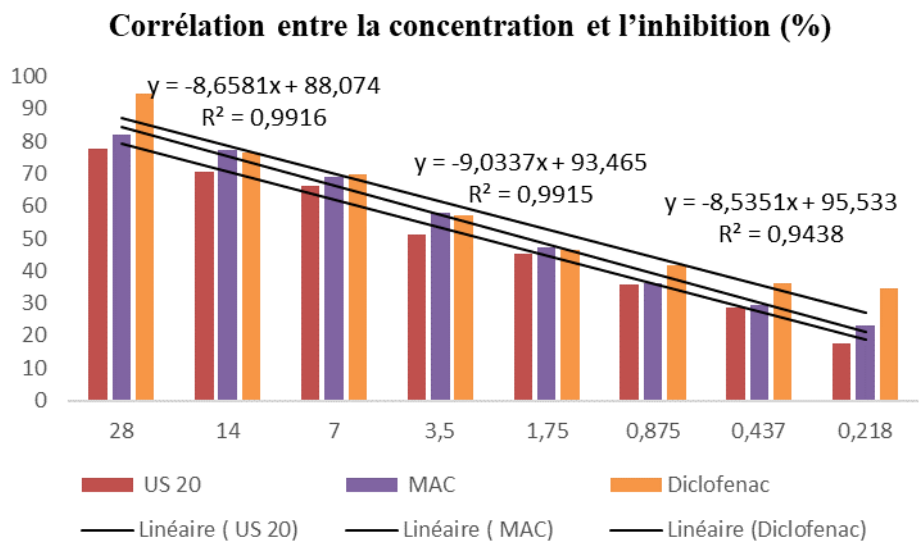
Annexe 01 : Courbe d'étalonnage acide galique



Annexe 02 : courbe d'étalonnage quercetine.



Annex 03 : Courbe d'étalonnage catéchine.



Annex 04 : Courbe de corrélation entre la concentration et l'inhibition %

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de goyavier

Résumé

L'utilisation des plantes médicinales, riches en composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques spécifiques, représente une stratégie prometteuse pour combattre diverses maladies inflammatoires. *Psidium guajava* L., également connu sous le nom de goyavier, est une espèce tropicale peu étudiée en Algérie mais largement utilisée en médecine traditionnelle. Cette étude vise à valoriser les extraits de feuilles de *Psidium guajava* en évaluant leur contenu en composés phénoliques (CPT, flavonoïdes, tanins) ainsi que leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Les résultats montrent une richesse significative en composés phénoliques, avec des niveaux élevés de flavonoïdes dans les extraits par macération et de tanins dans les extraits par ultrasons. Ces extraits ont démontré une forte activité antioxydante et anti-inflammatoire in vitro, surpassant même celle du diclofénac, médicament de référence. Pour approfondir cette étude, il serait judicieux d'explorer d'autres parties de la plante, de purifier les composés phénoliques identifiés par HPLC, et de conduire des études in vivo. Ces recherches visent à développer de nouveaux traitements contre les maladies inflammatoires, exploitant ainsi le potentiel des plantes médicinales pour des thérapies innovantes et efficaces.

Mots Clés : *Psidium guajava* Inflammation. Anti inflammatoire Anti oxydant polyphénols CPT Flavonoïdes Tanins Anti hémolytique dénaturation BSA Cytotoxique.

Abstract

The use of medicinal plants, rich in bioactive compounds with specific therapeutic properties, represents a promising strategy to combat various inflammatory diseases. *Psidium guajava* L., commonly known as guava, is a tropical species poorly studied in Algeria but widely used in traditional medicine. This study aims to valorize extracts from *Psidium guajava* leaves by evaluating their content of phenolic compounds (TPC, flavonoids, tannins) and their antioxidant and anti-inflammatory potential.

The results show significant richness in phenolic compounds, with high levels of flavonoids in maceration extracts and tannins in ultrasound extracts. These extracts demonstrated strong antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro, surpassing even that of diclofenac, a reference drug. To further this study, exploring other parts of the plant, purifying identified phenolic compounds using HPLC, and conducting in vivo studies would be advisable. These efforts aim to develop new treatments for inflammatory diseases, harnessing the potential of medicinal plants for innovative and effective therapies.

Keywords: *Psidium guajava* Anti inflammatory Anti oxidant polyphenols CPT Flavonoids Tannins Anti hemolytic denaturation BSA Cytotoxic.

المخلص

استخدام النباتات الطبية، التي تحتوي على مركبات حيوية ذات خصائص علاجية محددة، يمثل استراتيجية واحدة لمكافحة مختلف الأمراض التهابية. الجوافة (*Psidium guajava* L.)، المعروفة شائعاً باسم الجوافه، هي نوع استوائي قليلاً ما يعرف في الجزائر ولكنه يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. تهدف هذه الدراسة إلى تقوية استخدام مستخلصات أوراق الجوافة من خلال تقييم محتواها من المركبات الفينولية (TPC)، الفلافونويدات، التانينات وإمكاناتها النشطة المضادة للأكسدة والالتهابية.

توضح النتائج غنى كبير في المركبات الفينولية، مع مستويات عالية من الفلافونويدات في مستخلصات التقطير والتانينات في مستخلصات الأمواج فوق الصوتية. أظهرت هذه المستخلصات نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة ومضاداً للالتهابات في الاختبارات في المختبر، متفوقة حتى على الديكلوفيناك، الدواء المرجعي. لمواصلة هذه الدراسة، يُوصى بالبحث في أجزاء أخرى من النبات، وتنقية المركبات الفينولية المحددة باستخدام (HPLC)، وإجراء دراسات في الحيوانات لتطوير علاجات جديدة للأمراض التهابية، مستغلين إمكانات النباتات الطبية لعلاجات مبتكرة وفعالة.

الكلمات المفتاحية: الجوافة، مضاد للالتهابات، مركبات الفينولية مضاد للأكسدة، فلافونويد، مضاد تمسخ الدم الانحالي.