

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida -01-



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

**Effet hépatoprotecteur et propriétés antioxydantes des extraits naturels du goyavier
(*Psidium guajava* L)**

Présenté par :

- M^{lle} BOUMDAL Nada Amina
- M^{lle} REKAB Romaïssa

Soutenu le : 19 /07/2021

Devant le jury composé de :

Mme OURZEDDINE	MCB	UB1	Présidente
Mme ABDULHUSSAIN.A.S	MCA	UB1	Examinatrice
Mme GUEDDOCHLS	MCB	U.TIPAZA	Promotrice
Mme MOUALHLN	Doctorante	UB1	Co-Promotrice

Promotion 2020/2021

Remerciements

Nos remerciements s'adressent d'abord à Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force la volonté ainsi que la patience pour achever cette modeste étude.

Nos très sincères remerciements s'adressent également aux membres du jury, Madame **OURZEDDINE**, Maitre Conférencier B à l'Université de Blida 1, qui nous honoré en acceptant de présider le jury.

Madame **ABDULHUSSAIN.A.S**, Maitre Conférencier A à l'Université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Au terme de ce travail nous tenons à exprimer notre gratitude à Madame **GUEDDOUCHI Sabah** pour son effort fournis.

Nous tenons à remercier également notre chère co-promotrice, Madame **MOUALHI Noussaiba**, Doctorante à l'Université de Blida 1, pour sa disponibilité, ses conseils et encouragements tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous ne remercierons jamais assez tous nos aimables enseignants pour le savoir et le partage scientifique et éducatif qu'ils nous ont prodigués durant tout notre cursus, à leur tête **Pr SAADIL**, pour sa générosité, sa rigueur, sa compréhension et son immense patience dont elle a su faire preuve malgré sa charge académique et professionnelle.

Nos sincères remerciements à **Mme Hania** la directrice de la station de la faculté de biologie, **Mr Abderrahman**, chef des laboratoires pour leurs aide et efforts contribués.

Nous tenons à remercier particulièrement l'équipe scientifique du CHU de Beni Messous, service Anapathe pour leur aide tant précieuse.

Nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leurs exprimer mon amour sincère.

A mon très cher papa

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, a qui m'encourager et me protéger.

A ma très chère maman

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'as jamais dit non à mes exigences et qui a été mon ombre durant toutes ces années ce travail est le fruit de ses sacrifices.

A ma petite sœur

Mon âme sœur, mon petit bonheur à moi, qui m'as soutenu et encourager depuis toujours, que dieu la protège et lui offre la chance et le bonheur.

A mon Fiancé

Pour ses encouragements et sa patience, son aide et soutien moral depuis toujours ce travail est témoignage de ma reconnaissance et amour sincère et fidèle

Sans oublier mes meilleurs amies Kenza et Sabrina, ainsi que Mon Binôme Nada pour ses efforts et son esprit d'équipe, Je vous aime beaucoup

Rekai Romaiisa

Dédicaces

Ce mémoire est l'aboutissement d'un parcours accompli en cinq années que je n'aurais pu réaliser seule. Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour :

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour incessible, la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ses prières ... ma mère

A mon support dans la vie, qui m'a appris, m'a supporté et ma dirigé vers l'accomplissement ... Mon père

En signe de reconnaissance pour vos efforts et vos sacrifices consentis chaque jour, ainsi que votre compréhension en permanence. Sans vous, je ne serais surement pas ce que je suis aujourd'hui. Je prie Dieu que les fruits de ce travail me permettent de faire votre fierté.

A Fanny, ma deuxième maman, pour son incommensurable amour et soutien.

A l'épaule solide, l'œil attentif et compréhensif, à la personne la plus digne de mon estime et de mon respect ... mon frère.

A ma sœur pour sa bienveillance, sa patience et son indulgence qui par sa présence constante dans ma vie m'a prodigué une immense assurance.

A mon Papi, en témoignage de ma profonde affection et mon attachement indéfectible.

A la mémoire de mes grands-mères parties trop tôt, J'aurais tant aimé que vous soyez parmi nous pour qu'ensemble nous partagions ce bonheur. Puisse Allah vous avoir en sa sainte miséricorde.

A mes sœurs de cœur Marwa, Romaisa et Lynda qui m'ont toujours soutenues dans mes moments de doute, et d'angoisse et qui m'ont donné force, énergie et courage d'aller au bout de ce travail. En souvenir des moments heureux passés ensemble et de l'amitié qui nous unit, je vous dédie ce travail avec mes vœux sincères de réussite, de bonheur et de santé.

A la meilleure des binômes, ma partenaire de mémoire, mon amie Maissa, sans qui rien n'aurait été pareil. Je te remercie tout particulièrement pour ta patience et ta confiance en moi envers et contre tout <3

A mon ami Abdennour, pour ses conseils, son encouragement et son aide si précieuse.

A mes tantes et oncles paternels et maternels ainsi que leurs conjoints.

A mes cousins et cousines.

A tous ceux qui j'ai omis involontairement de citer.

Nada Amina Boumdal



Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des Abréviations	IV
Résumé	V
Abstract.....	VI
ملخص.....	VII
Introduction.....	1
Synthèse Bibliographique.....	
Chapitre 1 : Généralités sur la Goyave.....	
1. Présentation de l'espèce « Psidiumguajava L. ».....	3
2. Répartition géographique	3
3. Ecologie et distribution	4
4. Position systématique	4
5. Description botanique	5
5.1. Variétés.....	6
5.2. Composés phytochimiques et valeur nutritionnelle de la goyave	7
5.3. Utilisation traditionnelle.....	8
5.3.1. Feuilles	8
5.3.2. Ecorce.....	9
5.3.3. Fleurs.....	9
5.3.4. Fruit.....	9
5.3.5. Plante.....	9
6. Activités biologiques	10
6.1. Activité anti-cancéreuse	10
6.2. Activité antidiabétique	10
6.3. Activité antiproliférative	10
6.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....	10
6.5. Activité Spermato-protectrice.....	11
6.6. Activité anti-oxydante.....	11
Chapitre 2 : Généralités sur les composés phénolique	
1. Définition	12
2. Structure et classification des Polyphénols	12

2.1.	Flavonoïdes.....	13
2.2.	Acides phénoliques	14
2.3.	Tanins	15
2.4.	Alcaloïdes	16
2.5.	Lignines	16
2.6.	Coumarines	16
2.7.	Quinones.....	16
2.8.	Saponines.....	17
3.	Propriétés des composés phénoliques et mécanismes d'action contre les radicaux libres	17
3.1.	Mécanismes d'action contre les radicaux libres.....	17
3.2.	Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques.....	17
3.3.	Activité antioxydante	17
3.4.	Activité anti-inflammatoire	18
4.	Rôle des composés phénoliques	18
4.1.	Chez l'humain.....	18
4.2.	Chez les végétaux.....	18
Chapitre 3 : Foie et mécanismes de l'hépatotoxicité.....		
1.	Anatomie du foie	19
2.	Histologie normale du foie.....	20
2.1.	Les hépatocytes.....	20
2.2.	Les cholangiocytes	20
2.3.	Les cellules étoilées.....	20
2.4.	Les cellules de Kupffer.....	20
2.5.	Les cellules endothéliales sinusoidales	21
3.	Les enzymes hépatiques	22
3.1.	Les aminotransférases	22
3.2.	L'ALP	22
3.3.	La GGT	22
3.4.	La bilirubine	22
4.	Fonctions hépatiques.....	23
4.1.	Stockage et production	23
4.2.	Détoxification	23
4.3.	Régulation immunitaire.....	23

5.	Atteintes Hépatiques	24
5.1.	La cirrhose	24
5.2.	Cholestase.....	24
5.3.	Stéatose.....	24
5.4.	L'insuffisance hépatique aiguë (IHA).....	24
6.	Mécanisme de la fibrogenèse hépatique :	25
7.	Stress oxydant :	26
7.1.	Les radicaux libres	26
7.2.	Formation des espèces réactives de l'oxygène	26
7.3.	Les systèmes antioxydants.....	27
7.3.1.	Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes.....	28
7.3.2.	Systèmes antioxydants exogènes	29
7.4.	Le Stress oxydant.....	30
7.5.	Conséquences moléculaires du stress oxydatif	31
Partie expérimentale.....		
Chapitre 1 : Matériels et Méthodes.....		
1.	Objectifs	32
2.	Période et lieu de l'étude.....	32
3.	Matériel.....	33
3.1.	Préparation du matériel végétal :	33
3.2.	Animaux	34
4.	Méthodes.....	34
4.1.	Préparation des extraits phénoliques :.....	34
5.	Etude phytochimique(Evans, 1996 ; Harbone, 1998).....	35
5.1.	Screening phytochimique	35
5.1.1.	Flavonoïdes	36
5.1.2.	Tanins	36
5.1.3.	Saponines	36
5.1.4.	Quinones libres	36
5.2.	Dosage des composés phénoliques	36
5.2.1.	Dosage des polyphénols par colorimétrie	36
5.2.2.	Estimation quantitative des flavonoïdes	37
6.	Activité anti-oxydante des extraits de goyave.....	38

7.	Evaluation de l'effet hépatoprotecteur contre l'intoxication par le CCl4	39
7.1.	Analyses biochimiques	41
7.2.	Etude histologique.....	41
8.	Analyses statistiques	41
Chapitre 2 : Résultat et discussion.....		
1.	Rendement d'extraction	42
2.	Etude phytochimique	43
2.1.	Screening phytochimique	43
3.	Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux	45
4.	Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes totaux	46
5.	Test DPPH mesuré au spectrophotomètre.....	47
6.	Effet de l'administration du CCL4 et celle des différents extraits de <i>Psidium guajava</i> sur l'organisation tissulaire du foie :.....	50
6.1.	Histologie du foie des souris témoins.....	50
6.2.	Effet du CCL4 sur la structure du foie	50
Conclusion		Error! Bookmark not defined.
Références.....		70
Annexe		

Liste des tableaux

Tableau 01 : Valeurs nutritionnelles de <i>P. Guajava</i> estimées par les deux différents auteurs...	08
Tableau 02 : Principales espèces réactives de l'oxygène.....	26
Tableau 03 : Protocole d'induction de l'hépatotoxicité par le CCl ₄	40
Tableau 04 : Screening phytochimique des tannins sur les différents extraits de goyave.....	43
Tableau 05 : Screening phytochimique des saponines sur les différents extraits de goyave....	44
Tableau 06 : Screening phytochimique des flavonoïdes sur les différents extraits de goyave..	44
Tableau 07 : Screening phytochimique des quinones libres sur différents extraits de goyave.	44

Liste des figures

Figure 01 : Répartition de la goyave dans le monde	03
Figure 02 : Description de Goyavier	05
Figure 03 : Différentes parties de la goyave blanche	06
Figure 04 : Goyave rouge	07
Figure 05 : Principales utilisations traditionnelles des feuilles de goyave dans les principaux pays producteurs.....	09
Figure 06 : Représentation chimique de la structure d'un phénol.....	12
Figure 07 : Classification des composés phénoliques	13
Figure 08 : Différentes classes des flavonoïdes et leurs structure chimique	14
Figure 09 : Structure chimique des acides phénoliques	15
Figure 10 : Anatomie du foie.....	19
Figure 11 : Structure histologique schématique du tissu hépatique	21
Figure 12 : Origine des espèces réactives de l'oxygène	27
Figure 13 : Schéma des réponses antioxydantes de la cellule face aux ROS.....	29
Figure 14 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaire..	30
Figure 15 : La double vie des ERO	31
Figure 16 : Différentes partie de la goyave (originale 2021).....	33
Figure 17 : Extraction des polyphénols par l'acétone	35
Figure 18 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.....	38
Figure 19 : Rendement d'extraction des extraits phénoliques.....	42
Figure 20 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>Psidiumguajava</i>	45
Figure 21 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Psidiumguajava</i>	46
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition de radicale DPPH des extraits de goyave.....	48
Figure 23 : Valeurs de la IC50 des extraits obtenus.....	49
Figure 24 : Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE). Grossissement objectif ×10...	52
Figure 25 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif ×10.....	53

Figure 26 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$	54
Figure 27 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$	55
Figure 28 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	57
Figure 29 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	58
Figure 30 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$	59
Figure 31 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	60
Figure 32 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$	61
Figure 33 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	62
Figure 34 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$	63
Figure 35 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	64
Figure 36 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	65
Figure 37 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$	66

Liste des abréviations

- 1O₂** : Le dioxygène singulet
- CAT** : Activité de la catalase
- CCL₄** : Tétrachlorure de carbone
- DMSO** : Dimethyl sulfoxyde
- DPPH** : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
- EC₅₀** : Concentration inhibitrice à 50%
- GPx** : Glutathion peroxydase
- H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- H₂SO₄** : Acide Sulfurique
- HCL** : Acide chlorhydrique concentré
- HCl** : Acide Chlorhydrique
- HGPO** : Hyperglycémie provoquée par voie orale
- HO** : Radical hydroxyle
- IGF -1** : Facteur de croissance analogue à l'insuline
- IHA** : Insuffisance hépatique aigue
- Mg** : Magnésium
- O₂⁻** : L'anion superoxyde
- OH**: Radical hydroxyl
- PGHS** : Prostaglandine endoperoxyde H synthase
- PSA** : Antigène spécifique de la prostate
- ROO**: Radical Peroxy
- ROOH**: Hydroperoxyde
- ROS**: Reactive Oxygen Species
- SOD** : Superoxyde dismutase

Résumé

Ce travail vise à valoriser les vertus de *Psidium guajava* L par une caractérisation phytochimique, une évaluation de l'activité antioxydante ainsi que la mise en évidence d'un éventuel effet préventif et hépato-protecteur des extraits aqueux de différentes parties du fruit à savoir ; la peau et le jus.

L'expérimentation a été réalisée chez 48 souris *Mus musculus* males, réparties en 8 lots, un lot témoin recevant uniquement de l'eau distillée, un lot intoxiqué par le CCL4, deux différents lots recevant uniquement le jus et la peau, et les quatre derniers lots seront traités préalablement à différentes concentrations des extrait de la peau et le jus du fruit suivie d'une administration orale d'une solution de CCL4.

L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence les principaux métabolites notamment les polyphénols. Le screening phytochimique a montré la présence des flavonoïdes, tanins, saponines et quinones. L'analyse quantitative a montré que les extraits obtenus grâce aux solvants polaires sont les plus riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes. L'étude des coupes histologiques a permis de détecter des lésions du tissu hépatique tel que la cirrhose, observées essentiellement chez les souris recevant le CCL4. Ces lésions sont caractérisées par des dépôts interstitiaux et périvasculaires du matériel conjonctif, avec infiltration cellulaire. Cependant, chez les souris ayant reçu le traitement préventif aux différents extraits de *Psidium guajava* aucun dépôt matriciel n'a été observé et les altérations semblent être moins accentuées.

Mots clés : Métabolites secondaires, le foie, activité hépatoprotectrice, tétrachlorure de carbone, stress oxydatif, *Psidium guajava*.

Abstract

The aim of this work is to enhance the virtues of *Psidium guajava L* by phytochemical characterization, evaluation of antioxidant activity and the demonstration of a possible preventive and hepatoprotective effect of aqueous extracts of different parts of the fruit: the bark and the juice.

The experiment was carried out on 48 male *Mus musculus* mice, divided into 8 batches, one control batch receiving only distilled water, one batch intoxicated with CCL₄, two different batches receiving only the juice and the bark, and the last four batches will be pre-treated with different concentrations of the extract of the bark and the juice of the fruit, followed by an oral administration of a solution of CCL₄

The phytochemical study revealed the main metabolites, especially polyphenols. The phytochemical screening showed the presence of flavonoids, tannins, saponins and quinones. Quantitative analysis showed that the extracts obtained with polar solvents are the richest in total polyphenols and flavonoids. The study of histological sections allowed the detection of lesions in the liver tissue, observed mainly in mice receiving CCL₄. These lesions are characterized by interstitial and perivascular deposits of connective material, with cellular infiltration. However, in the mice that received the preventive treatment with the different *Psidium guajava* extracts, no matrix deposits were observed and the alterations appear to be less pronounced.

Key words: secondary metabolites, the liver, hepatoprotective activity, carbon tetrachloride, oxidative stress, *Psidium guajava*.

ملخص

من خلال التوصيف الكيميائي النباتي ، وتقييم نشاط مضادات *Psidium guajava L* الهدف من هذا العمل هو تعزيز مزايا الأكسدة وإثبات التأثير الوقائي المحتمل للمستخلصات المائية لأجزاء مختلفة من الفاكهة: اللحاء والعصير

، مقسمة إلى 8 دفعات ، دفعة تحكم واحدة تتلقى الماء المقطر *Mus musculus* تم إجراء التجربة على 48 ذكرًا من فئران ، دفعتان مختلفتان تستقبلان العصير واللحاء فقط ، والدفعات الأربع الأخيرة ستكون CCL4 فقط ، دفعة واحدة مخمورة بـ عن طريق الفم CCL4 مسبقًا - تمت معالجته بتركيزات مختلفة من مستخلص اللحاء وعصير الفاكهة ، ثم تناول محلول

كشفت الدراسة الكيميائية النباتية عن المستقلبات الرئيسية ، وخاصة البوليفينول. أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونويد والعفص والصابونين والكينون. أظهر التحليل الكمي أن المستخلصات التي تم الحصول عليها بالمذيبات القطبية هي الأغنى في مجموع البوليفينول والفلافونويد. سمحت دراسة المقاطع النسيجية باكتشاف الأفات في أنسجة الكبد ، والتي لوحظت تتميز هذه الأفات برواسب خلالية ومحيط الأوعية من مادة ضامة ، مع ارتشاح CCL4 بشكل رئيسي في الفئران التي تتلقى خلوي. ومع ذلك ، في الفئران التي تلقت العلاج الوقائي بمستخلصات بسيديوم غوفا مختلفة ، لم يلاحظ أي رواسب مصفوفة ويبدو أن التغييرات كانت أقل وضوحًا

الكلمات المفتاحية: المستقلبات الثانوية ، الكبد ، النشاط الكبدي ، رابع كلوريد الكربون ، الإجهاد التأكسدي ، جوفا

Introduction

Introduction

Il y a quelques dizaines d'années, la science alimentaire se limitait à analyser la valeur nutritive des aliments. De nos jours, de nouvelles recherches ont conduit à une meilleure reconnaissance du rapport entre les aliments et la santé en mettant en valeur les composantes ayant des propriétés thérapeutiques **(Debib, 2014)**.

Dans ce contexte, au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer les effets sanitaires bénéfiques des fruits. Il a été suggéré que leur teneur importante en phytonutriments, notamment en polyphénols pourrait être à l'origine de la prévention vis-à-vis de maladies dégénératives, des maladies cardio-vasculaires, de certains cancers et du déclin cognitif lié à l'âge **(Trichopoulou et al., 2005)**.

La goyave « *Psidium guajava* » est un fruit de la famille des Myrtaceae, originaire des régions tropicales d'Amérique. D'un point de vue nutritionnel, ce fruit constitue une bonne source de fibres et vitamines. Il est quatre fois plus riche en vitamine C que les oranges. Celle-ci est concentrée essentiellement au niveau de la peau du fruit. La teneur en vitamine C de la goyave est si élevée qu'une purée de fruits a été utilisée pour enrichir les rations des soldats pendant la seconde guerre mondiale **(Sato et al., 2010)**. De plus, la goyave est riche en composées bioactives ; tanins, phénols, triterpènes et flavonoïdes **(Kamath et al., 2008)**.

En Inde, au Brésil, au Mexique, en Egypte ou même dans les régions tropicales, le goyavier est considéré comme étant une plante à plusieurs vertus et un remède largement utilisée par la pharmacopée traditionnelle pour traiter certains troubles digestifs, respiratoires ou pulmonaires. Les préparations locales faites à partir des feuilles et/ou de l'écorce de *Psidium guajava* sont utilisées dans les traditions pour traiter plusieurs affections. En effet, des effets anti diarrhéique, anti cancérigène, hypolipémiant et hypoglycémiant lui ont été attribués depuis longtemps **(Wei et Chen, 2000 ; Kamath et al., 2008)**.

L'objectif de la présente étude étant l'évaluation de l'activité hépato-protectrice attribuée par la pharmacopée traditionnelle à notre matériel végétal. Ainsi ce travail s'articule sur deux parties principales ; Une première partie qui concerne l'étude du fruit, la préparation des différents extraits, l'étude phytochimique et la détermination de l'activité anti oxydante.

INTRODUCTION

Une deuxième partie qui concerne l'induction de l'hépatotoxicité par administration orale du CCL4 (Tétrachlorure du carbone) chez des souris de laboratoire et l'évaluation d'un éventuel effet préventif du fruit (jus, peau), via l'étude de coupes histologiques du foie.

Dans l'optique de répondre aux hypothèses citées ci-dessus, nous envisageons de suivre le protocole suivant :

- Extraction des polyphénols à partir de *Psidium guajava L.*
- Elevage des souris (*Mus musculus*).
- Administration des extraits du fruit à différentes doses.
- Induction de la toxicité via l'administration du CCL4 (Tétrachlorure du carbone).
- Prélèvements sanguins et réalisations de coupes histologiques du foie.

Synthèse Bibliographique

**Chapitre 1 : Généralités sur la
Goyave**

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

1. Présentation de l'espèce « *Psidium guajava* L. »

La goyave « *Psidium guajava* », fruit de la famille des Myrtaceae, est originaire des régions tropicales d'Amérique. Son nom provient du mot grec, « psien » qui signifie « donné à manger » et « Guajava » qui est d'origine amérindienne signifiant « le fruit lui-même ». Elle est cultivée depuis plus de 2 000 ans en Amérique centrale (**Universalis, 2014**).

2. Répartition géographique

Psidium guajava L, originaire du Mexique s'étend sur l'Amérique du Sud, l'Europe, l'Afrique et l'Asie. Il pousse dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde, tolère différentes conditions climatiques mais préfère les climats secs (**Soliman et al., 2016**). La répartition géographique de *psidium guajava* dans le monde entier est représentée dans la (**Figure01**).

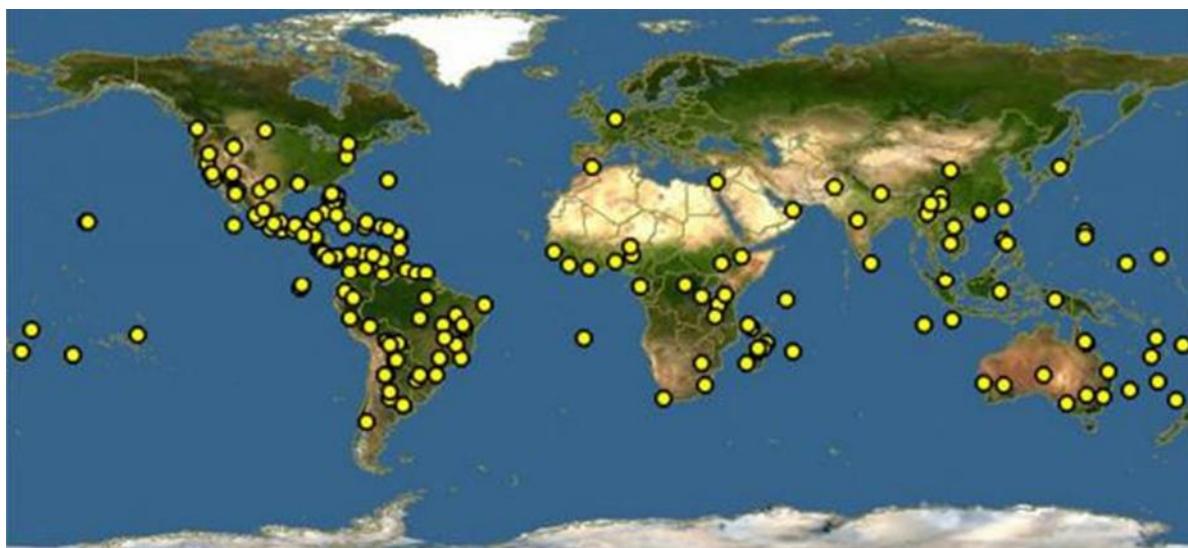


Figure 01 : Répartition géographique de la goyave dans le monde entier

(**Pickering, 2009**)

En Europe, il n'est pas très rustique et ne résiste pas à des températures négatives prolongées. (**Singh et al., 2011**)

En Afrique, il s'installe sous forme de petits îlots forestiers à travers les savanes côtières de la Côte d'Ivoire. Par contre, dans la zone Soudanaise, il demande quelques soins. Sa culture peut réussir, avec des arrosages, dans les oasis.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

En Algérie, la goyave est rarement cultivée, elle a été introduite pour l'expérimentation à la fin des années 1970. Ce fruit est trouvé au niveau de la Wilaya de Tipaza, mais également planté au niveau du Jardin d'Essais du Hamma à Alger. Sa culture se fait en mois de septembre et octobre, c'est la saison des goyaves communément appelées par la population locale les « goyaves » ou « djewaffa » du Moyen-Orient.

Ce fruit se retrouve dans certaines maisons coloniales situées à Fouka comptant un ou deux goyaviers dans leurs jardins. En 1978, un verger de 2 hectares a été créé au niveau de l'ancien secteur agricole social de Fouka (Das). À cette époque, la ferme appartenait à la Wilaya de Blida et est maintenant rebaptisée Domaine M'seguem-Abdelkader, sur la route de Douaouda. Il a ensuite été abandonné en 1987 et restauré par Hadj Hamada en 1991 pour conserver cet étrange fruit. Aujourd'hui, la récolte annuelle de l'agriculteur est d'environ 3 tonnes, qui n'est vendue qu'à Fouka (**Souad, 2009**).

3. Ecologie et distribution

La goyave prospère sous des climats tropicaux et des sols extrêmement variés. En effet, on la trouve dans des forêts tropicales humides et sèches. Commune en zone sèche de végétation secondaire de basse altitude, elle est rencontrée dans des savanes, forêts naturelles et sur les rives des fleuves. Elle est disponible tout au long de l'année (**Fabrice et Christian, 2006**).

Probablement originaire du Pérou, la goyave (*Psidium guajava*) s'est répandue très rapidement à travers le continent tropical américain jusqu'au Mexique. Sa culture s'est étendue vers l'Asie, l'Afrique et notamment le sud de l'Europe.

4. Position systématique

La position systématique de la goyave, selon **Dakappa et al., (2013)**, est la suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

Famille : Myrtaceae

Genre : Psidium

Espèce : *Psidium guajava* L.

5. Description botanique

Le goyavier est un arbre de taille moyenne qui peut atteindre 8 m de hauteur, à l'écorce lisse, rougeâtre se desquamant.

Les feuilles de forme oblongue sont couvertes d'un fin duvet sur la face inférieure, opposées décussées à nervures latérales saillantes. Elles peuvent atteindre 15 cm de long et 7 cm de large.

Le fruit du goyavier est globuleux, jaunâtre à pulpe rose ou blanche juteuse et moelleuse, et à nombreuses graines comestibles très dures et un arôme légèrement astringent. Elle a une peau fine et fragile, vert pâle à jaune, piquetée de noir quand le fruit est très mûr. Sa saveur parfumée et acidulée, très caractéristique, évoque à la fois celle de la pêche et de la fraise.

Les fleurs sont solitaires à 5 pétales blancs et des nombreuses étamines. La **figure 02** montre la plante toute entière (**Gill et al , 2016**)

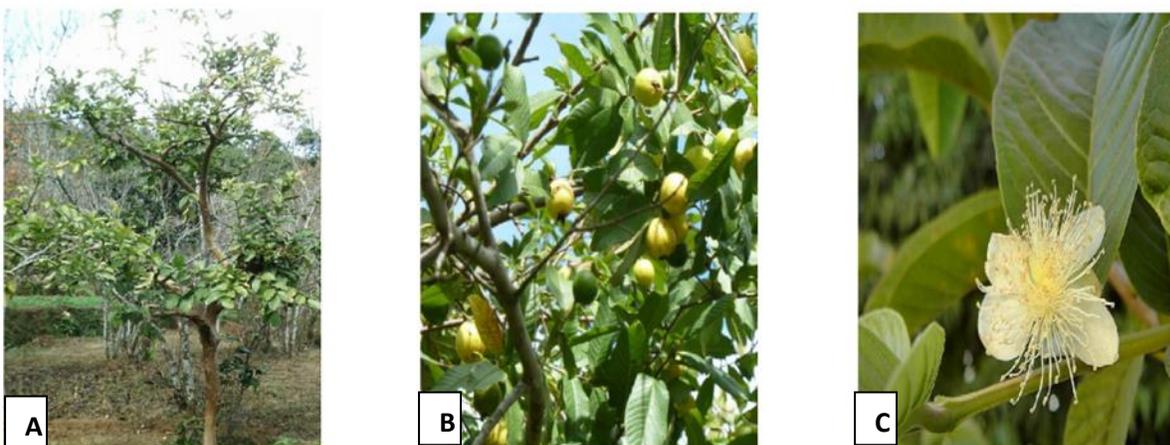


Figure 02 : Description de Goyavier

(A : Arbre de goyavier ; B : Feuilles et fruits C : Fleur)

(Gill et al, 2016)

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

5.1. Variétés

Il existe environ 100 espèces d'arbustes tropicaux et de petits arbres dans le genre, originaires du Mexique, des Caraïbes, de l'Amérique centrale et du nord du Sud, Amérique centrale et de la partie nord de l'Amérique du Sud. La goyave la plus commune est la pomme (Psidium guajava). Il existe d'autres sortes de goyaves tel que les goyaves rouges appelée goyave Marron (Tropicos, 2014).

Les fruits de goyave ont généralement un parfum prononcé et typique. La pulpe de goyave peut être sucrée ou aigre, son goût se situe entre la poire et la fraise, de couleur blanc cassé (goyave "blanche") à rose foncé (goyave "rouge"), avec des graines dans la pulpe centrale dont le nombre et la dureté sont variables. Les fruits sont charnus, sucrés et dégagent une odeur légère mais agréable. Le fruit contient des fibres, des protéines, des hydrates de carbone, du calcium, phosphore, fer, vitamine A, vitamine B3, B4 (NishaKumari et al., 2013).

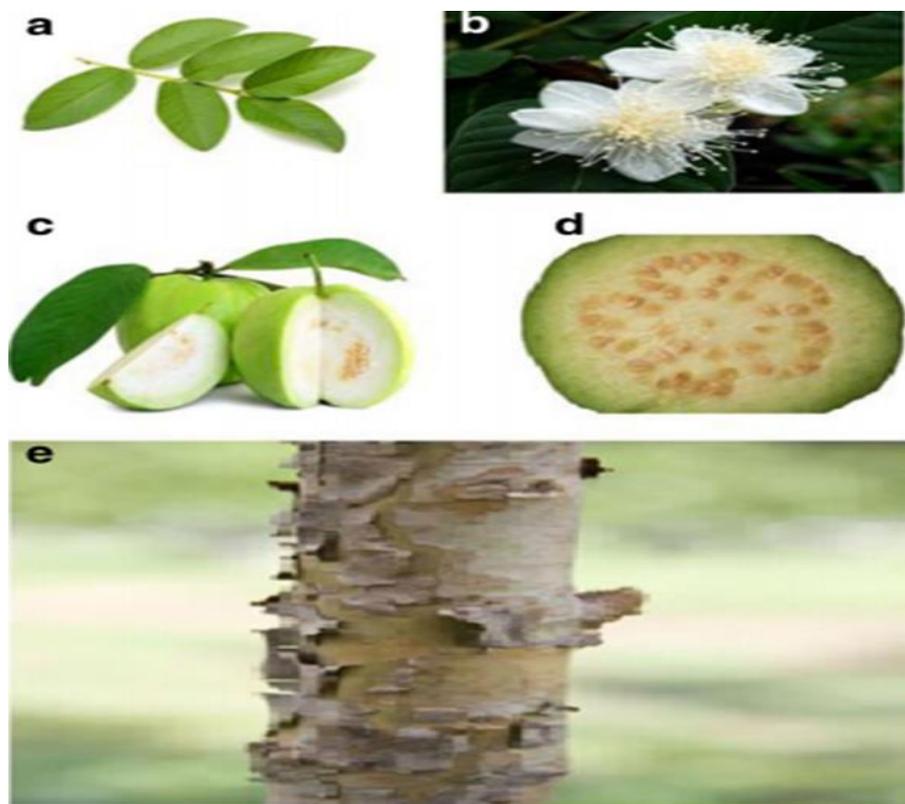


Figure 03 : Différentes parties de la goyave blanche

(a) Feuilles (b) Fleurs (c) Fruit (d) Graines dans le fruit (e) Écorce (SumraNaseer et al., 2018)

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE



Figure 04 : Goyave Rouge (NishaKumari et *al.*,2013)

5.2. Composés phytochimiques et valeur nutritionnelle de la goyave

D'un point de vue nutritionnel, la goyave apporte 68 calories pour 100 grammes, constitue une bonne source de fibres et contient quatre fois plus de vitamine C que les oranges. La plupart des de la vitamine C se trouve dans la peau du fruit qui n'est généralement épluchée avant d'être consommée. La teneur en vitamine C de la goyave est si élevée qu'une purée de fruits a été utilisée par les troupes alliées pendant la Seconde Guerre mondiale pour enrichir leurs rations (Sato et *al.*, 2010).

De plus, la goyave est riche en tanins, phénols, triterpènes, flavonoïdes, huiles essentielles, saponines, caroténoïdes, lectines, vitamines, de fibres et d'acides gras, en particulier de lycopène, une substance importante dans la prévention de certains types de cancer. Le fruit contient des sucres, du fer, du calcium, du phosphore phosphore et des vitamines A, B et (à l'exception de la C) en plus forte concentration que la plupart des autres fruits. La valeur nutritionnelle de la goyave selon Sato et *al.*, (2010) ; Joseph et Priva (2011) (dans 100 g du fruit) est regroupé dans le tableau 1 :

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

Tableau01 : Valeurs nutritionnelles de *P. Guajava* (dans 100 g du fruit)

Components		Sato et al., 2010	Joseph & Priva, 2011
Nutrient Units Value per 100g	Calories (Kcal)	68	77 - 86
	Protein (g)	2.55	0,1 - 0,5
Minerals	Fat (g)	0.95	0,43 - 0,7
	Carbohydrate (g)	14.32	9,1 - 17
	Fiber - total dietary (g)	5.4	0,9 - 1 (Crude fiber)
	Calcium - Ca (mg)	18	17,8 - 30
	Iron - Fe (mg)	0.26	200 - 400 (I.U.)
	Potassium - K(mg)	417	-
	Sodium - Na (mg)	2	-
	Zinc - Zn (mg)	0.23	-
	Selenium - Se (mcg)	0.6	-
	Vitamins	Vitamin C (mg)	228.3
Thiamin (mg)		0.067	0,03 - 0,04
Riboflavin (mg)		0.04	0,6 - 1,068
Niacin (mg)		1.084	40 (I.U.)
Vitamin B3 (I.U)		-	35
Vitamin B6 (mg)		0.11	-
Folate (mcg)		49	-
Vitamin A (I.U.)		624	0,046 (mg)
Carotene beta (mcg)		374	-
Vitamin E alpha-tocopherol (mg)		0.73	-
Vitamin K phylloquinone (mcg)	2.6	-	

Legend: "-": Not established values

(Sato et al., 2010 ; Joseph et R. 2011)

5.3. Utilisation traditionnelle

5.3.1. Feuilles

Le thé fait à partir de feuilles de goyave est considéré comme médicinales. Les feuilles tendres de la plante ont été utilisées comme tonique pour traiter les troubles digestifs tels que la dysenterie et la diarrhée dans les systèmes médicaux indigènes du Brésil et du Mexique.

En Bolivie et en Egypte, les feuilles de goyave sont utilisées pour traiter la toux et les maladies pulmonaires (NishaKumari et al., 2013).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE



Figure 05 : Principales utilisations traditionnelles des feuilles de goyave dans les principaux pays producteurs.

(Díaz-de-Cerioet *al.*,2017)

5.3.2. Ecorce

Les préparations locales faites à partir des feuilles et/ou de l'écorce de *Psidium guajava* sont reconnues comme étant efficaces pour les maux de gorge, vomissements, les douleurs d'estomac et les vertiges. Elles sont également efficaces pour réguler les périodes menstruelles dans les régions tropicales Amazonie et en Inde (Holetz *et al.*,2009).

5.3.3. Fleurs

Les fleurs ont été utilisées pour traiter les bronchites, les affections des yeux et pour rafraîchir le corps (Begum *et al.*,2002).

5.3.4. Fruit

Le fruit a été utilisé comme tonique et laxatif, ainsi que pour le traitement des gencives (Begum *et al.*,2002).

5.3.5. Plante

La plante a été utilisée en Afrique et en Asie pour prévenir et traiter le scorbut. Elle est utilisée pour traiter l'hypertension en Afrique occidentale et dans le traitement de la malaria.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

(Begum,2002). Elle est utilisée dans de nombreux shampooings pour son parfum (Holetz FB et al.,2009)

La plante entière ou les pousses sont utilisées sous forme d'infusion, décoction et pâte comme tonique cutané, bénéfique dans les menstruations douloureuses, les fausses couches, les saignements utérins, l'accouchement prématuré chez la femme ou même pour traiter les plaies (Rosa et al.,2008)

6. Activités biologiques

6.1. Activité anti-cancéreuse

L'extrait aqueux de feuilles de bourgeons de *Psidium guajava* L. a été démontré d'une activité anti-cancéreuse de la prostate dans un modèle de lignée cellulaire. Le traitement avec les feuilles de *Psidium guajava* L. budding (1,5 mg/souris/jour) a diminué de manière significative l'antigène spécifique de la prostate (PSA) et la taille des tumeurs dans un modèle de tumeur de souris xéno greffe. L'huile essentielle de feuille de goyave possède un effet cytotoxique sur les lignées cellulaires humaines (Chen et al., 2010 ; Joseph et al., 2010).

6.2. Activité antidiabétique

L'extrait éthanolique de l'écorce et de la tige a présenté une activité hypoglycémique statistiquement significative dans le cas d'hyperglycémie induite chez des rats par administration d'alloxane. Toutefois, l'extrait n'avait pas d'effet hypoglycémique significatif chez des rats normaux et des comparés à des rats rendus hypoglycémiques (HGPO) Dans les tests aigus et subaigus, l'extrait aqueux, à une dose orale de 250 mg/kg, a montré une activité hypoglycémique statistiquement significative (Mukhtar et al., 2006; 2004).

6.3. Activité antiproliférative

L'extrait de feuille de goyave présente une activité antiproliférative causée par l'inhibition de l'activité catalytique des isoformes de la Prostaglandine endoperoxyde H synthase (PGHS). (Kaileh et al., 2007).

6.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique

L'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* possède des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. Les extraits hexane, éthyle d'acétate d'éthyle et de méthanol des feuilles de

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA GOYAVE

Psidium guajava (20, 100,500 et 1250 mg/kg) ont montré des effets antinociceptifs dépendants dans les tests chimiques et thermiques d'analgésie (Ojewole, 2006 ; Shaheen et al., 2000).

6.5. Activité Spermato-protectrice

Les extraits des feuilles de *Psidiumguajava* ont des effets bénéfiques sur la production et la qualité du sperme via leurs action sur la production et la qualité des spermatozoïdes, et pourraient donc améliorer les paramètres spermatiques des hommes infertiles atteints d'oligospermie et azoospermie non obstructive (Akinola et al., 2007).

6.6. Activité anti-oxydante

Les extraits d'eau distillée, d'éthanol à 65% et d'éthanol à 95% respectivement ont montré des effets sur le piégeage de l'hydroxyle et l'inhibition de la peroxydation lipidique de manière dose-dépendante. La concentration efficace de 50 % (CE50) pour de 0,63 : 0,47 et 0,58 g/l pour le piégeage des radicaux hydroxyle, et une EC50 sur l'inhibition de la peroxydation lipidique de 0,20 ; 0,035 et 0,18g/L (Wang et al., 2007).

**Chapitre 2 : Généralités sur les
composés phénoliques**

1. Définition

Les acides phénoliques ont attiré l'attention en raison de leurs avantages potentiels pour la santé, applications dans les secteurs agricole, médicinal, cosmétique, et alimentaire (**Figure 08**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont naturellement biosynthétisés par les plantes et les champignons. Ils contribuent à diverses fonctions biologiques allant de la signalisation et de la structure à la défense contre les biotiques (infection, limitation) et abiotiques (températures extrêmes, UV et lumière visible) (**Valanciene et al.,2020**)

Ils sont contenus dans les céréales, les grains de café, les fruits, les olives, les légumes et les feuilles de thé. (**Friedman ,2004**)

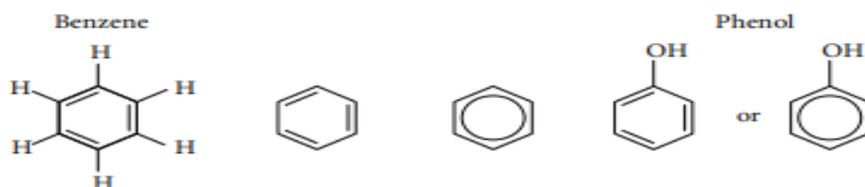


FIGURE 1: Chemical representation of a phenolic structure.

Figure 06 : représentation chimique de la structure d'un phénol

(**Swallah et al.,2020**)

2. Structure et classification des Polyphénols

D'après leurs structures chimiques, les composés phénoliques peuvent être divisés en différents sous-groupes, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les quinones, les stilbens et les curcuminoïdes (**Gan et al., 2019**). La classification des composés phénoliques est schématisée dans la **figure 07** :

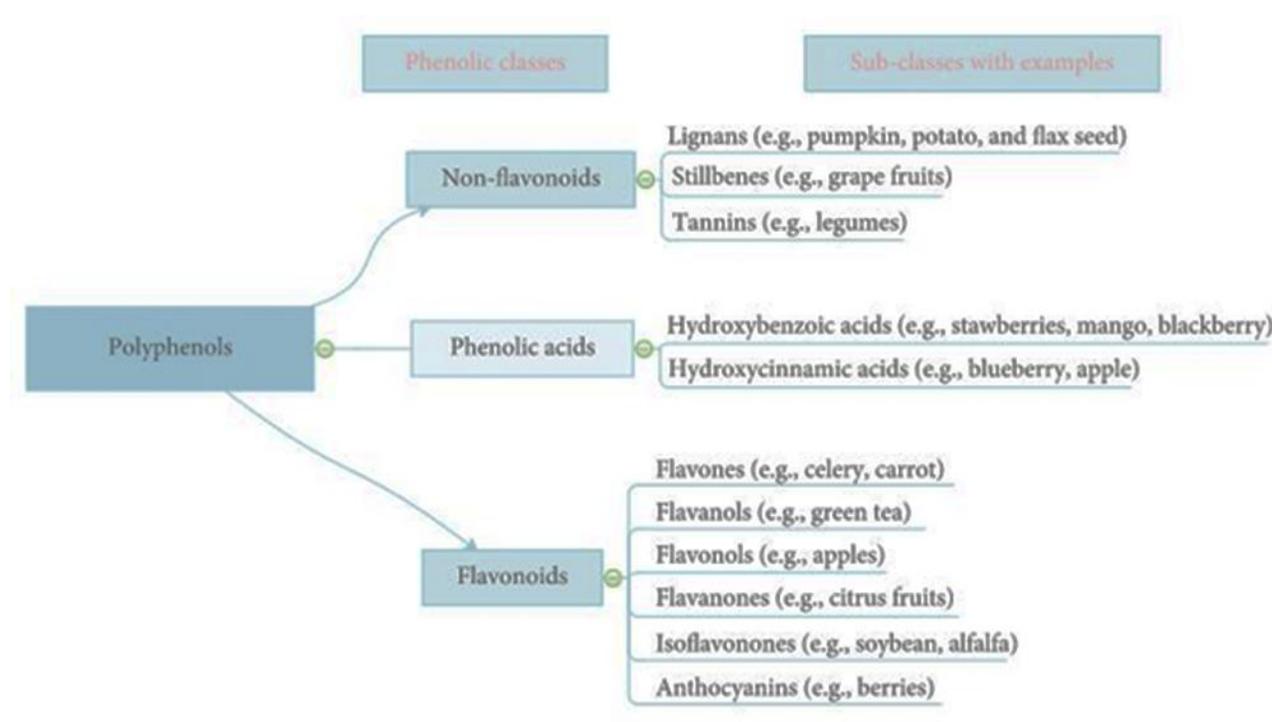


Figure 07 : Classification des composés phénoliques

(Swallah et al.,2020)

2.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de composés polyphénoliques naturellement présents dans les plantes. Les sous-groupes de flavonoïdes comprennent la flavone, le flavonol, la flavanone, le flavanonol, l'anthocyanidine, le flavanol et l'isoflavone (**figure 08**). Les diverses modifications apportées aux molécules de flavonoïdes augmentent encore la diversité des flavonoïdes. Les molécules de flavonoïdes ont un squelette de carbone en C6-C3-C6, qui est composé d'une structure benzo- γ -pyrone et d'un cycle phényle (**Ku et al.,2020**)

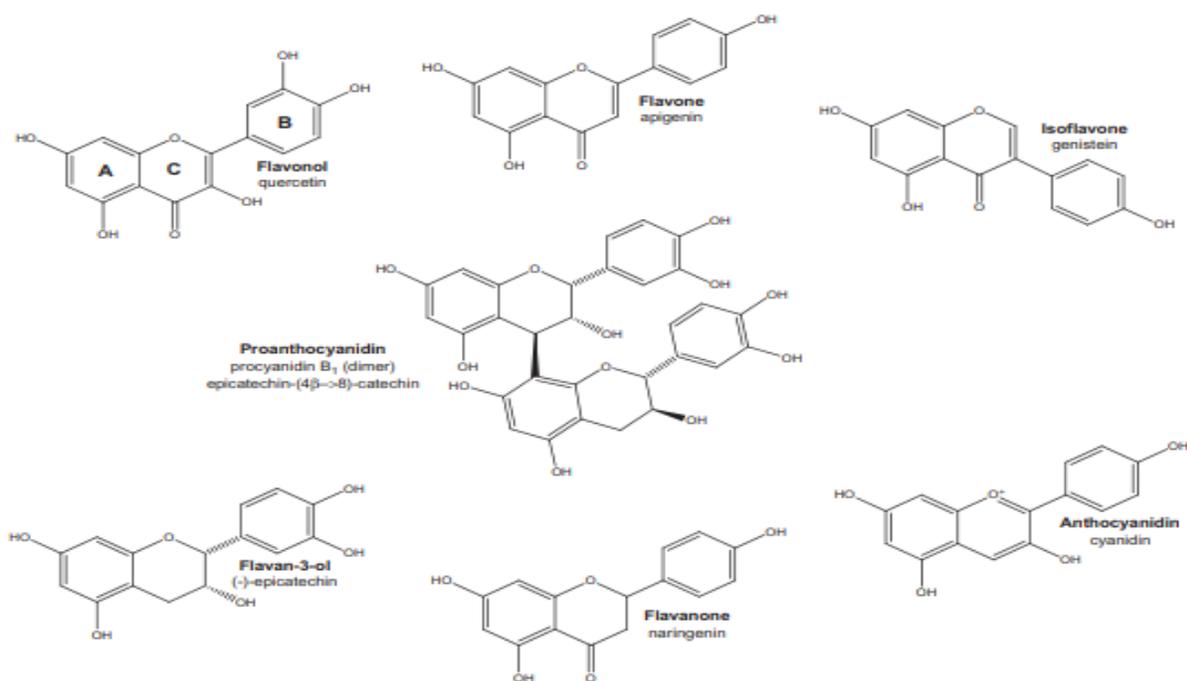


Figure 08 : Différentes classes des flavonoïdes et leurs structures chimiques

(Peterson *et al.*,2015)

2.2. Acides phénoliques

La plupart des acides phénoliques peuvent être classés en acidehydroxybenzoïques ou hydroxycinnamiques, avec une structure moléculaire différente basée sur l'acide benzoïque et l'acide cinnamique. Toutefois ils existent des acides qui n'appartiennent à aucune des deux catégories, comme les acides ellagiques et chlorogéniques (**figure 09**).

Comme la plupart des composés bioactifs, les acides phénoliques présentent des activités antioxydantes, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales et une consommation régulière est associée à une baisse de la tension artérielle et du cholestérol, et à une amélioration du contrôle de la glycémie (Shao *et al.*, 2020)

CHAPITRE II: GENERALITES SUR LES COMPOSES PHENOLIQUES

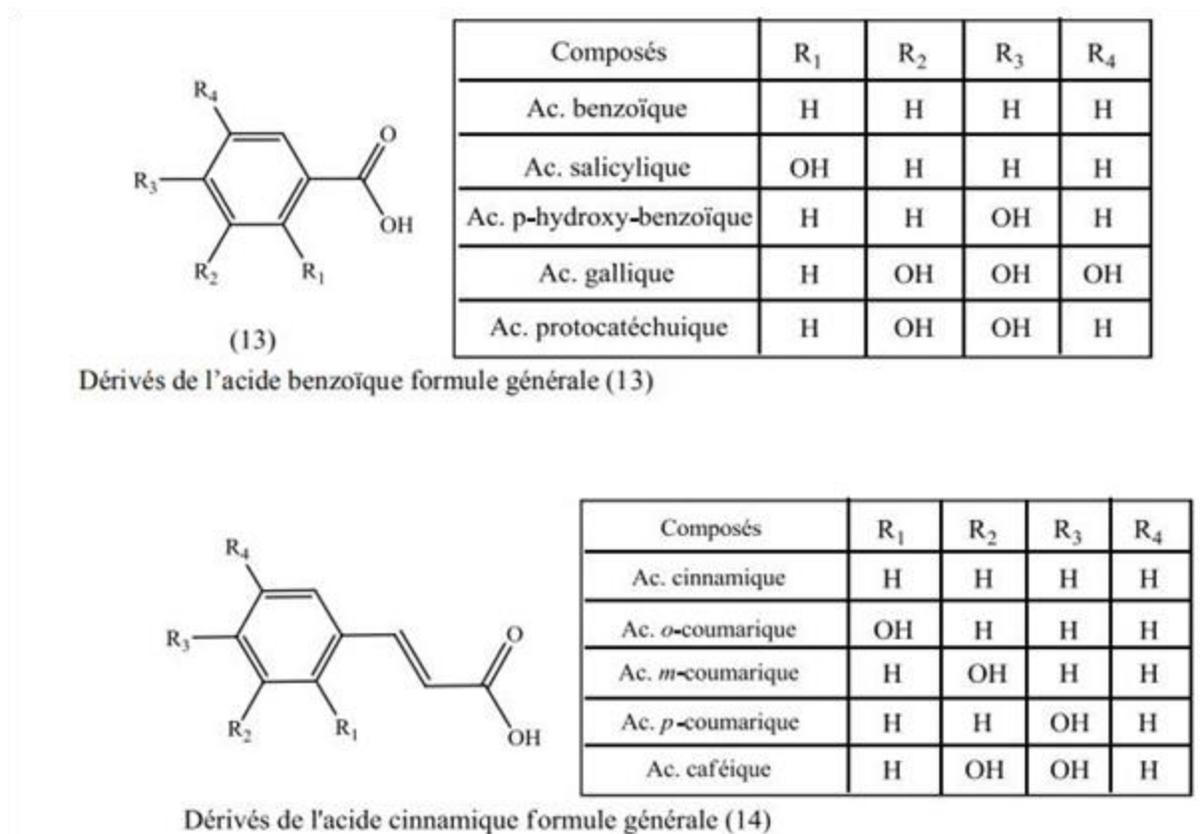


Figure 09 : Structure chimique des acides phénoliques

(Shao *et al.*, 2020)

2.3. Tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques végétaux utilisés durant l'antiquité classique dans le traitement des peaux d'animaux pour éviter leur putréfaction. Grâce à l'interaction entre les tanins et le collagène des peaux, le collagène était stabilisé et les peaux animales étaient tannées et transformées en cuir (WatreLOT *et al.*, 2020). Les tanins peuvent être divisés en quatre classes : hydrolysables, condensés, complexes et phlorotannins qui sont un petit groupe de tanins isolés principalement des algues brunes. Aucun de ces deux groupes n'est important pour le tannage du cuir (Falcão *et al.*, 2020)

Le tanin est une ressource biologique macromoléculaire naturelle, se trouve principalement dans les fruits, les graines, les fleurs et les écorces. Les propriétés chimiques uniques du tanin ont conduit à son utilisation généralisée comme colorant alimentaire,

antioxydant, agent de traitement des eaux usées, adsorbant métallique, matériau biologique et dans les applications de tannage du cuir (**Guo et al., 2020**)

2.4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été largement étudiés pour leur activité biologique (activité anticancéreuse, antibactérienne, antivirale et dépresseur du système nerveux central) dans la médecine traditionnelle et moderne (**Casciaro et al., 2020**)

2.5. Lignines

La lignine présente de nombreuses complexités par rapport à d'autres constituants en raison de sa structure et des groupes fonctionnels, qui peuvent être alkylés et acétylés de préférence en plus de subir plusieurs autres réactions telles que l'halogénéation, la nitration, la réduction, l'oxydation, la sulfonation, l'hydrolyse, l'hydrogénation catalytique sous pression et la fusion avec des métaux ou des composés alcalins (**Nasrollahzadeh et al., 2020**).

2.6. Coumarines

La coumarine est un produit naturel d'origine végétale connu pour ses propriétés pharmacologiques telles que des propriétés anti-inflammatoires, anticoagulantes, antibactériennes, antifongiques, antivirales, anticancéreuses, antihypertensives, antituberculeuses, anticonvulsivantes, antiadipogènes, antihyperglycémiques, antioxydantes et neuroprotectrices. L'exposition alimentaire aux benzopyrones est importante car ces composés sont présents dans les légumes, les fruits, les graines, les noix, le café, le thé et le vin. Compte tenu de la faible toxicité établie, du coût relativement faible, de la présence des coumarines dans l'alimentation et de leur présence dans divers remèdes à base de plantes, il semble prudent d'évaluer davantage leurs propriétés et leurs applications (**Venugopala et al., 2013**).

2.7. Quinones

Ils sont une classe de composés naturels et synthétiques qui ont plusieurs effets bénéfiques. En tant que vitamines, elles représentent une classe de molécules prévenant et traitant plusieurs maladies telles que l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires, par leur activité antioxydante, ils améliorent les conditions générales de santé (**El-Najjar et al., 2011**).

2.8. Saponines

Ils sont caractérisés par leur activité hémolytique et leurs propriétés moussantes et sont responsables de la transmission d'un goût amer et d'une astringence aux matières végétales contenant une concentration élevée de saponines.

Il a été démontré que les saponines réduisent le cholestérol chez certaines espèces animales. (Mohan *et al.*, 2016)

3. Propriétés des composés phénoliques et mécanismes d'action contre les radicaux libres

3.1. Mécanismes d'action contre les radicaux libres

La grande capacité des composés phénoliques à neutraliser les radicaux libres, et à chélater les ions métaux de transitions (cf III.5.2) est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres de groupements hydroxyles présents sur cycles benzoïques, et aussi à la proximité des groupes alkyls. Ainsi, des différentes familles connues des polyphénols, les flavonoïdes en particulier, réunissent toutes ces caractéristiques (Rice-Evans *et al.*, 1996).

3.2. Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques

En plus de leur capacité antioxydante, les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines industriels.

3.3. Activité antioxydante

Cette activité est, sans nul doute, celle qui caractérise le mieux, et avec la plus grande fréquence, les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes. En effet, de nombreuses revues leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène (O_2^- , HO^* , NO^* , H_2O_2 , $1O_2$, $HOCl$, RO^* et ROO^*) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN). Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (Quideau *et al.*, 2011).

3.4. Activité anti-inflammatoire

L'action des flavonoïdes d'un extrait de citron sur la perméabilité membranaire fut le premier effet pharmacologique connu de ces composés, il y a plus de 50 ans (**Sartori-Thiel, 2003**). Les études sur les flavonoïdes issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues car, bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme) (**Benavente-Garcia et Castillo, 2008 ; Conforti et al., 2008**). Dans la famille des stilbènes, le resvératrol, a montré des propriétés anti-inflammatoires in vivo et in vitro. Les recherches se tournent actuellement vers la synthèse de produits à base de resvératrol dans le but de diminuer l'utilisation de médicaments synthétiques (**Udenigwe et al., 2008**)

4. Rôle des composés phénoliques

4.1. Chez l'humain

La plupart des rapports confirment qu'une consommation constante de fruits contribue de manière significative à un régime alimentaire sain, et qu'une consommation moindre pourrait entraîner un risque de certaines maladies chroniques telles que le cancer., les maladies cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux (**Swallah et al.,2020**), Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères) (**Nsemi, 2010**).

4.2. Chez les végétaux

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable (**Brzowska et al., 1976**). Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. D'où l'importance croissante des études consacrés à ces composés. Leurs modes d'action et leurs signification physiologique ne sont pas encore suffisamment claires, d'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs fonctions (**Nsemi, 2010**)

**Chapitre 3 : Foie et mécanismes de
l'hépatotoxicité**

1. Anatomie du foie

Le foie est le deuxième plus grand organe du corps humain et l'organe primaire du métabolisme. Son intégrité fonctionnelle est essentielle pour l'approvisionnement et le trafic inter-organes des macronutriments (protéines, lipides et glucides) et leur métabolisme (Meyer et al., 2020). Il est grossièrement divisé en lobes gauche et droit par le ligament falciforme ; le lobe droit est large et épais, le lobe gauche est petit et fin (figure 10).

Le foie est constitué de 1 à 1,5 million d'unités structurales de base, appelés ; lobules hépatiques. Le lobule hépatique est une structure colonnaire hexagonale, avec une veine centrale et une triade portale à la périphérie, cette dernière (également appelée voie portale) est composée de trois structures importantes : une branche de l'artère hépatique propre, la veine porte hépatique et le canal biliaire intrahépatique (Abu Rmilah et al., 2019).

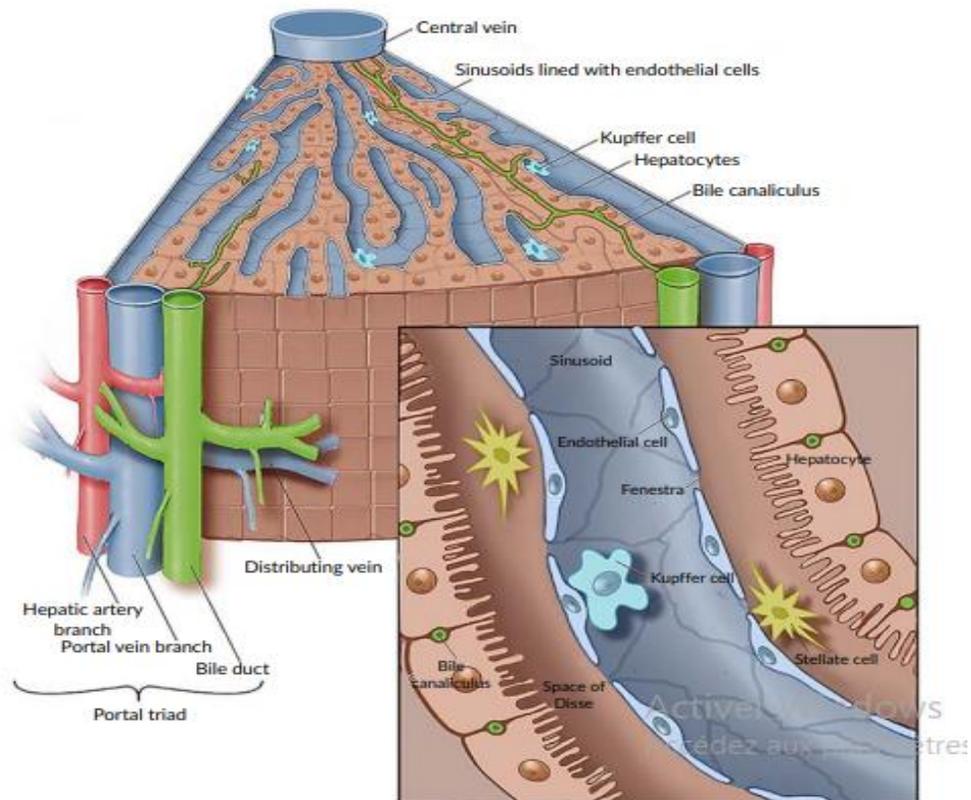


Figure 10 : Anatomie du foie (Meyer et al., 2020).

2. Histologie normale du foie

Le foie est composé de plusieurs types cellulaires d'origines embryologiques différentes, notamment les hépatocytes, les cellules épithéliales biliaires (cholangiocytes), les cellules étoilées, les cellules de Kupffer et les cellules endothéliales sinusoidales du foie. Chaque type cellulaire possède des fonctions uniques qui régulent de manière coopérative la fonction hépatique (**Lamireau et al., 2002**) (**figure 11**).

2.1. Les hépatocytes

Les hépatocytes sont les principales cellules parenchymateuses du foie qui jouent des rôles complexes dans la fibrose et la cirrhose hépatiques. Ils sont des cibles pour la plupart des agents hépatotoxiques, notamment les virus de l'hépatite, les métabolites de l'alcool et les acides biliaires (**Zhou, 2014**). Ces cellules synthétisent de nombreuses protéines plasmatiques, dont l'albumine et les facteurs de coagulation, ainsi que des facteurs endocriniens tels que le facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF-1). L'expression d'enzymes facilitant le métabolisme des glucides, lipides, acides aminés et vitamines d'origine alimentaire (**Strathearn et al., 2020**).

2.2. Les cholangiocytes

Ce sont la deuxième population épithéliale la plus abondante du foie, ayant une fonction épithéliale plus traditionnelle en tant que cellules tapissant la lumière des voies biliaires (**Barascuk et al., 2010**).

2.3. Les cellules étoilées

Ces cellules représentent une population cellulaire dynamique qui peut exister dans un état de repos ou activé. À l'état de repos, elles stockent la vitamine A dans des gouttelettes lipidiques. Les dommages au foie entraînent l'activation des cellules étoilées, qui prolifèrent et perdent progressivement leurs réserves de vitamine A. Les cellules étoilées sont également responsables du dépôt et de l'organisation du collagène dans le foie lésé. Ce processus contribue à la cicatrisation du foie, qui peut évoluer vers la cirrhose, une pathologie critique contribuant à la perte de la fonction hépatique (**Barascuk et al., 2010**).

2.4. Les cellules de Kupffer

Les cellules de Kupffer sont la population de macrophages résidentes du foie. Ces cellules reconnaissent les nombreux stimuli pathogènes introduits par la circulation portale et

peuvent jouer un rôle pro- ou anti-inflammatoire dans la cicatrisation des plaies hépatiques en fonction d'un certain nombre de facteurs contributifs (Trefts et al, 2017).

2.5. Les cellules endothéliales sinusoidales

Ces cellules constituent une population endothéliale spécialisée avec des caractéristiques uniques. Elles forment des plaques criblées fenêtrées au niveau de la lumière sinusoidale. Cette structure crée des pores dont la taille varie de 50 à 180 nm chez l'homme ou de 50 à 280 nm chez la souris et le rat. Cette organisation est critique pour l'échange de protéines et de particules dans ces limites de taille entre le plasma et les types cellulaires du foie, tout en maintenant certaines fonctions de barrière (Trefts et al, 2017).

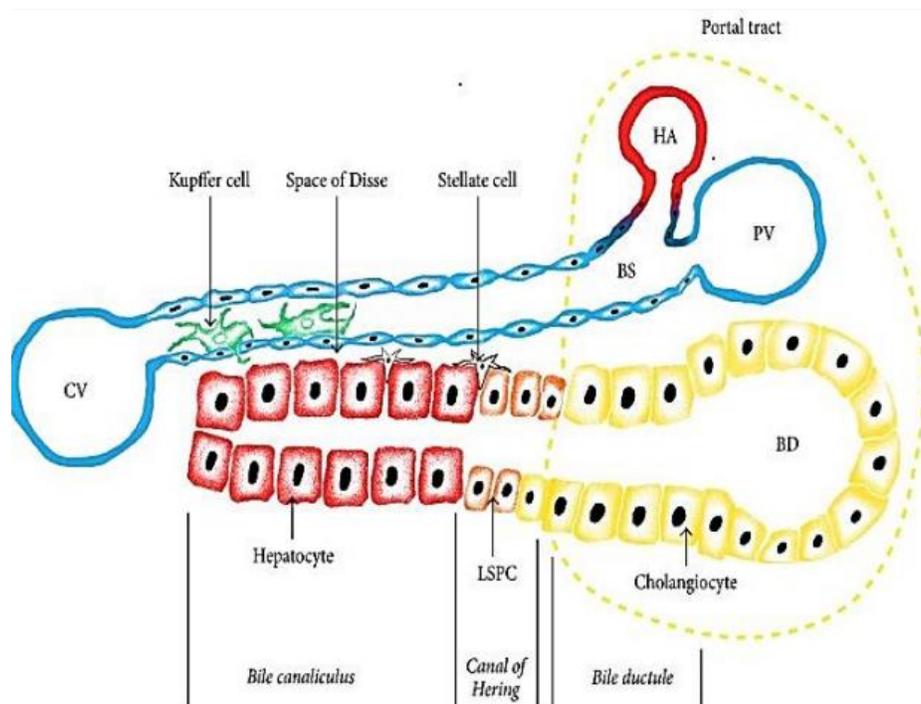


Figure 11 : Structure histologique schématique du tissu hépatique : (HA) artère hépatiques, (PV) veine porte, (BS) sinusoides sanguins, (CV) veines centrales, (BD) canaux biliaires. (Kholodenko et Yarygin, 2017).

3. Les enzymes hépatiques

3.1. Les aminotransférases

L'AST (Aspartate Aminotransférase) et l'ALT (Alanine Aminotransférase) sont des enzymes hépatiques abondantes et cruciales pour la fonction du cycle de l'acide citrique. L'ALT et l'AST sont libérés des hépatocytes endommagés dans le sang après une lésion ou une mort hépatocellulaire. Les deux aminotransférases sont fortement concentrées dans le foie, mais l'ALT est considérée comme étant plus spécifique des lésions hépatiques. Ces enzymes sont un marqueur qui permet de surveiller et détecter la progression des lésions hépatocellulaires (**Huang et al., 2006 ; Gowda et al., 2009**).

3.2. L'ALP

La phosphatase alcaline (ALP) est une enzyme produite par plusieurs tissus dont les os, le foie, l'intestin et le placenta. C'est une enzyme qui transporte les métabolites à travers les membranes cellulaires. Au niveau du foie, l'ALP est présente dans les cellules épithéliales du canal biliaire. Ainsi, la stase biliaire peut être à l'origine de l'augmentation de la libération de l'enzyme (**Gowda et al., 2009**).

3.3. La GGT

La gamma-GT (γ -GT ou gamma glutamyl-transpeptidase ou gamma glutamyl-transférase ; GGT) est une enzyme glycoprotéique située sur les membranes des cellules à forte activité sécrétoire ou absorbante dans de nombreux organes comme les reins, le foie ou le pancréas. Son activité dans le sang est essentiellement d'origine hépatique. Ainsi, son dosage permet de détecter des affections hépatobiliaires ou des tumeurs hépatiques (**Koenig & Seneff, 2015 ; Sulava et al., 2017**).

3.4. La bilirubine

La bilirubine est un pigment jaune provenant de la dégradation de l'hémoglobine, et dont l'accumulation anormale dans le sang et les tissus détermine un ictère (ou "jaunisse"). La bilirubine est dite "libre" jusqu'à son passage dans le foie, et "conjuguée" ensuite (on parle de "conjugaison hépatique"). Le taux de "bilirubine totale" est la somme des taux de bilirubine libre et conjuguée. Les causes d'élévation du taux de bilirubine sanguine sont variées : un rétrécissement sur les voies biliaires (calcul, tumeur des voies biliaires ou du pancréas ...), les

maladies du foie (hépatite, cirrhose ...), une destruction anormalement importante des globules rouges (hémolyse) (Bruno, 2016).

4. Fonctions hépatiques

4.1. Stockage et production

Le foie stocke de nombreux composés, par exemple le fer ou les vitamines. Ces composés sont ensuite libérés dans la circulation selon les besoins de l'organisme. Le foie est également un organe où a lieu la synthèse d'un grand nombre de protéines essentielles à la fonction de l'ensemble des organes. Ainsi, la majorité des protéines circulant au niveau sanguin est produite et sécrétée par le foie : il s'agit notamment des différentes protéines plasmatiques telles que l'albumine, la transferrine, les lipoprotéines mais aussi des protéines reliées au système immunitaire telles que le complément, ainsi que la plupart des facteurs impliqués dans la régulation de la coagulation (Maheul, 2018).

4.2. Détoxification

Le foie est l'organe central de la détoxification des substances toxiques exogènes et endogènes. Bien que les substances hydrosolubles sont éliminées facilement par les reins, les substances lipophiles doivent être transformées dans les hépatocytes avant leur excrétion (Messaoudi, 2017).

4.3. Régulation immunitaire

Le foie reçoit 75 % de son apport sanguin de l'intestin et de la rate via la veine porte. De ce fait, il est continuellement exposé aux antigènes alimentaires, à ceux provenant de la flore intestinale, ainsi qu'à d'éventuels microorganismes pathogènes. De plus, les lymphocytes provenant de la rate doivent traverser les sinusoides hépatiques pour atteindre la circulation systémique. Le foie doit donc être le siège de réactions immunitaires complexes qui ont pour finalité de permettre le maintien d'un état de tolérance immunitaire envers les antigènes intestinaux tout en étant capable de déployer une réponse efficace contre les agresseurs pathogènes (Lapierre & Alvarez, 2007).

5. Atteintes Hépatiques

5.1. La cirrhose

La cirrhose du foie est la dernière voie pathologique courante des lésions hépatiques résultant d'une grande variété de maladies chroniques du foie. Les principales causes peuvent être de l'alcoolisme, l'infection chronique par le virus de l'hépatite C et la stéatose ou maladies héréditaires telles que l'hémochromatose et la maladie de Wilson.

Bien que les causes de la cirrhose du foie soient multifactorielles, certaines caractéristiques pathologiques sont communes à tous les cas de cirrhose du foie, notamment la dégénérescence et la nécrose hépatocytaires, le remplacement du parenchyme hépatique par du tissu fibrotique et des nodules, et la perte de la fonction hépatique (Zhou 2014).

5.2. Cholestase

La cholestase est causée par une perturbation de l'écoulement de la bile. La perturbation du flux biliaire entraîne un déficit de bile dans l'intestin, l'accumulation d'acides biliaires toxiques et d'autres métabolites dans le foie, et une augmentation des acides biliaires dans la circulation systémique. Ce trouble peut également entraîner une malabsorption des nutriments au niveau des intestins (Meyer et al., 2020).

5.3. Stéatose

La pathogenèse de la Stéatose est multifactorielle. Des facteurs génétiques coopèrent avec des facteurs métaboliques et environnementaux pour favoriser l'accumulation de graisse dans les hépatocytes. Au cours de la dernière décennie du 20e siècle, la théorie la plus corroborée était la "pathogenèse à deux coups". Elle affirmait que la résistance à l'insuline entraînait un dépôt de triglycérides au niveau du foie, le rendant plus sensible à l'action des seconds coups, tels que le stress oxydatif, la déplétion en ATP et les endotoxines, conduisant finalement à l'inflammation, la fibrose et le cancer (Marchisello et al., 2019).

5.4. L'insuffisance hépatique aiguë (IHA)

L'insuffisance hépatique aiguë est une pathologie rare qui correspond à la perte de la fonctionnalité du foie qui se traduit par la perte des fonctions hépatiques métaboliques, de synthèse et d'élimination (Belafia et al., 2012).

6. Mécanisme de la fibrogenèse hépatique :

Un état de stress chronique, d'origine virale, métabolique ou toxique, provoque une altération de l'organisation tissulaire hépatique (**Bataller et Brenner 2005**). La structure normale du tissu peut être restaurée par un processus de cicatrisation et de réparation. Cependant, une anomalie de réparation résulte en une prédominance du tissu conjonctif cicatriciel, au détriment des cellules hépatiques. Ce tissu conjonctif est caractérisé par un dépôt important de composants matriciels essentiellement les collagènes de type I (**Vassiliadis et al., 2011**). Cette accumulation du matériel conjonctif est caractéristique du processus de fibrogenèse. La fibrose hépatique est un phénomène dynamique qui se développe progressivement suite à des interactions constantes entre les cellules et les médiateurs de la fibrogenèse, conduisant à des modifications qualitatives et quantitatives de la composition de la matrice extracellulaire. Il a été établi que les cellules hépatiques (hépatocytes, cellules de Kupffer, fibroblastes et les cellules endothéliales) sont impliquées à des degrés divers dans le développement de la fibrose (**Bataller et Brenner 2005**).

D'autre part, selon **Casini et al. (1997)**, le développement de la fibrose est associé au stress oxydant. En effet, il a été rapporté une corrélation positive entre la peroxydation des lipides membranaires et l'expression de l'ARNm codant le procollagène I au niveau des CEF en culture (**Parola et al., 1993**). De même, les résultats obtenus *in vivo* chez différents modèles expérimentaux de fibrose (rats soumis à une administration chronique du tétrachlorure de carbone (CCl₄), d'alcool ou de diméthylnitrosamine) ont rapporté l'augmentation de la concentration tissulaire hépatique en ROS (espèces oxygènes réactives) et en TBARS (substances thiobarbituriques réactives ; (**Phung et al., 2009 ; Vendemiale et al., 2001**). Les ROS peuvent être générés par les cellules de kupffer et les leucocytes (**Jaeschke, 2011**). **Baroni et al., (1996)** ont noté l'infiltration des leucocytes au cours de la fibrogenèse, en accord avec l'augmentation de la concentration plasmatique en cytokines proinflammatoires (**Parola et Robino 2001**).

7. Stress oxydant :

7.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites de manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques (Bacila, 2014). Les principaux radicaux libres (RL) dérivés de l'oxygène au niveau du tableau (02).

Tableau 02 : Principales espèces réactives de l'oxygène.

Nom	Formule
Espèces réactives de l'oxygène	
Oxygène singlet	$^1\text{O}_2$
Radical super oxyde	$\text{O}_2^{\cdot-}$
Radical hydroxyle	$\cdot\text{OH}$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical peroxyde (peroxydes lipidiques)	ROO^{\cdot}
Radical alcoxy	RO^{\cdot}
Acide hypochloreux	HOCl
Espèces réactives de l'azote	
Radical peroxydinitrite	ONOO^{\cdot}
Dioxyde d'azote	NO_2^{\cdot}
Peroxydinitrite	ROONO

(Bisbal et al., 2010)

7.2. Formation des espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des formes partiellement réduites ou excitées de l'oxygène atmosphérique. Elles fonctionnent dans les cellules comme des molécules de signalisation, mais elles sont également considérées comme sous-produits toxiques de l'oxygène (Mittler., 2017).

À l'exception de certains organismes anaérobies, l'oxygène (ou dioxygène, O_2) est indispensable à la production d'énergie par de nombreuses formes de vie (animaux, plantes, bactéries). Cette production d'énergie (sous forme d'ATP) appelée phosphorylation oxydative se

fait notamment par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries ainsi, depuis que l'atmosphère terrestre a commencé à s'enrichir en oxygène il y a environ deux milliards d'années, les organismes vivants aérobies se sont adaptés à ces conditions en apprenant à consommer et à utiliser l'oxygène mais également à éliminer les métabolites réduits produits. En effet, lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau se fait en plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés radicaux primaires ou espèces réactives de l'oxygène (ERO), car ces entités radicalaires et moléculaires sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance (Migdal *et al.*, 2011) (figure 12).

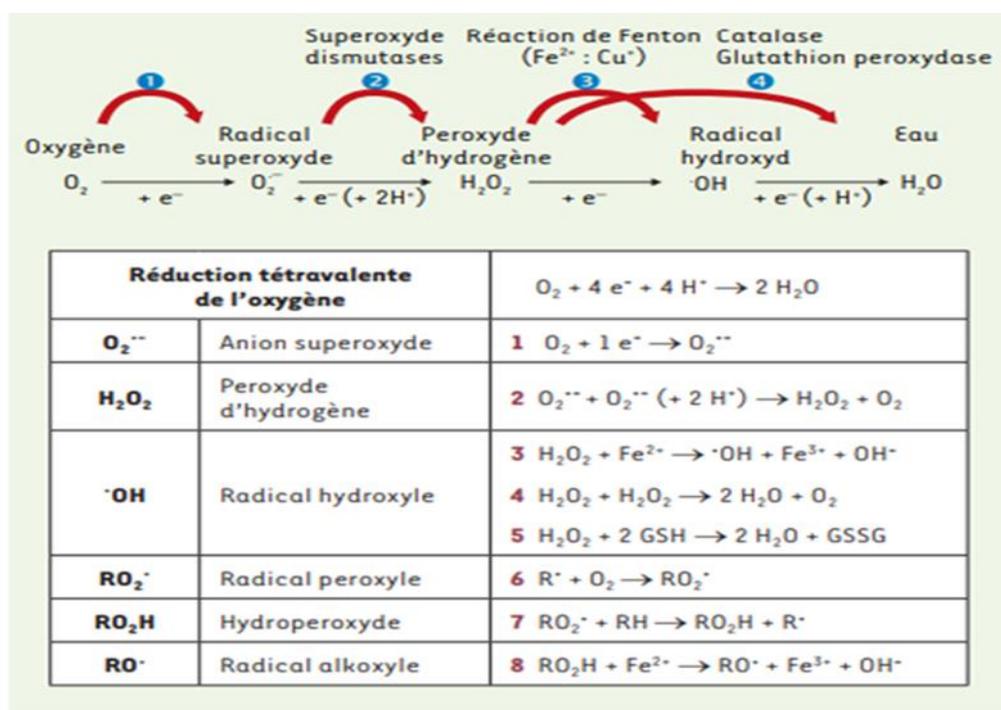


Figure 12 : Origine des espèces réactives de l'oxygène

(Migdal *et al.*, 2011)

7.3. Les systèmes antioxydants

Les antioxydants sont définis par Halliwell, (1990) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine.

7.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Figure13) les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxydedismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Mates *et al.*, 1999 ; Sharma *et al.*, 2012).

- **Superoxyde dismutase** : Le rôle majeur du superoxydedismutase ou SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Mates *et al.*, 1999 ; Sharma *et al.*, 2012).
- **La catalase** : La catalase, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Mates *et al.*, 1999 ; Sharma *et al.*, 2012).
- **Le glutathion peroxydase** : L'activité du glutathion peroxydase, ou GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Delattre *et al.*, 2005). D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxinereductase, glutathion transférase...

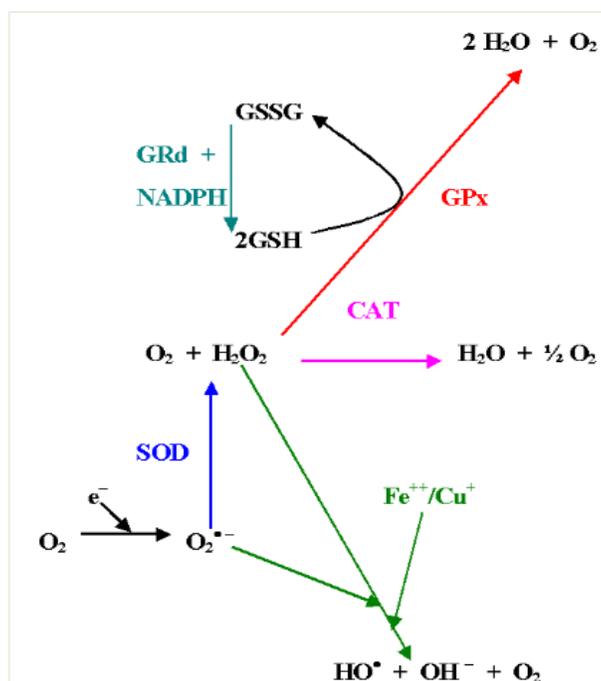


Figure 13 : Schéma des réponses antioxydantes de la cellule face aux ROS

(GRd) Glutathion Réductase, (GPx) Glutathion Peroxydase, (CAT) Catalase, (SOD) Superoxyde Dismutase, en vert - Réaction de Fenton, (GSSG) Glutathion oxydé, (GSH) Glutathion réduit.

7.3.2. Systèmes antioxydants exogènes

Les antioxydants chimiques exogènes comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999) (figure 14).

- **Acide ascorbique :** La vitamine C est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al., 1999). La vitamine C agit principalement en piégeant directement les radicaux libres (Belkheiri, 2010). Les études in vivo de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipopéroxydation (Seon et al., 2001).
- **Vitamine E :** La vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en captant les radicaux peroxydes (Kaiser et al, 1990; Yoshida et al, 1993).
- **Les caroténoïdes** Ce sont des pigments issus des plantes et microorganismes et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. On en dénombre

environ 600 présents dans la nature. Ils permettent, particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (Valko *et al*, 2006).

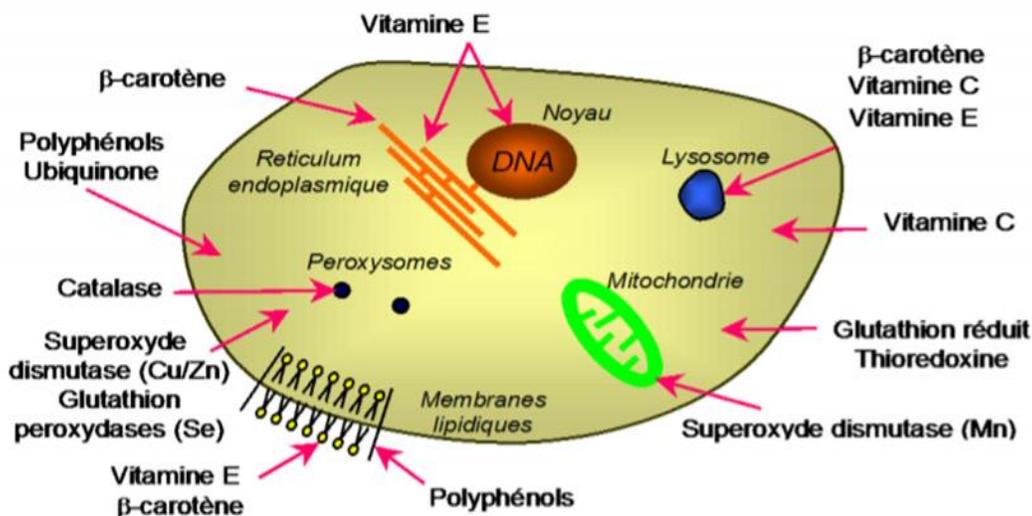


Figure 14 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires

(Adapté de Machlin *et al*, 1987)

7.4. Stress oxydant

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, ou des enzymes comme la catalase, la superoxydedismutase, la glutathion peroxydase et les peroxyrédoxine. Dans un premier temps, la cellule ne modifie pas ses propriétés biologiques. Si les ERO continuent à s'accumuler, une adaptation plus consistante de la cellule est nécessaire avec l'induction de gènes codant des enzymes anti-oxydantes, des protéines chaperons, des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN et des protéines. On observe aussi une répression des systèmes susceptibles de libérer des ERO, **notamment** la chaîne respiratoire, les cytochromes P450 et la NADPH oxydase. Dans ces conditions, un stress oxydant s'établit et la cellule adapte ses fonctions biologiques, notamment son expression génique, aux modifications de son environnement (Figure 15). Souvent, l'induction des enzymes anti-oxydantes est perçue comme le révélateur de l'existence d'un stress

oxydant, même si ceci a été remis partiellement en cause dans des expériences de génomique récentes. À un stade ultime, la cellule peut suivre la voie de l'apoptose ou de la sénescence.

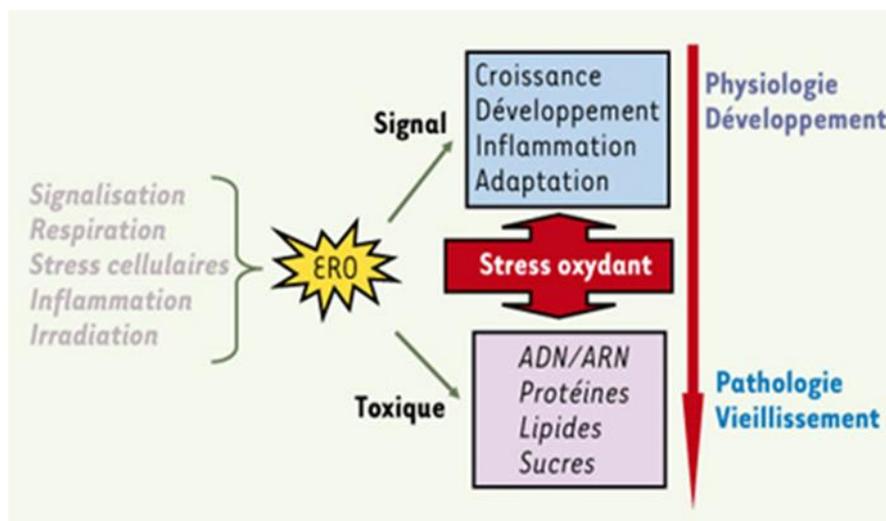


Figure 15 : La double vie des ERO : pléiotropie contradictoire et compromis

(Migdal et al., 2011).

Les ERO ont des origines multiples et exercent deux types d'action : des effets physiologiques au cours de la croissance ou de la défense de l'organisme et des effets délétères affectant différentes macromolécules et pouvant s'accumuler avec l'âge pour conduire à des pathologies et aux manifestations du vieillissement. Ces actions contradictoires sont tolérées grâce au stress oxydant qui est la réponse cellulaire adaptative à l'excès d'ERO. Au cours de l'évolution, les fonctions physiologiques des ERO auraient permis leur maintien malgré l'accumulation de leur toxicité avec l'âge (Migdal et al., 2011).

Selon cette définition, il est aisé de détecter un stress oxydant provoqué par une élévation aiguë des ERO. La situation est plus complexe lorsque l'on recherche un stress oxydant chronique au cours duquel, d'une part, les élévations des ERO sont atténuées par des boucles de régulation, et, d'autre part, les inductions des enzymes anti-oxydantes et réparatrices sont plus modestes, ces enzymes étant parfois elles-mêmes altérées par oxydation (Barouki, 2006).

7.5. Conséquences moléculaires du stress oxydatif

Les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon le taux des pro-oxydants et le type cellulaire. Un léger stress augmenterait la prolifération cellulaire et

l'expression de protéines d'adhésion, un stress moyen faciliterait l'apoptose, alors qu'un stress plus fort provoquerait une nécrose, mais un stress violent désorganiserait la membrane entraînant des lyses cellulaires immédiates. D'autres perturbations biologiques sont observées à la suite d'un stress oxydant : baisse de la fluidité membranaire, anomalies de récepteurs, diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, dépôts de lipides et affaiblissement musculaire, voire mort neuronale ou apparition de mutations. De nombreuses anomalies pathologiques sont également induites par le stress oxydant : mutations, carcinogenèse, malformations des fœtus, dépôts de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression (**Favier, 2006**).

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

1. Objectifs

Notre travail vise à extraire des constituants chimiques « les polyphénols » et d'évaluer *in vitro* l'activité anti-inflammatoire des extraits organiques et de l'extrait aqueux, préparés à partir des fruits de *Psidium guajava* L., pour cela nous avons fixé les objectifs suivants :

- ✓ Extraction des polyphénols des fruits de *Psidium guajava* L. par différents solvant à polarités différentes (Ether de pétrole, Méthanol, Acétone, Eau distillée).
- ✓ Analyse qualitative et quantitative du contenu en polyphénols des différents extraits préparés.
- ✓ Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits préparés.

2. Période et lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée pendant une durée de trois mois, allant du 01/03/2021 au 30/06/2021 au niveau du :

- Laboratoire de phytopharmacie et protections des végétaux du département de biotechnologies, faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Blida 1 pour l'extraction des polyphénols.
- Laboratoire de Recherche des biotechnologies des productions végétales au niveau du département de biotechnologies de l'université de Blida 1.
- Laboratoire de la station de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Blida 1.
- Laboratoire d'Anapathie du CHU ISSAD HASSANI Beni Messous.

❖ Appareils utilisés

- Rotavapeur
- Agitateur à hélice
- Balance de précision
- Vortex
- Spectrophotomètre

MATERIELS ET METHODES

❖ Produits chimiques utilisés

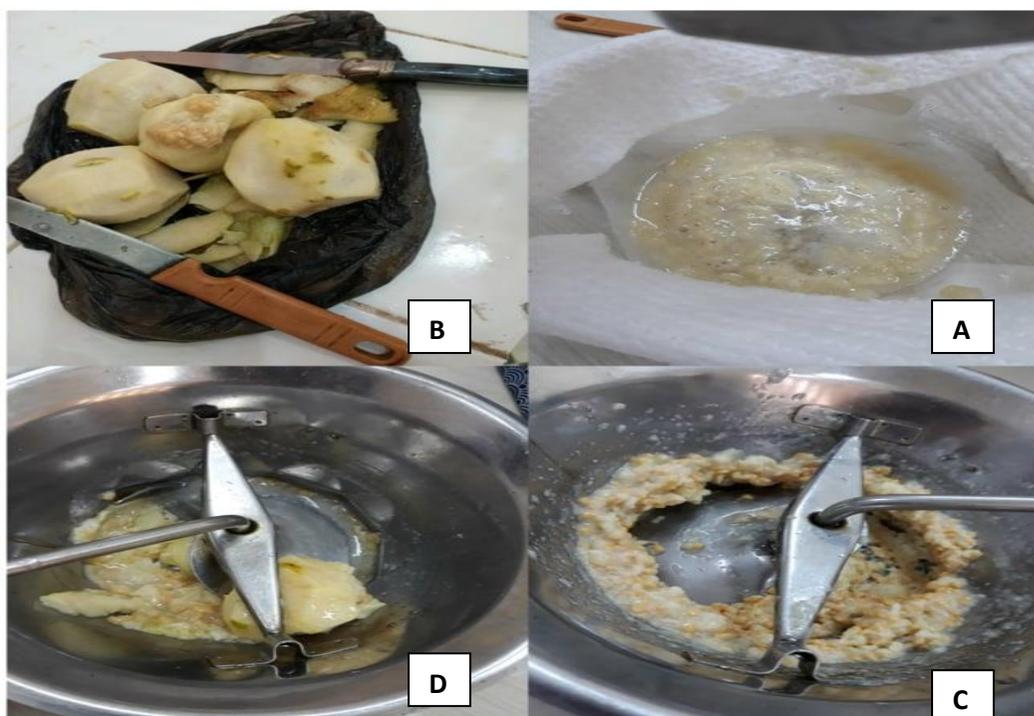
Solvants	Concentration
Acétone	96%
Ether de pétrole	96%
Méthanol	99.8%
Eau distillée	Pure

3. Matériel

3.1. Préparation du matériel végétal :

Des fruits de la goyave mûrs ont été récoltés dans la commune de Fouka, wilaya de Tipaza au mois d'octobre 2020, ensuite stockées au congélateur dans un emballage alimentaire.

Figure 16 : Différentes parties de la goyave



(A : Jus, B : Peau, C : graines, D : Pulpe)

(Originale, 2021)

3.2. Animaux

L'étude in vivo a été réalisée sur des souris mâles *Mus Musculus* pesant entre 20 et 30g fournis par l'annexe de L'Institut Pasteur d'Alger (kouba). Les animaux repartis en groupes de 9 à 10 sont hébergés dans des cages en polypropylène à température ambiante), avec accès libre à l'eau et à l'alimentation. Après une semaine d'adaptation, les animaux sont soumis à jeun pendant une nuit avant traitements.

4. Méthodes

4.1. Préparation des extraits phénoliques :

Le but de cette extraction est de libérer et d'extraire le maximum de molécules polyphénoliques présentes dans des structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

a. Extraction des polyphénols par macération à l'eau (Debib et al., 2014)

Les extraits aqueux ont été obtenus par macération pendant 72 heures de 25 g ou ml de matériel végétal dans 250 ml d'eau distillée. Les filtrats obtenus sur papier filtre Wathman (n°:1) sont alors évaporés à l'aide d'un lyophilisateurs et conservés à -20°C.

b. Extractions des polyphénols par l'éther de pétrole (Debib et al., 2014)

Chaque 25g ou ml de matériel végétal "broyée de manière à ce que la surface en contact avec le solvant soit la plus grande possible " agitée avec 250 ml d'éther de pétrole 96% pendant 24h à l'aide d'un agitateur à hélice à température ambiante. Le mélange est filtré et concentrée au rotavapeur à la température de 30°C, afin d'obtenir l'extrait d'éther de pétrole.

c. Extraction des polyphénols par le méthanol et l'acétone (Robert et al., 2007 ; Boizot et Charpentier, 2006)

25g/ml de chaque partie du matériel végétal "peau, pulpe et jus" était mis en contact avec 250 ml du méthanol et acétone à 80%, qui subit une agitation pendant 24h à l'aide d'un agitateur à hélice. Puis sont filtrés et évaporés à l'aide d'un rotavapeur afin d'obtenir l'extrait méthanolique et l'extrait d'acétone des trois parties.

MATERIELS ET METHODES

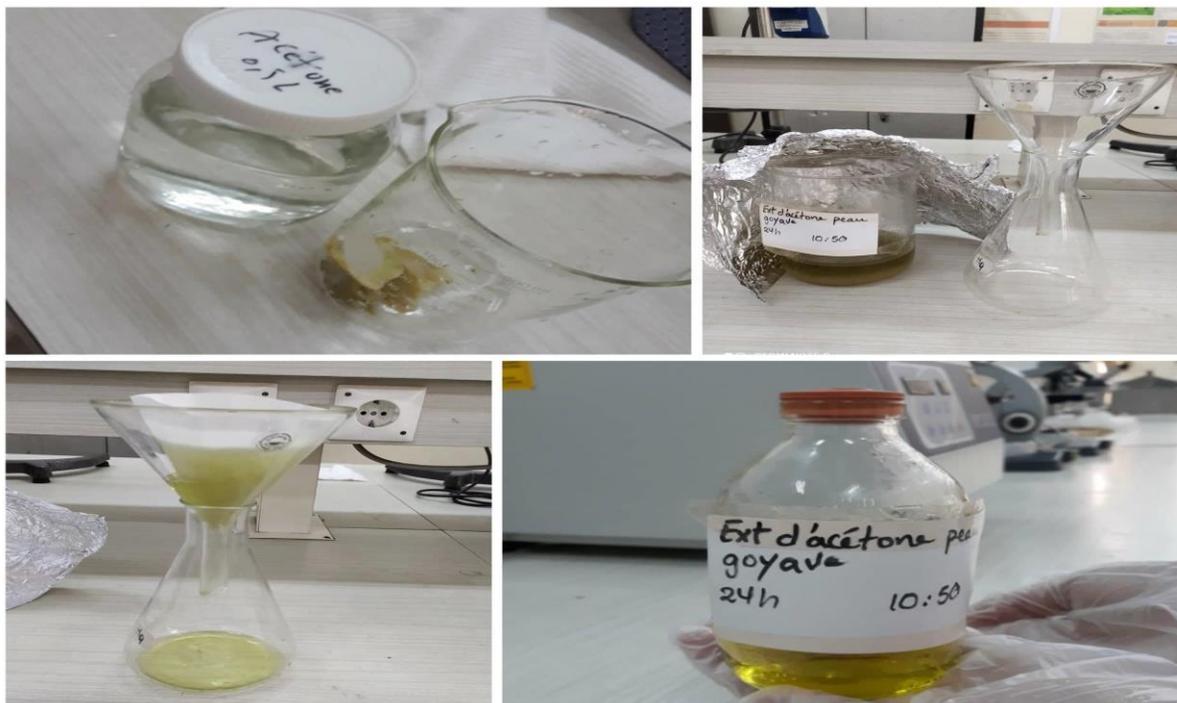


Figure 17 : Extraction des polyphénols par l'acétone

(Originale, 2021)

Les rendements d'extraction ont été calculés selon la formule décrite par **Falleh et al., (2008)** :

$$R (\%) = \frac{\text{Masse d'extrait obtenu}}{\text{Masse des goyaves analysées}} \times 100$$

Où :

R : Rendement d'extraction des composés phénoliques en pourcentage.

5. Etude phytochimique (Evans, 1996 ; Harbone, 1998)

5.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal, les résultats sont classés en :

- Réaction franchement positive : + + + +
- Réaction positive : + + +
- Réaction très faible ou douteuse : +/-

MATERIELS ET METHODES

- Réaction négative : 0

5.1.1. Flavonoïdes

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCL) et 0.5g de magnésium (Mg). On laisse agir 3 minutes. Une coloration orange ou rouge implique la présence des flavonoïdes.

5.1.2. Tanins

Un volume de 2 ml de chaque extrait, est mélangé avec 200 µl de la solution de FeCl₃ à 1%.

En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu - noir. La couleur vireau brun noir en présence de tanins galliques (tanins hydrolysables) et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés).

5.1.3. Saponines

Réaction de **Libermann-Burchard** : À 5 ml de nos extraits, on ajoute 5 ml d'anhydride acétique (C₄H₆O₃) et quelques gouttes d'H₂SO₄ concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration rouge, alors que, les triterpènes donnent une coloration verte.

5.1.4. Quinones libres

A 1ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

5.2. Dosage des composés phénoliques

5.2.1. Dosage des polyphénols par colorimétrie

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite dès 1965 par **Singleton et Rossi (1965)**, et modifiée ensuite par plusieurs auteurs (**Ollivier et al., 2004 ; Vinson, et al., 2005 ; Li et al., 2007**).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La lecture de la densité optique à 765 nm permet de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir de concentrations connues.

Procédure :

2,5 ml, l'extrait (concentration 1mg/ml) est dilué avec 25 ml d'eau distillée ensuite 2ml de la solution préparée est mélangé avec 10ml du réactif de Folin-Ciocalteu(10 fois dilué avec de l'eau distillée).Après 5 min, 8ml d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel et finalement, après 2h d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière l'absorbance est mesurée à 765nm.

Notons qu'une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec de l'acide gallique (0, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL) dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.

La concentration des polyphénols totaux présents dans nos extraits exprimée en mg Eq d'acide gallique/g d'extrait est calculée selon la formule suivante (**Bssaibis et al., 2009**) :

$$[\text{polyphénols}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

Où :

a : concentration des polyphénols en µg/ml déterminée à partir de courbe étalon.

f : facteur de dilution (x10)

b : concentration initiale des extraits (1 mg/ml).

5.2.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

La méthode au AlCl₃ (**Lamaison et Carnet, 1990 ; Huang et al., 2004**) est employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits des échantillons. Un millilitre (1ml) de chaque extrait est ajouté à un volume égal d'une solution de 2% AlCl₃ ; (2 g dans 100 ml méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance est lue à 367nm après 10mn d'incubation.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations (0-64µg/ml). La concentration des flavonoïdes présents dans nos extraits exprimée en mg Eq de quercétine/g d'extrait est calculée selon la même formule comme les polyphénols totaux.

6. Activité anti-oxydante des extraits de goyave

Principe :

Le DPPH est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :

Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH[•] (Violet) pour le transformer en molécule DPPH-H.

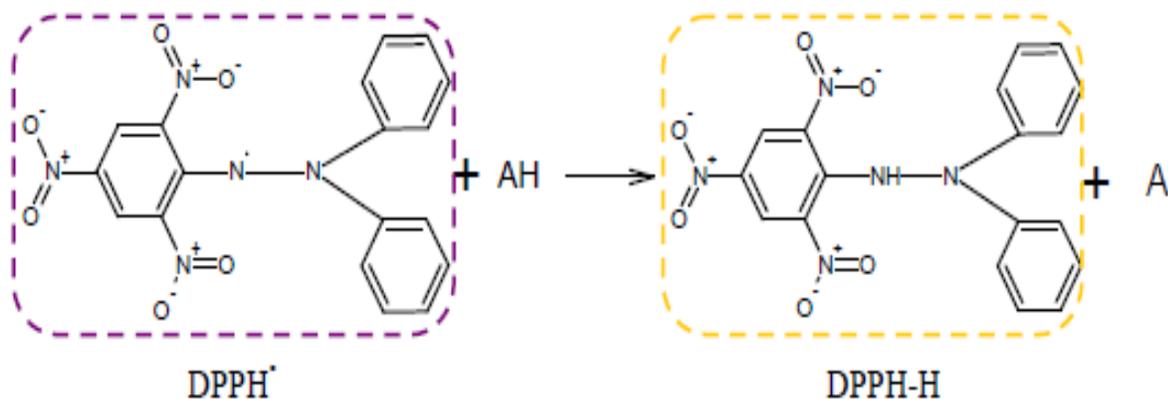


Figure 18 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH[•] entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant (AH)

(Brand-Williams, 1995)

Mode opératoire :

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits naturels de *Psidium guajava* L. vis-à-vis du DPPH est effectuée selon la méthode décrite par Atoui et al., (2005).

A 1950 µl de la solution du DPPH à 6,34 10⁻⁵M (0.0025g DPPH dans 100ml méthanol) on ajoute 50µl de chaque extrait à différentes concentrations (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg/ml) ; Pour le contrôle négatif, on mélange 50 µl du méthanol avec 1950 µl de DPPH ; Le blanc de l'appareil est le méthanol ; incubation 30 minutes à température ambiante ; La lecture se fait à 515 nm, comparée au standard qui contient l'acide ascorbique à différentes concentrations : 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 mg/ml.

MATERIELS ET METHODES

- **Calcul des pourcentages d'inhibition** : Le pourcentage de réduction du DPPH est donné par la formule suivante de **Yen et al., (1994)** :

$$\% \text{ PR du DPPH} = \frac{\text{Abs cont} - \text{Abs échan}}{\text{Abs cont}} \times 100$$

Où :

% PR du DPPH: Pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH.

Abs cont : Densité optique du DPPH.

Abs échan : Densité optique à 30 min après avoir ajouté l'extrait.

• **Calcul des IC₅₀** : Par définition la valeur IC₅₀ est la concentration de l'acide ascorbique ou de l'extrait qui peut réduire 50 % du DPPH, cette dernière est déterminée graphiquement. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par la formule de la régression des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées à l'aide du logiciel statistique.

7. Evaluation de l'effet hépatoprotecteur contre l'intoxication par le CCl₄

Principe :

Pour mettre en évidence l'activité hépatoprotective des extraits naturels de jus et des épiluchures de *P.guajava*, un modèle expérimental d'hépatotoxicité induite par le CCl₄ a été sélectionné.

Protocole expérimental :

La technique utilisée a été inspirée de la méthode décrite par **Kamisan et ses collaborateurs (2013)**. Avec quelques modifications.

Un effectif de 48 souris a été utilisé pour ce protocole. Ces souris ont été réparties en 8 groupes de 7 à 8 souris chacun. Les souris des 6 et 7 groupes reçoivent oralement 10 ml/Kg d'eau distillée quotidiennement pendant 7 jours. Lors du dernier jour, ils reçoivent le tétrachlorure de carbone 50% préparé dans le DMSO (1 ml/Kg, par voie orale). Les animaux des groupes 1, 2, 3 et 5 reçoivent par voie orale et quotidiennement pendant 7 jours 100 et 300 mg/Kg des extraits de *P.guajava*, respectivement.

MATERIELS ET METHODES

Les extraits naturels de jus et des épluchures (100, 300 et 2000 mg/Kg) ainsi que l'eau distillée ont été administrés aux souris par voie intra-gastrique (IG), à l'aide d'une sonde gastro-œsophagienne.

La nourriture a été enlevée aux souris une heure avant chaque gavage et leur a été remise une heure après. Le tableau suivant montre la répartition des groupes et les différents traitements (**Tableau 3**).

Tableau 03 : Protocole d'induction de l'hépatotoxicité par le CCl₄.

Groupe		Traitement (7 jours)	Hépto-intoxication
1	Jus + CCl ₄	Jus 300 mg/kg	DMSO + CCl ₄
2	Épluchures + CCl ₄	Épluchures 100 mg/kg	DMSO + CCl ₄
3	Jus + CCl ₄	Jus 100 mg/kg	DMSO + CCl ₄
4p	Contrôle épluchures	Épluchures 2000 mg/kg	Eau distillée
4J	Contrôle jus	Jus 2000 mg/kg	Eau distillée
5	Épluchures + CCl ₄	Épluchures 300 mg/kg	DMSO + CCl ₄
6	Témoin	Eau distillée	Eau distillée
7	Contrôle CCl ₄	Eau distillée	DMSO + CCl ₄

L'effet préventif de l'extrait contre une hépatotoxicité induite par le CCl₄ a été évalué après administration des extraits de *P.guajava* pendant 7 jours. Au 7^{ème} jour, 1 ml/Kg CCl₄ (50%) a été administré aux souris par voie intra-gastrique 1h après administration de la dernière dose des extraits. 2 jours après, les souris ont été sacrifiées par décapitation sous légère anesthésie à la vapeur de chloroforme, cela après un jeûne nocturne.

Le sang a été récolté à partir de la jugulaire pour le dosage des paramètres hépatiques dont les transaminases, bilirubine totale et l'alkaline phosphatase. Le foie a été récupéré après dissection, homogénéisé et utilisé pour la réalisation du test de la peroxydation lipidique. Quelques échantillons de foie ont été immédiatement récupérés, nettoyés et conservés dans du formol à 10 % pour l'étude histologique.

MATERIELS ET METHODES

7.1. Analyses biochimiques

Le taux de l'alanine transaminase (ALAT), l'aspartate transaminase (ASAT), la phosphatase alcaline (ALP), la bilirubine est déterminée dans le plasma.

7.2. Etude histologique

Des portions de taille moyenne de foie sont fixés dans le formol 10% pendant 48 h. Après fixation, elles sont déshydratées progressivement dans l'éthanol (70-75%, 90-95% et 100%) à l'aide de deux automates TISSUE-TEKII et LEICA TP 1020. L'inclusion dans la paraffine est réalisée dans des moules métalliques par l'intermédiaire de l'automate d'inclusion (LEICA EG 1160). Les blocs paraffinés obtenus sont ensuite coupés par un microtome (LEICA RM 2235) en coupes de 5 µm d'épaisseur. Ces dernières sont étalées sur des lames et séchées pendant une heure à 37°C, réhydratées, colorées au trichrome de MASSON ou à l'hématoxyline-éosine à l'aide de l'automate de coloration (LEICA ST 4040). L'observation des coupes histologiques est effectuée sous microscope optique (LEICA DM 1000) doté d'un appareil photo intégré (LEICA DFC 495) numérisé et du logiciel LEICA LAS. V.3.8.

8. Analyses statistiques

Les résultats des analyses effectuées en triplicata sont exprimés en moyenne \pm Standard Errors (SD). Les analyses statistiques ANOVA sont effectuées par « SigmaPlot 11.0 ». L'analyse de la variance à une seule et deux voies a été appliquée pour déterminer la différence significative à $p < 0,05$. Les groupes homogènes ont été réalisés par le même logiciel en utilisant la méthode de Student-Newmen-Keuls.

Chapitre 2 : Résultats et discussions

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Rendement d'extraction

Pour choisir un solvant très efficace pour notre échantillon, et selon la recherche bibliographique qui suggère quelle méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modifications chimiques (**Turkmen et al., 2007**), on a testé quatre solvants à polarité croissante : Ether de pétrole, Acétone, Méthanol et Eau distillée.

La détermination des taux de rendement des différentes extractions effectuées nous a permis de rapporter nos résultats de dosage au poids frais de trois parties du fruit de la goyave. Ces rendements sont exprimés en pourcentage de la matière fraîche (**Figure 19**).

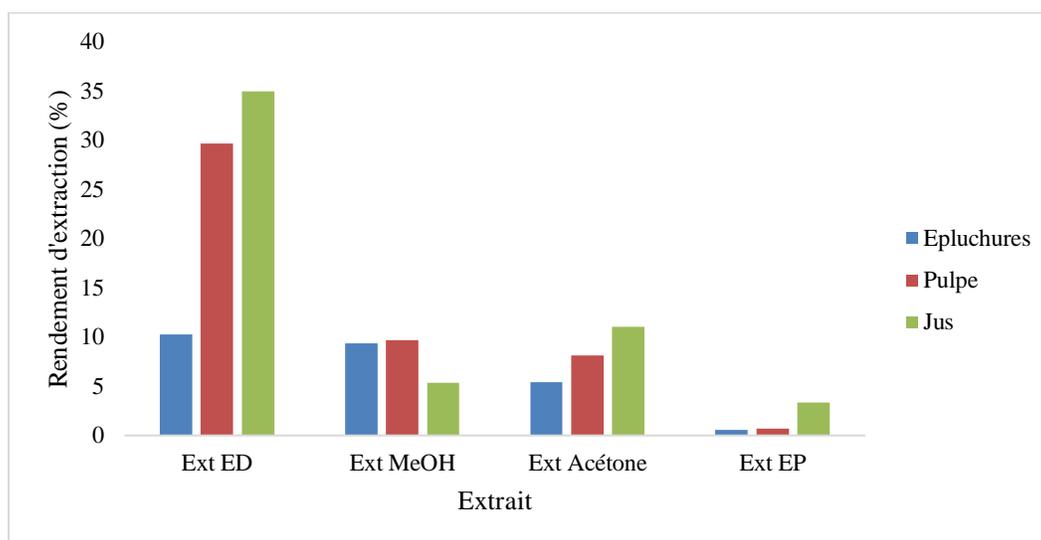


Figure 19 : Rendement d'extraction des extraits phénoliques

(**Ext ED** : Eau distillée, **Ext MeOH** : Méthanol, **Ext Acétone** : Acétone, **Ext EP** : Ether de pétrole)

Les résultats des rendements obtenus par différents solvants donnés par la figure 19 montrent que les meilleurs rendements d'extraction ont été obtenus par les solvants polaires (eau distillée, méthanol, acétone), où nous remarquons que l'eau distillée donne le meilleur rendement d'extraction soit une valeur de 34,99 % sur les trois échantillons étudiés (épluchures, pulpe et jus), alors que l'éther de pétrole (solvant le plus apolaire) donne le plus faible rendement (0,55%).

En revanche, les rendements de l'acétone et du méthanol à 80% sont très proches et elles sont similaires à savoir des valeurs de 11.05% et 9.68% respectivement. Ces résultats corrélerent avec celle de **Ferhat, (2009)** qui explique que le rendement variable des extraits revient à la

RESULTATS ET DISCUSSIONS

solubilité différentielle des différents composés phénoliques dans les solvants et que cette solubilité est en fonction de leurs degrés de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et de la nature et des caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés et notamment leur polarité (Falleh et al., 2008).

Les rendements d'extraction diffèrent en fonction de la partie du fruit dont le jus enregistre le rendement le plus élevé à savoir 34,99 % suivie par la pulpe 29,68% et le faible rendement est celui des épiluchures de 10,27%.

De nombreuses études ont confirmé que le rendement et la quantité en principes actifs sont diversifiés au niveau subcellulaire et dans les tissus végétaux (Macheix et al., 1990 ; Randhret al., 2004).

Cependant, nous n'avons pas trouvé de rapport sur les rendements d'extraction des épiluchures et du jus à comparer avec nos données.

2. Etude phytochimique

2.1. Screening phytochimique

L'étude du criblage phytochimique réalisée, nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique des parties étudiées et les grandes familles des composés chimiques que les extraits du fruit *Psidium guajava* peuvent contenir.

Les résultats des tests qualitatifs de la présence et l'absence des principes actifs sont illustrés dans les tableaux suivants :

Tableau 04 : Screening phytochimique des tannins sur les différents extraits de goyave

ED Pulpe	ED Peau	ED Jus	Ether Pulpe	Ether Peau	Ether Jus	Acét Pulpe	Acét Peau	Acét Jus	Méth Pulpe	Méth Peau	Méth Jus
++ Cat	+++ Gal	++ Cat	-	-	+ Cat	+++ Tanin	+++ Tan Gal	+++ Tanin	+ Tanin	+++ Tanin	+ Tanin

(+) Faible présence, (+++) Présence franchement positive, (++) Présence moins importante (-) Absence.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 05 : Screening phytochimique des saponines sur les différents extraits de goyave

ED Pulpe	ED Peau	ED Jus	Ether Pulpe	Ether Peau	Ether Jus	Acét Pulpe	Acét Peau	Acét Jus	Méth Pulpe	Méth Peau	Méth Jus
+	+	+	-	+	+	++	+++	++	+	++	+
Ster	Ster	Ster			Ster	Ster	Ster	Ster	Ster	Ster	Ster

(+) Faible présence, (+++) Présence franchement positive, (++) Présence moins importante (-) Absence.

Tableau 06 : Screening phytochimique des flavonoïdes sur les différents extraits de goyave

ED Pulpe	ED Peau	ED Jus	Ether Pulpe	Ether Peau	Ether Jus	Acét Pulpe	Acét Peau	Acét Jus	Méth Pulpe	Méth Peau	Méth Jus
-	+	-	-	-	-	+++	+	++	+	+	-

(+) Faible présence, (+++) Présence franchement positive, (++) Présence moins importante (-) Absence.

Tableau07 : Screening phytochimique des quinones libres sur les différents extraits de goyave

ED Pulpe	ED Peau	ED Jus	Ether Pulpe	Ether Peau	Ether Jus	Acét Pulpe	Acét Peau	Acét Jus	Méth Pulpe	Méth Peau	Méth Jus
+	+++	++	-	-	+	+++	++	+++	+++	+++	+++

(+) Faible présence, (+++) Présence franchement positive, (++) Présence moins importante (-) Absence.

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les trois parties de fruit étudiées sont plus ou moins riches en divers métabolites secondaires.

D'après ces résultats, les extraits des trois parties étudiées sont riches en tannins, quinones libres, saponines et en stéroïdes avec une présence modérée de flavonoïdes. Ces résultats sont confirmés par **Arockia et al., (2017)**, **Vikrant et al., (2012)** et **Andrianarison et al., (2015)** qu'ils ont révélé, dans études sur les extraits polaires des épiluchures, pulpe et jus de goyave respectivement, la présence de divers métabolites secondaires à savoir les tannins, les flavonoïdes, les stérols, les glycosides, les saponines et les terpenoïdes. D'autre part, ils ont signalé l'absence des quinones libres et flavonoïdes dans la pulpe de goyave issue de Madagascar.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats du screening phytochimique ont montré que les extraits obtenus avec les solvants les plus polaires sont les plus riches en principes actifs. Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des polyphénols, dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (Deba et al.,2008).

Nos résultats corroborent avec ceux de **Falleh et al., (2008)**, où ils ont montré que la solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé. Ces observations ont été confirmées avec d'autres méthodes d'analyses quantitatives des composés phénoliques et des flavonoïdes.

3. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en composés phénoliques sont mentionnés dans la figure 20. La concentration en polyphénols est estimés à partir d'une équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage réalisé à base d'acide gallique, dont $y= 0,0256x + 0,095$ (**Annexe 10**).

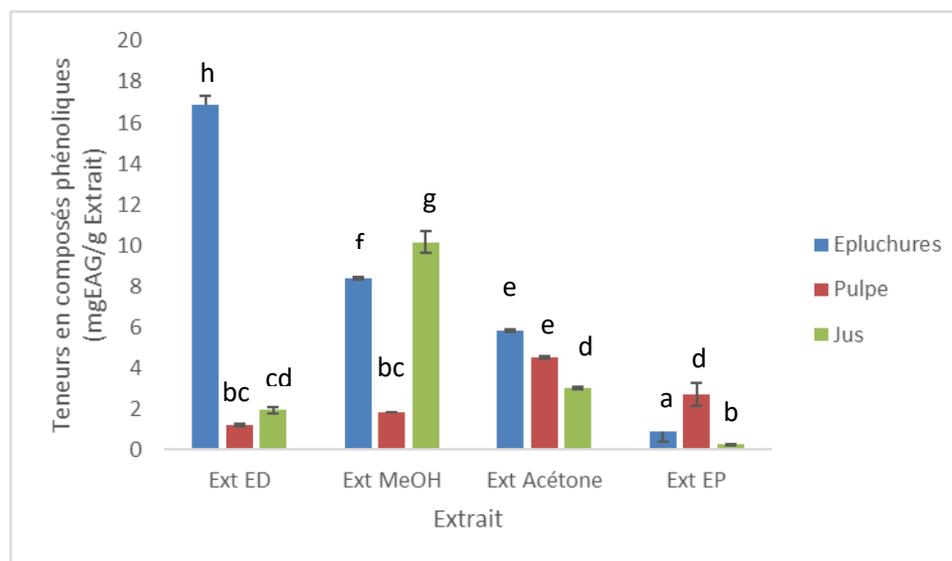


Figure 20 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de *Psidium guajava*.

Les teneurs en polyphénols totaux présentées dans la figure 20, révèlent une différence significative ($p < 0,05$) (**Annexe 11-A**); Le test de **Newmen et Keuls** ($\alpha = 5\%$) révèle neuf groupes homogènes (**Annexe 11-B**).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

La variation de la teneur en polyphénols totaux en fonction de la partie du fruit et du solvant utilisé est hautement significative ($p < 0,01$) dont les épluchures donnent les teneurs les plus élevées ($16,88 \pm 0,45$ mg EAG/g Ext en moyenne). Cette teneur est environ 3 fois supérieure à celle enregistrée par la pulpe et le jus ($4,51 \pm 0,04$ et $10,14 \pm 0,53$ mg EAG/g Ext en moyenne respectivement). Cependant, on peut distinguer que la teneur des polyphénols des trois parties de la goyave (pulpe, peau et jus) dépend de la polarité du solvant utilisé et de la partie du fruit étudiée.

En revanche, nos résultats montrent que les extraits polaires et moyennement polaires (aqueux, méthanolique et acétonique) sont les extraits les plus riches en polyphénols, dont les valeurs sont très proches et varient de $1,18 \pm 0,06$ mgEAG/g à $16,88 \pm 0,45$ mgEAG/g d'extrait. D'autre part les extraits apolaires (éther de pétrole) ont montré des valeurs faibles voisines allant de $0,25 \pm 0,03$ mgEAG/g à $0,86 \pm 0,05$ mgEAG/g d'extrait. Nos résultats corroborent avec ceux de **Gorinstein et al., (2002)**, où ils ont montré que les teneurs en phénols totaux sont systématiquement plus élevées dans la peau que dans la chair des pommes, poires et pêches.

4. Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes totaux

Les résultats de la teneur en flavonoïdes sont illustrés dans la figure 21. La concentration en flavonoïdes est estimée à partir d'une équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage réalisé à base de quercétine, dont $y = 0,0406x + 0,0432$ (**Annexe 12**).

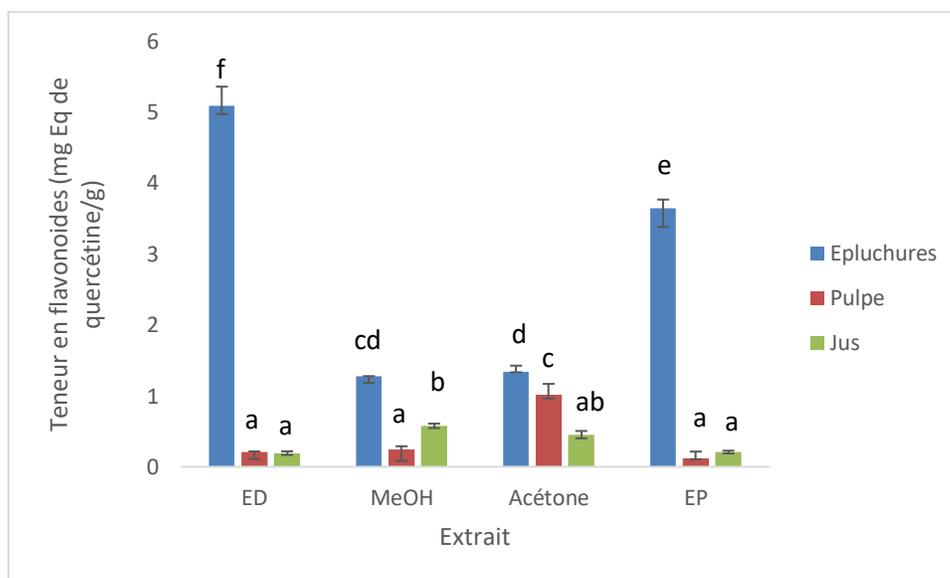


Figure 21 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de *Psidium guajava*.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Statistiquement la différence entre les teneurs en flavonoïdes en fonction de la partie du fruit et du solvant utilisé est hautement significative ($p < 0,01$) (**Annexe 13-A**); Le test de Newman et Keuls ($\alpha = 5\%$) révèle huit groupes homogènes (**Annexe 13-B**).

La grande distinction entre les parties apparaît au niveau de la richesse de certaines et la pauvreté des autres ; les épiluchures enregistrent un maximum de flavonoïdes ($5,09 \pm 0,26$ mg EQu/g Ext en moyenne) tandis que la pulpe et le jus renferment des teneurs de 3 à 5 fois plus faibles ($0,20 \pm 0,01$ et $0,19 \pm 0,03$ mg EQu/g Extrait en moyenne respectivement). Nos résultats concordent avec ceux de **Huang et al., (2005)**, où ils ont signalé que la présence des polyphénols et des flavonoïdes dépend des différentes parties de la plante selon sa maturité et de ses conditions de croissance.

Nous remarquons aussi que les résultats de la teneur en flavonoïdes par les différents solvants montrent que l'eau distillée est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de $5,09 \pm 0,26$ mg EQu/g Ext. Ainsi, la quantité de flavonoïdes était plus élevée dans les extraits de solvants polaires et plus faible dans les extraits de solvants non polaires sauf que pour l'extrait des épiluchures ($3,64 \pm 0,12$ mgEQu/g Ext). Ces résultats sont en accord avec ceux de **Rishika et Sharma, (2012)** et **Philip et al., (2015)**, où ils ont démontré la richesse des extraits éthanoliques et méthanoliques de fruit de *Psidium guajava* en composés phénoliques et flavonoïdes totaux.

5. Test DPPH mesuré au spectrophotomètre

L'activité antioxydante des extraits aqueux de *psidium guajava* est évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violette foncé) est converti en 1,1-diphényl-2-picryle hydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (**Molyneux, 2004**).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont illustrés dans la **figure 22** :

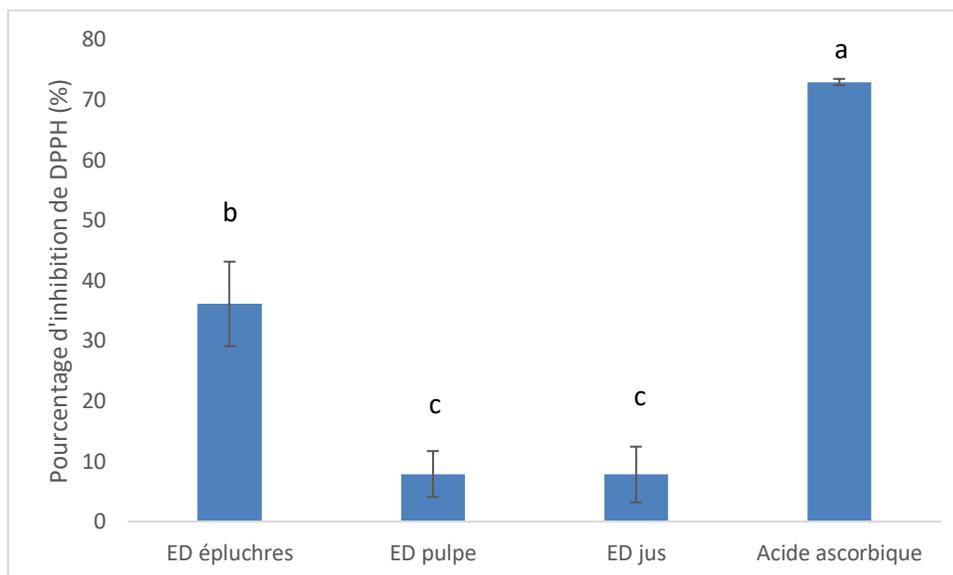


Figure 22: Pourcentage d'inhibition de radicale DPPH des extraits de goyave.

Les analyses statistiques ont montré une différence significative ($p < 0.001$) entre le pourcentage d'inhibition (PI) de différents extraits étudiés et l'acide ascorbique ; Le test de Newman et Keuls ($\alpha = 5\%$) révèle trois groupes homogènes (**Annexe 14**).

L'extrait des épluchures a exercé le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec inhibition de $36,10 \pm 7,02\%$, alors que les extraits de pulpe et de jus ont exercé les plus faibles activités anti-radicalaires de $7,88 \pm 3,80\%$ et $7,80 \pm 4,62\%$ respectivement. Cette activité reste toujours très inférieure à celle du standard l'acide ascorbique ($72,93 \pm 0,52\%$).

Une étude de **Chiari et al., (2012)** sur les fruits de *psidium guajava* issus du Brazil a montré que l'extrait aqueux a inhibé le radical DPPH avec un pourcentage de 87,3%, ce dernier est plus élevé par rapport à celle que nous avons trouvé.

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration des extraits ou d'acide ascorbique nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC50 est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Pour obtenir ces valeurs, une courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été construite. Ces courbes ont fourni suffisamment d'informations pour permettre de calculer la quantité d'extrait nécessaire pour éteindre 50 % des radicaux libres dans le mélange réactionnel (**Annexe 15**). Les résultats ont été obtenus en triplicata pour chacun des extraits. Les résultats des propriétés antioxydantes des extraits de *psidium guajava* et de la vitamine C sont présentés dans la **figure 23** L'activité est exprimée sous la forme de valeurs d'IC50.

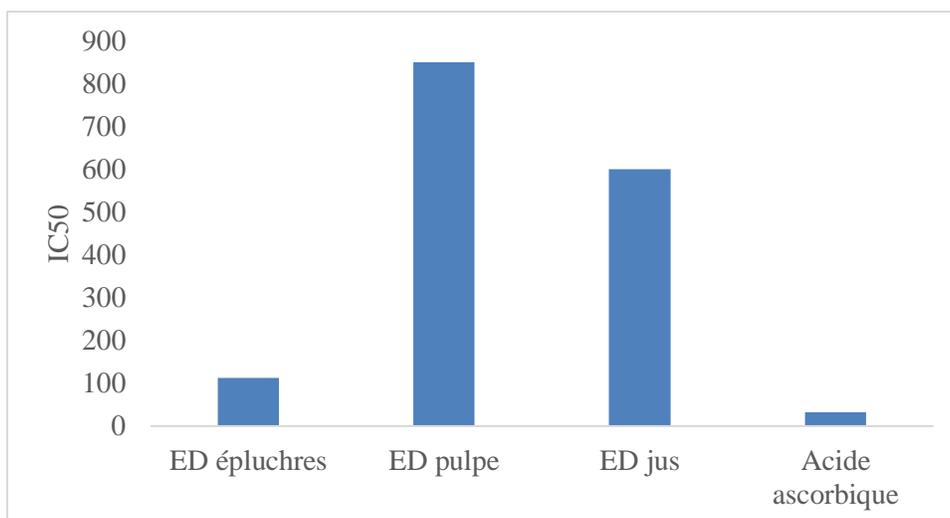


Figure 23 : Valeurs de la IC50 des extraits obtenus

L'extrait des épluchures de *psidium guajavaa* montré une très forte activité antioxydante sur les radicaux DPPH proche à celui de l'acide ascorbique avec une IC50 de 112,01 µg/ml. D'autre part, la capacité antioxydante des extraits de pulpe et de jus (850,30 et 599,98 µg/ml respectivement) reste moindre par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C (IC50 = 32,52 µg/ml).

Concernant l'extrait de pulpe quelques travaux ont pu en déterminer des activités antioxydantes nettement supérieurs à la nôtre. **Andrianarison et al., (2015)** ont pu mettre en évidence une activité antioxydante élevée de l'extrait aqueux de *psidium guajava* issu de Madagascar avec une valeur d'IC50 = 14,97µg/ml.

L'activité antioxydante des extraits peut être comparée à leurs concentrations en composés phénoliques et en flavonoïdes et on peut observer qu'une corrélation existe entre les

RESULTATS ET DISCUSSIONS

quantités de ces composés et l'activité antioxydante (Choudhury, 2012), puisque ces composants, ainsi que l'acide ascorbique, également présent dans les extraits de *P. guajava* L., sont probablement responsables de la majeure partie de cet effet dans les extraits.

Les composés phénoliques peuvent manifester un fort pouvoir antioxydant *in vitro*, ils piègent directement les espèces réactives d'oxygène (Miguel, 2010).

6. Effet de l'administration du CCL4 et celle des différents extraits de *Psidium guajava* sur l'organisation tissulaire du foie :

La comparaison des coupes histologiques des souris témoins celles ne recevant aucun traitement à celles des souris ayant été traitées aux CCL4 et/ou les extraits du fruit à différentes doses a montré que ces dernières présentent certaines modifications de l'histologie hépatique.

6.1. Histologie du foie des souris témoins

Le tissu hépatique est constitué de cellules et d'une matrice extracellulaire qui les maintienne en contact. Ainsi, 3 types cellulaires se distinguent ; les cellules parenchymateuses appelées également hépatocytes sont des cellules épithéliales, polyédriques, à cytoplasme granuleux, contenant un ou deux noyaux volumineux (figure 24, 25), les fibroblastes du tissu conjonctif périvasculaires et les cellules de kupffer de la paroi des capillaires (figure 26). Les hépatocytes sont organisés en travées monocellulaires formant des lobules hépatiques (figure 26), qui se définissent par des espaces portes périphériques et une veine centrolobulaire. Les travées d'hépatocytes sont séparées les unes des autres par les capillaires sinusoides. Un tissu conjonctif de faible quantité est localisé essentiellement autour des vaisseaux sanguins (figure 26, 27).

6.2. Effet du CCL4 sur la structure du foie

Les altérations notées au niveau des préparations histologiques des souris intoxiquées au CCL4 sont caractérisées par une accumulation du tissu conjonctif autour des différentes structures vasculaires (figure 28). Ces derniers semblent être dilatés (figure 29). Les dépôts de matériel conjonctif s'observent aussi au niveau des espaces intercellulaires, localisés dans des zones limitées formant ainsi des septa fibreux qui découpent le parenchyme hépatique. En effet, les dépôts de collagènes témoigneraient d'un stade précoce évolutif d'une fibrose hépatique. De

RESULTATS ET DISCUSSIONS

plus, une infiltration cellulaire est notée au niveau du système porte. L'infiltrat inflammatoire est riche en noyaux cellulaires de différentes formes qui correspondraient à des leucocytes. Le tissu hépatique est le siège d'autres infiltrats inflammatoires, mononuclés, disséminés renfermant des noyaux des hépatocytes, ce qui correspondraient à des foyers nécro-inflammatoires (**figure 28, 29, 30**).

Des hépatocytes à cytoplasme clair, aspect généralement caractéristique des inclusions lipidiques, sont observées sur des zones limitées (**figure 31-37**). Ce qui laisse supposer une légère accumulation lipidique.

Ces modifications de l'histologie hépatique semble être moins accentuées au niveau des coupes ayant reçu le traitement au extraits de *Psidium guajava*.

Histologie du foie des souris du groupe témoin

(Planche I)

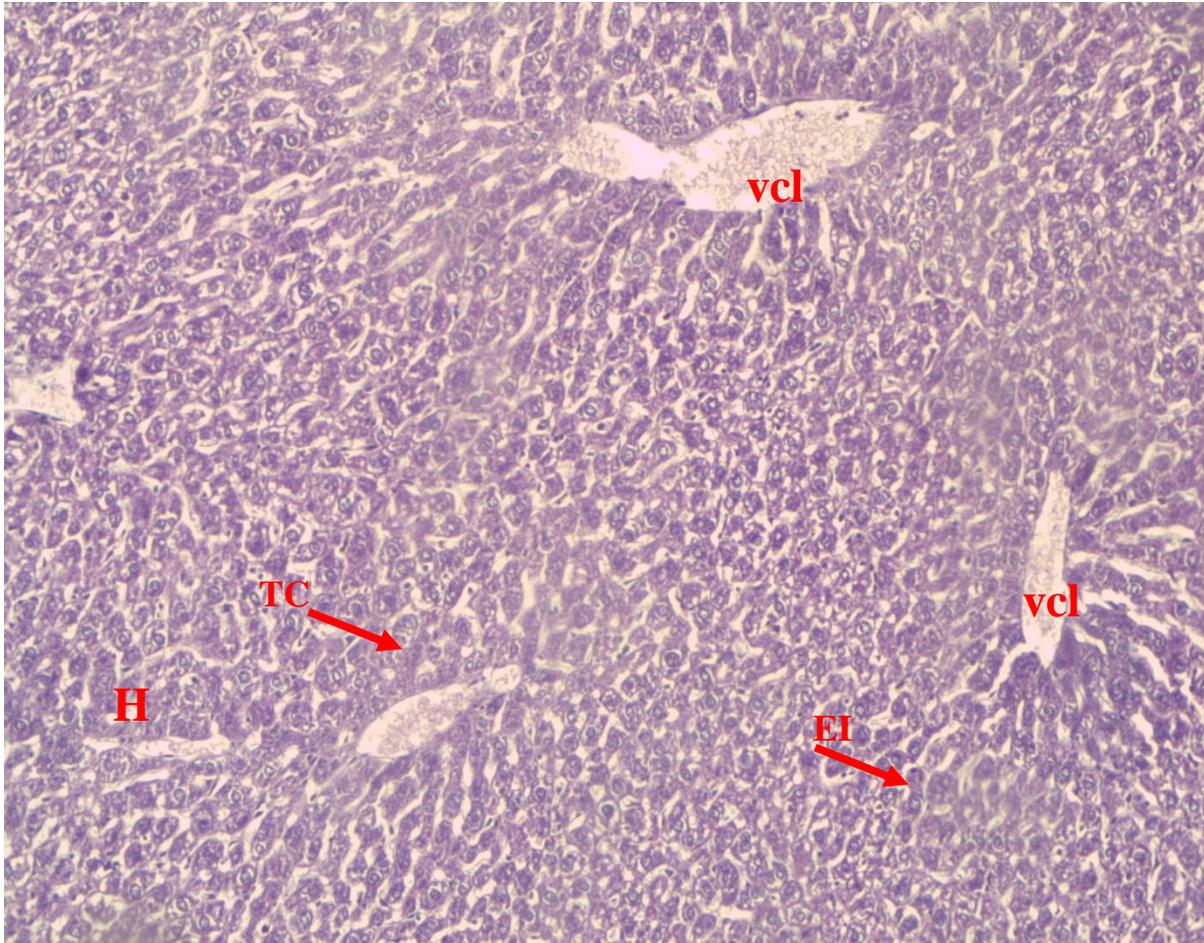


Figure 24 : Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE). Grossissement objectif $\times 10$.

Le parenchyme hépatique est constitué de cellules épithéliales (hépatocytes, H), polyédriques, organisés en travées. Un tissu conjonctif (TC) peu abondant occupe les espaces intercellulaires (EI). Les travées d'hépatocytes convergent vers la veine centrolobulaire (vcl), formant ainsi le lobule hépatique.

b : hépatocyte binucléé, EI : espaces intercellulaires, F : fibroblaste, H : hépatocytes, k : cellule de kupffer, n : noyau, nu : nucléole, S : sinusoides, TC : tissu conjonctif, vcl : veine centrolobulaire.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche II)

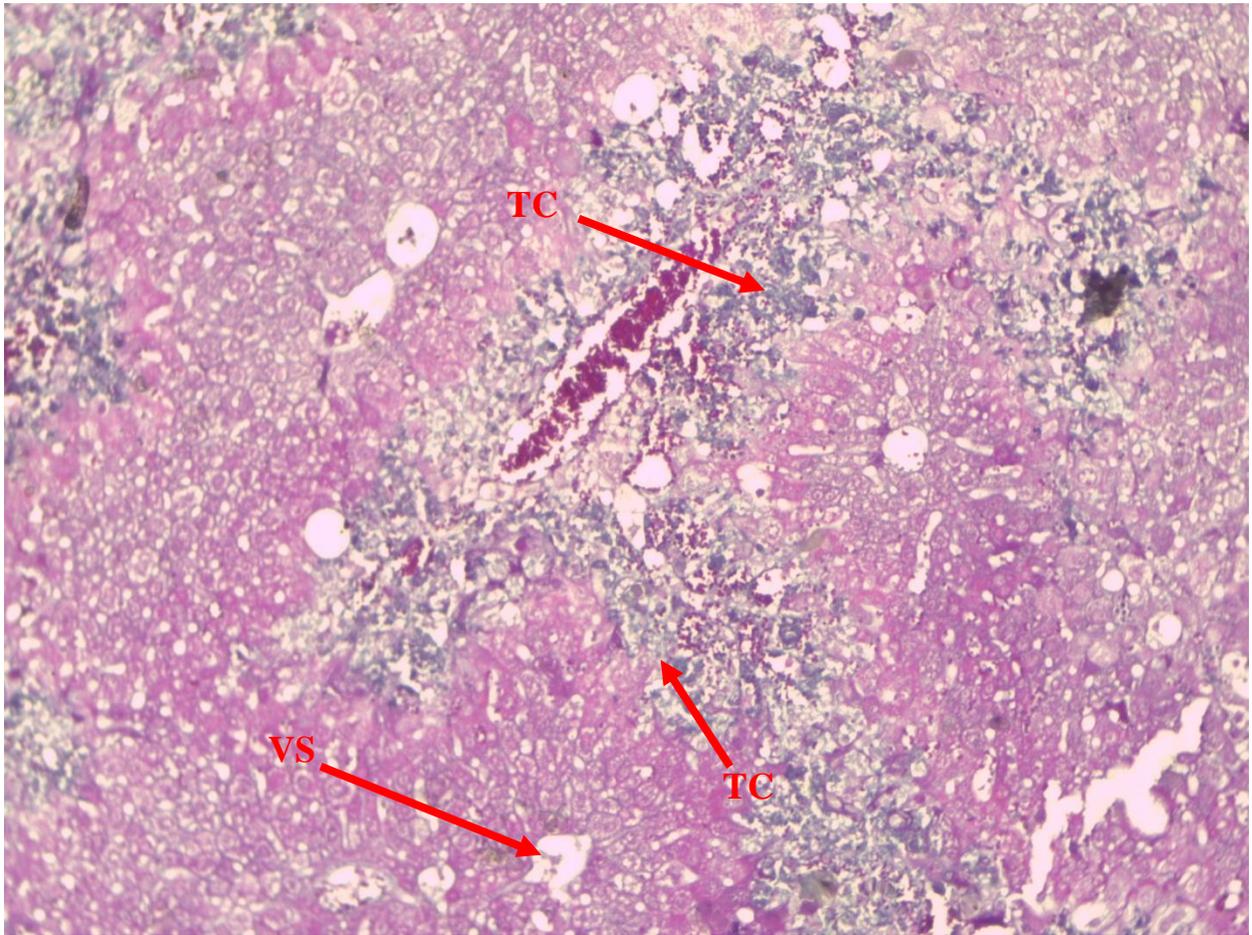


Figure 25 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

A la périphérie du lobule hépatique se situe l'espace porte formé d'un ensemble de vaisseaux sanguins (Vs) entourés d'un tissu conjonctif lâche (TC).

TC : tissu conjonctif, Vs : vaisseau sanguin.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche III)

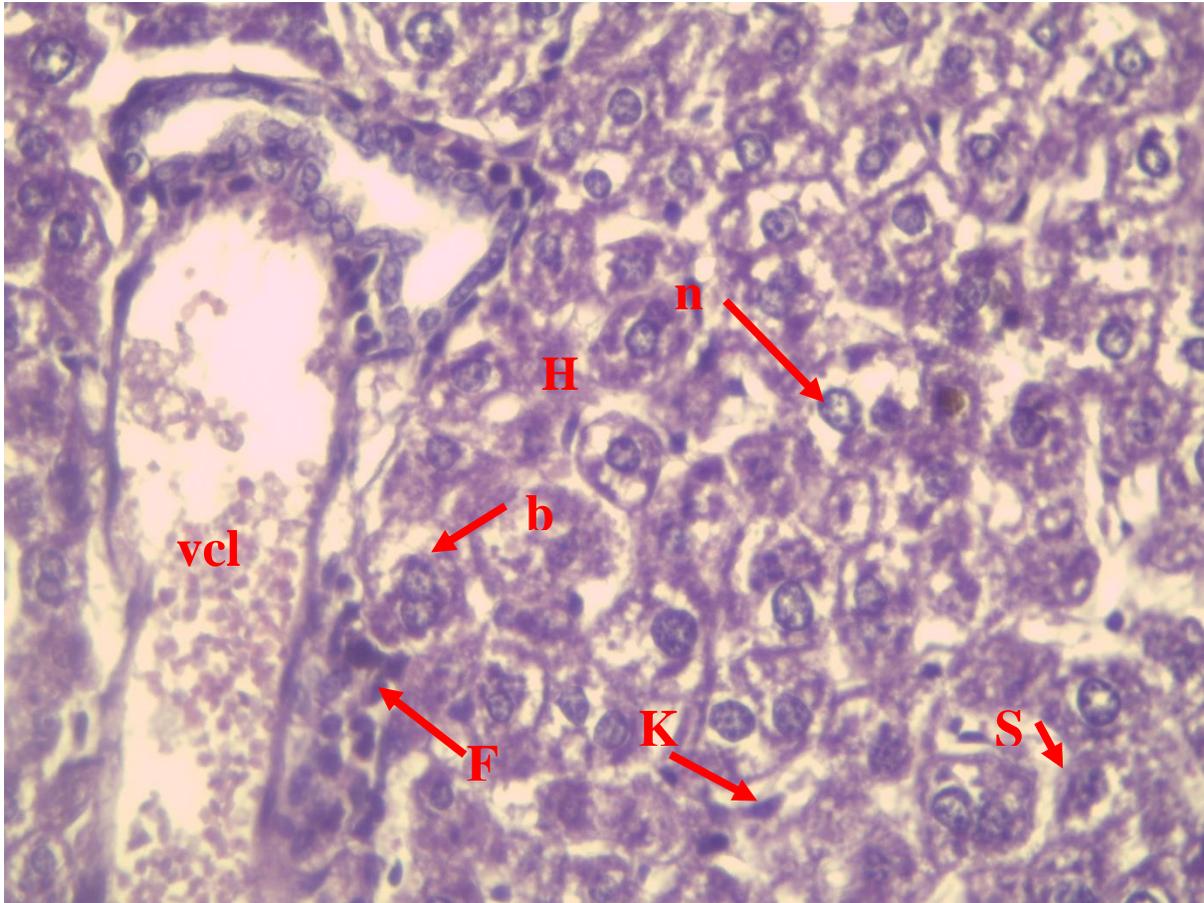


Figure 26 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$.

Le tissu hépatique contient d'autres types cellulaires dont les fibroblastes (F) et les cellules de kupffer (k). Les travées d'hépatocytes convergent vers la veine centrolobulaire (vcl), formant ainsi le lobule hépatique. Les hépatocytes peuvent être mononuclés ou binuclés (b).

b : hépatocyte binucléé, EI : espaces intercellulaires, F : fibroblaste, H : hépatocytes, k : cellule de kupffer, n : noyau, S : sinusoides, vcl : veine centrolobulaire.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche IV)

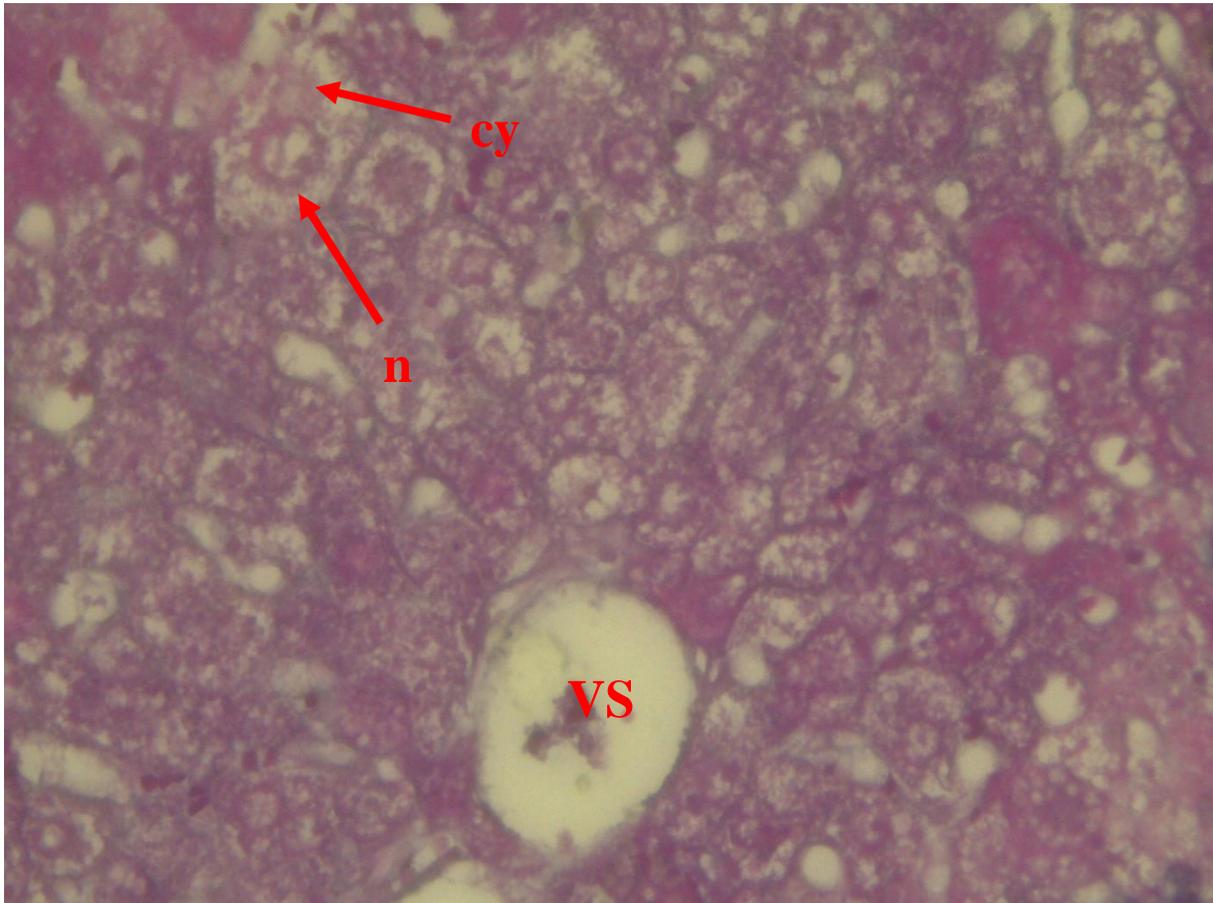


Figure 27 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$.

L'hépatocyte possède un cytoplasme éosinophile d'un aspect granuleux, un noyau central volumineux (n), sphérique, avec un ou plusieurs nucléoles.

Vs : vaisseau sanguin, n : noyau, Vs : vaisseau sanguin, Cy : cytoplasme.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Histologie du foie des souris recevant uniquement le CCL4 (planche V)

Coloration au trichrome de Masson

Le système porte (SP) est le siège d'infiltration cellulaire (IC), entraînant une désorganisation de la structure tissulaire, qui s'étend vers le système porte adjacent.

Des amas cellulaires et des structures vasculaires (VS) sont entourés d'un tissu conjonctif abondant (TC).

Grossissement objectif ×40

Figure 28-29:

Des noyaux (n) de différents aspects correspondant à différents types cellulaires s'accumulent au niveau des espaces portes.

Grossissement objectif ×40.

Figure 30 :

Détail de la figure 30. Les différents types cellulaires correspondraient à des leucocytes (L), des cellules de kupffer (K) et des fibroblastes (F), entourés de tissu conjonctif.

Des infiltrats inflammatoires sont observés loin des régions périvasculaires entre les travées d'hépatocytes.

Grossissement objectif ×40.

F : fibroblaste, H : hépatocyte, IC : infiltration cellulaire, k : cellules de kupffer, L : leucocyte, n : noyau, SP : système porte, TC : tissu conjonctif, VS : structures vasculaires.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche V)

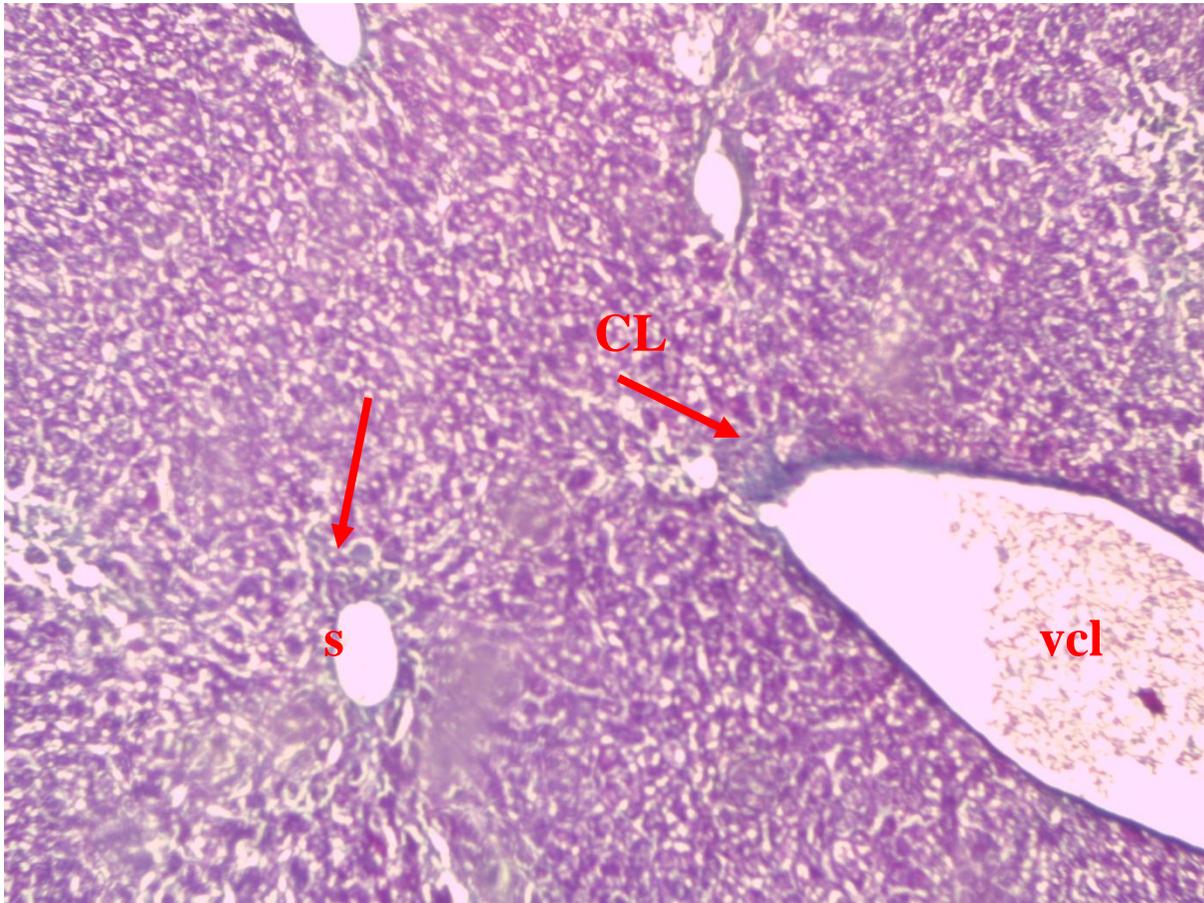


Figure 28 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Chez les souris intoxiquées au CCL4 la coloration révèle un dépôt de collagènes (CL) autour de la veine centrolobulaire (vcl) et au niveau de la lame basale des capillaires sinusoides (S) qui semblent être dilatés.

EI : espaces intercellulaires, H : hépatocytes, S : sinusoides, Vcl : veine centrolobulaire, CL : collagène.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche VI)

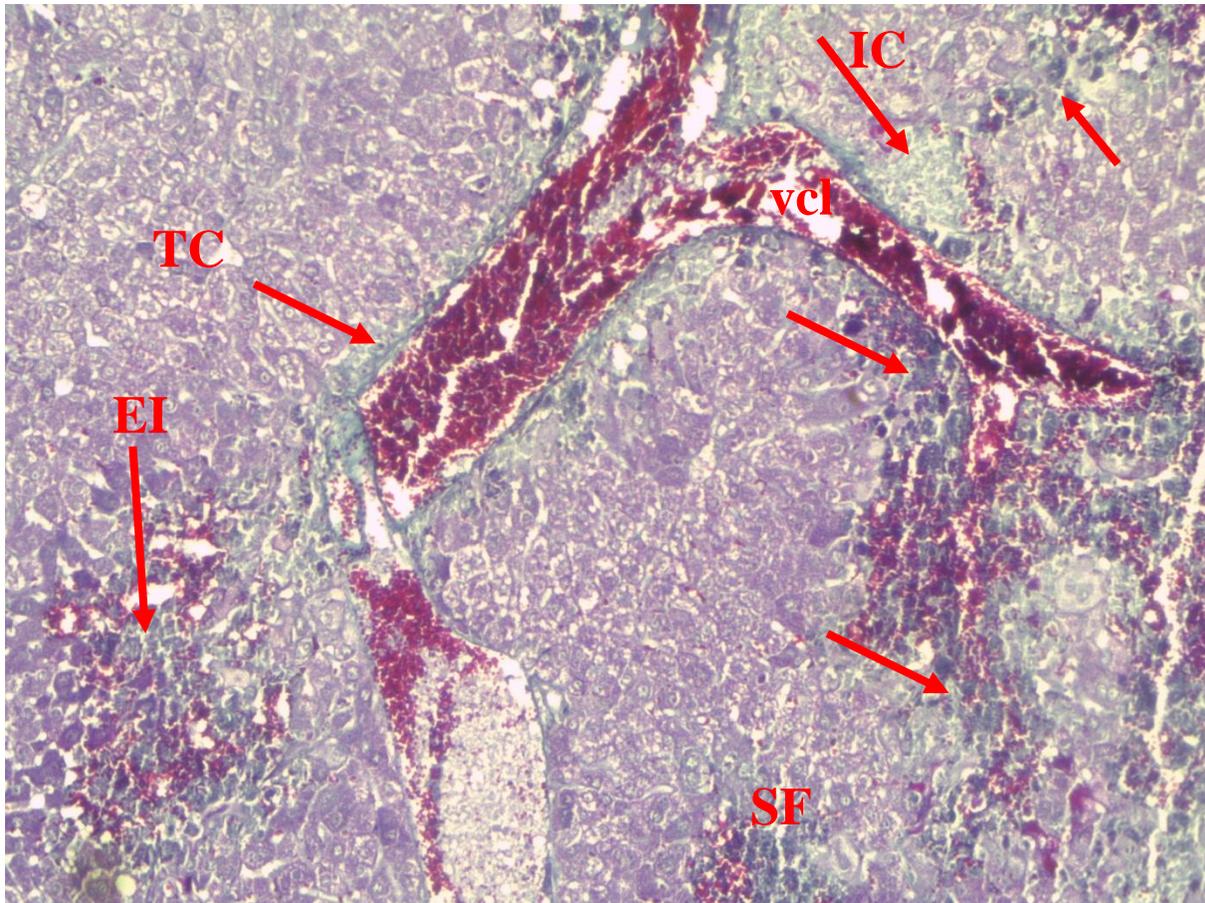


Figure 29 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Une accumulation des collagènes (CL) est observée au niveau des espaces intercellulaires (EI), dans des foyers focalisés qui s'étalent au sein du parenchyme hépatique formant ainsi des septa fibreux (SF). Le système porte est le siège d'infiltration cellulaire (IC), entraînant une désorganisation de la structure tissulaire, qui s'étend vers le système porte adjace

EI : espaces intercellulaires, TC : Tissu conjonctif, Vcl : veine centrolobulaire, SF : septa fibreux, CL : collagène.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche VII)

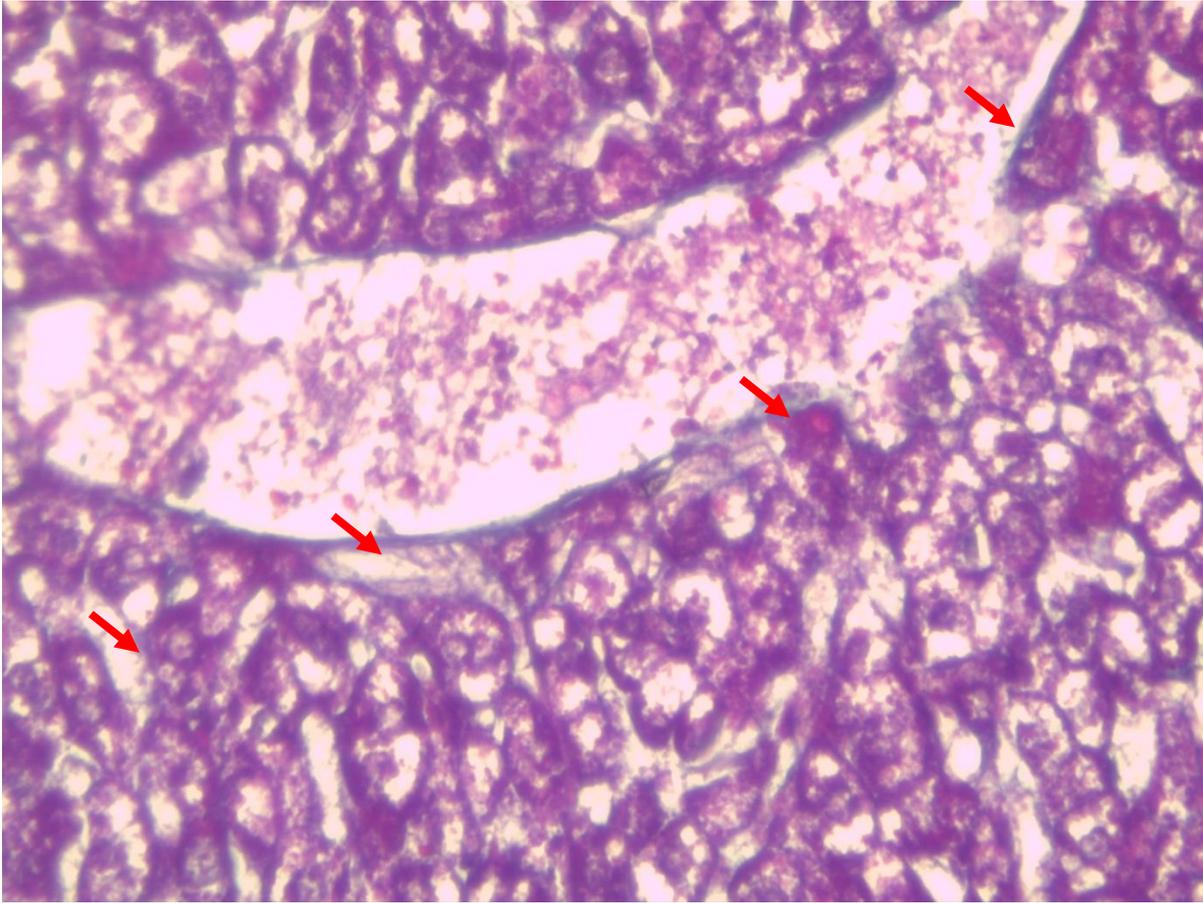


Figure 30: Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$.

La coloration révèle un dépôt de collagènes (CL) autour de la veine centrolobulaire. Des infiltrats inflammatoires sont observés loin des régions périvasculaires entre les travées d'hépatocytes

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche VIII)

Groupe test de toxicité

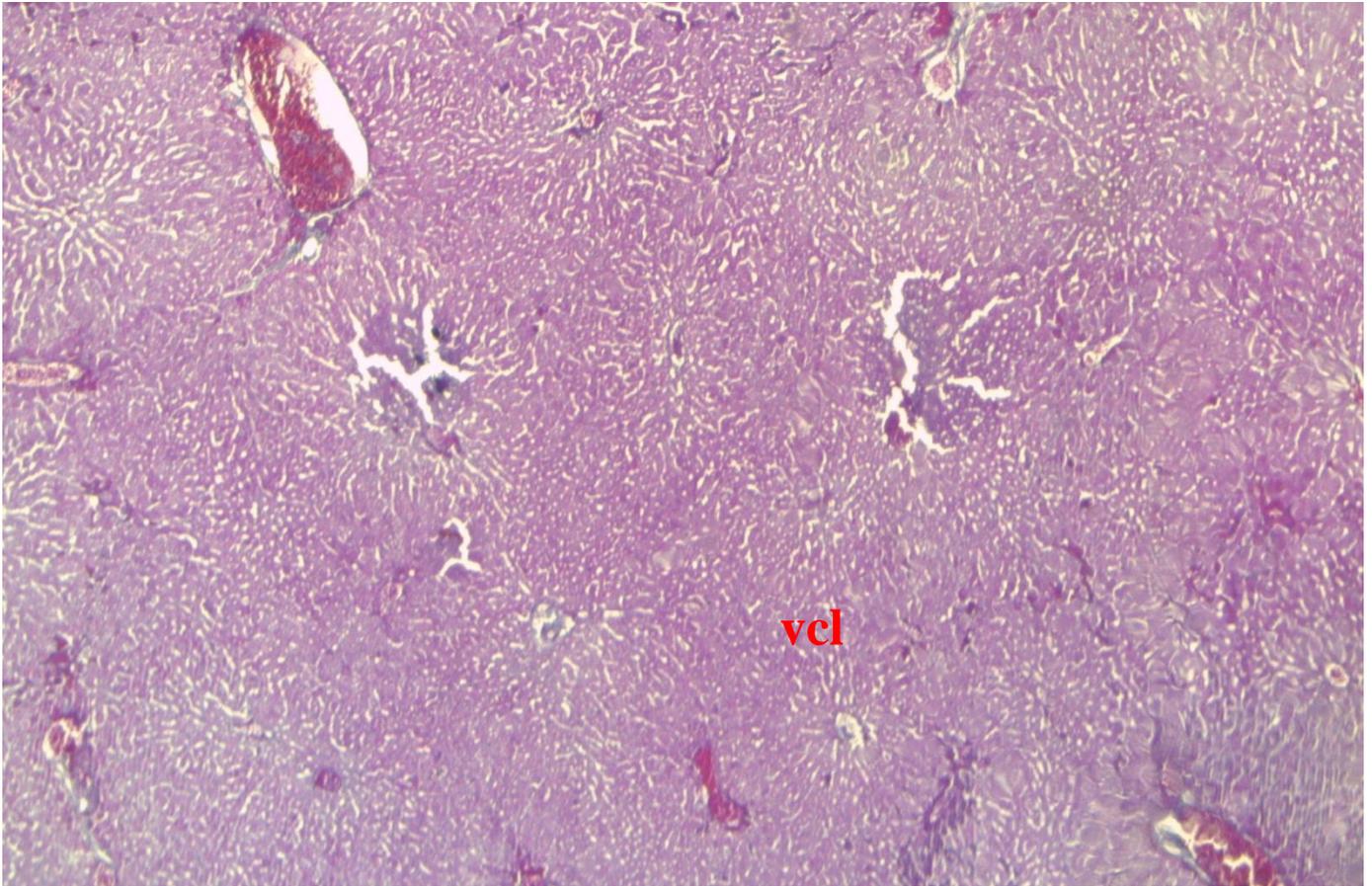


Figure 31 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Les coupes colorées au trichrome de Masson ne montrent aucun dépôt particuliers au niveau du parenchyme hépatique.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche IX)

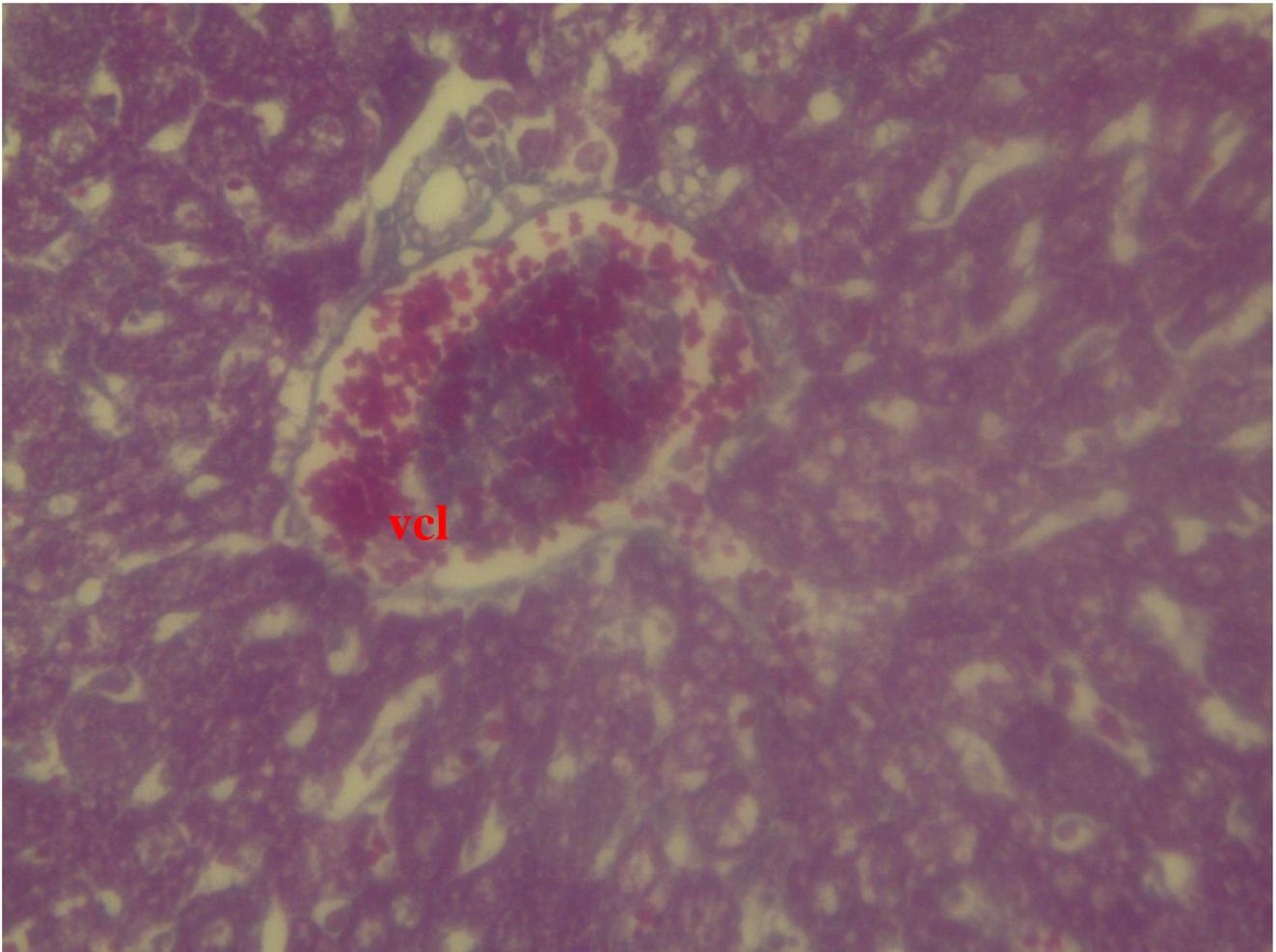


Figure 32 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$.

Les travées d'hépatocytes convergent vers la veine centrolobulaire (vcl), formant ainsi le lobule hépatique.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche X)

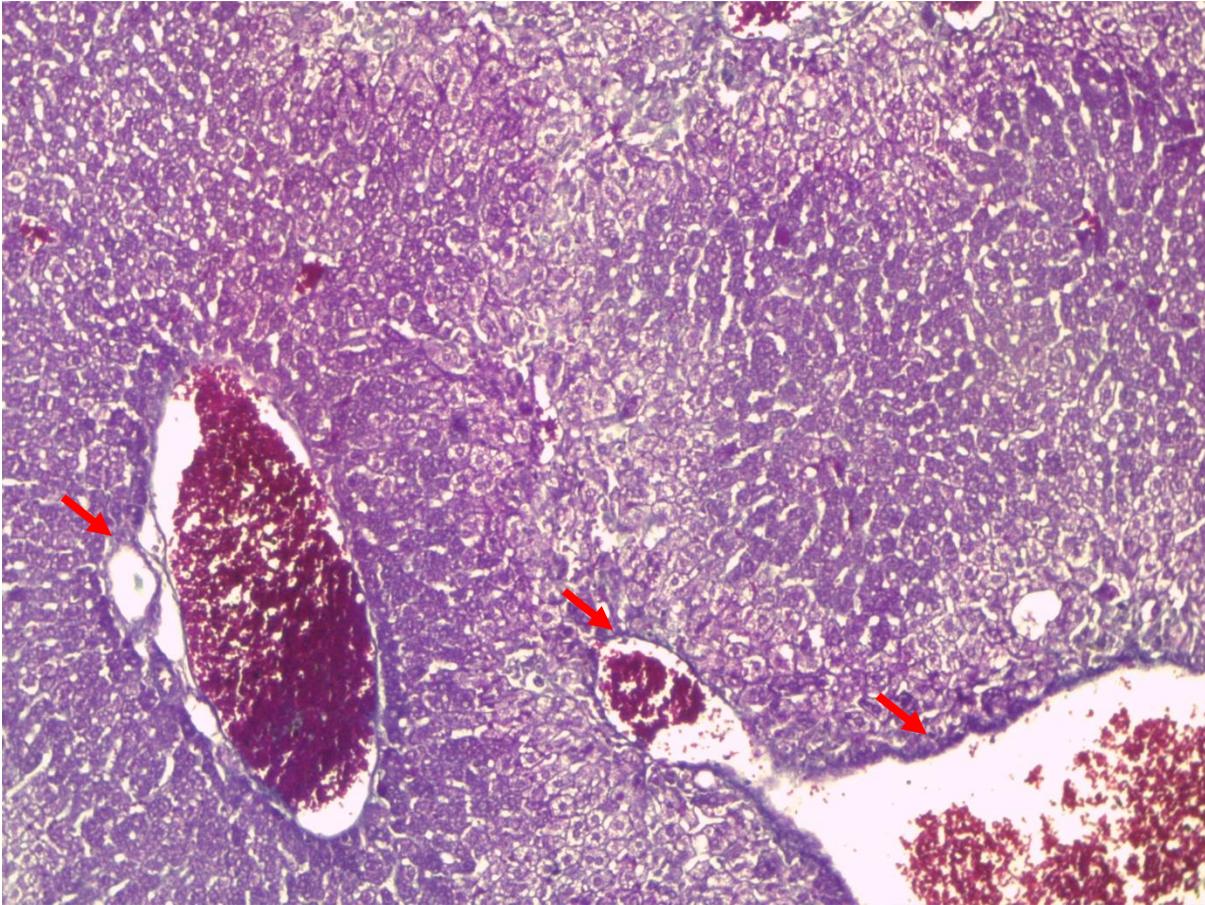


Figure 33 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Cependant, les coupes histologiques des souris ayant reçu le jus de *Psidium guajava* à une dose de 100 mg/ml ne révèlent pas des dépôts interstitiels de matériel conjonctif.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche XI)

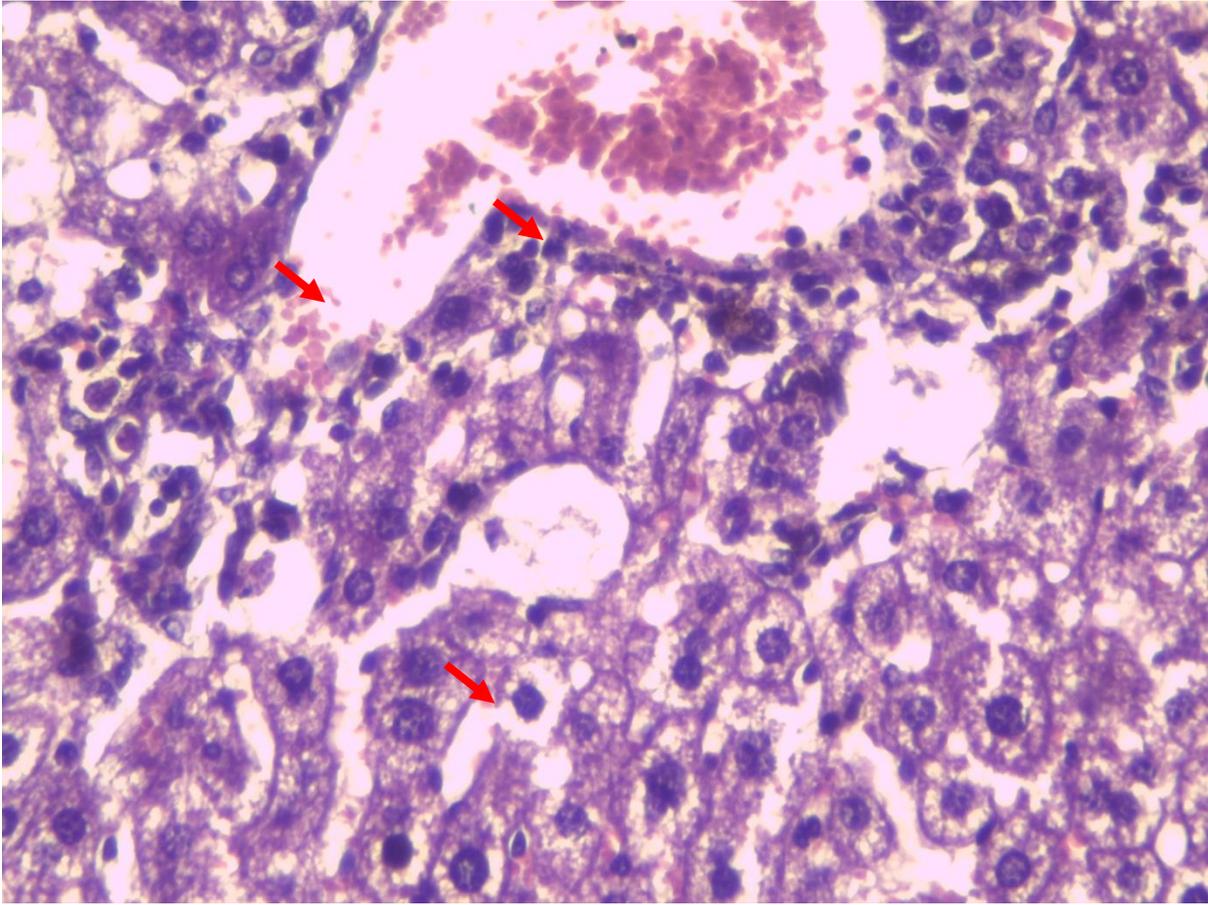


Figure 34 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 40$.

La figure montre des hépatocytes avec un cytoplasme éosinophile d'un aspect granuleux, mononuclés ou binuclés.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche XI)

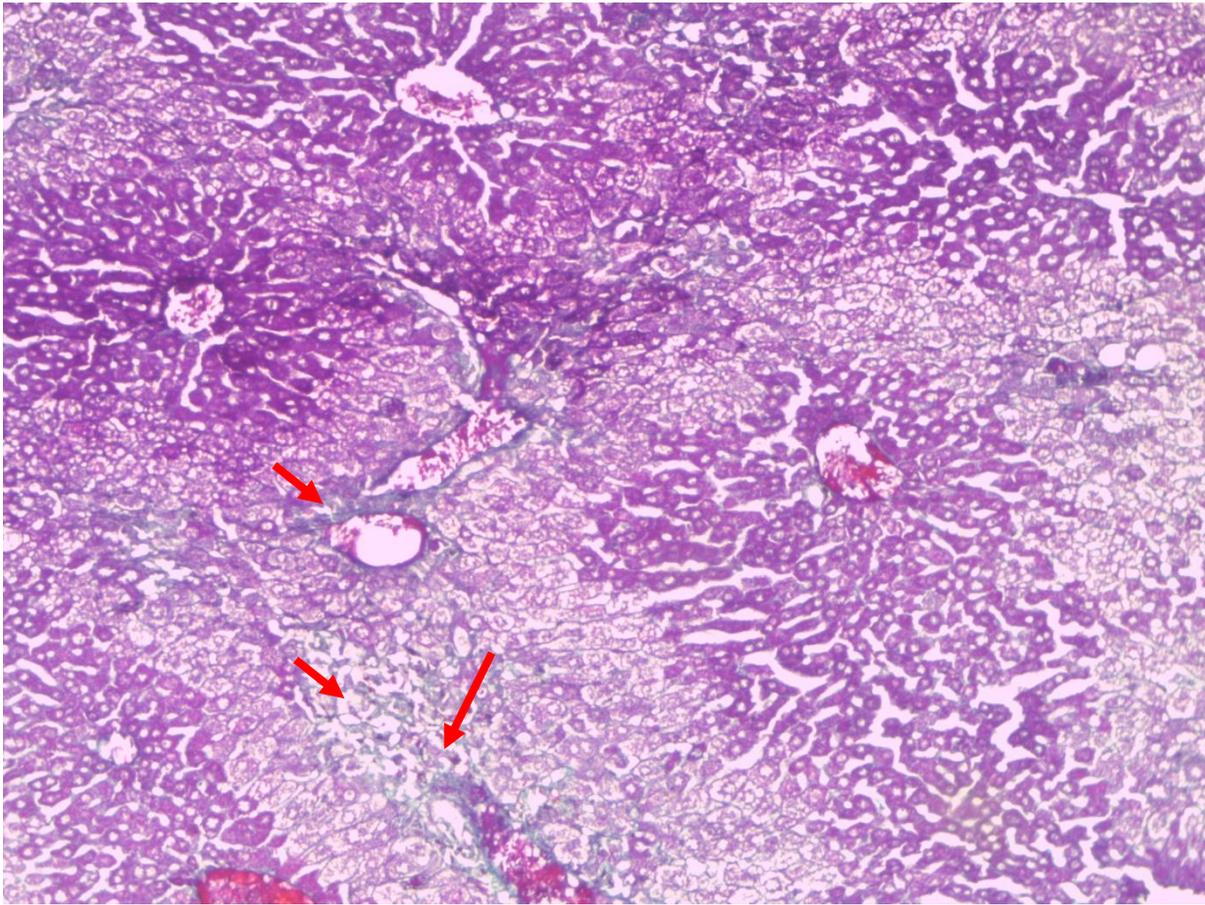


Figure 35 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Les coupes histologiques des souris ayant reçu le traitement préventif, notamment ; le jus de *Psidium guajava* à une dose de 300 mg/ml révèlent un dépôt de matériel conjonctif au niveau du système porte avec infiltration cellulaire.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

(Planche XI)

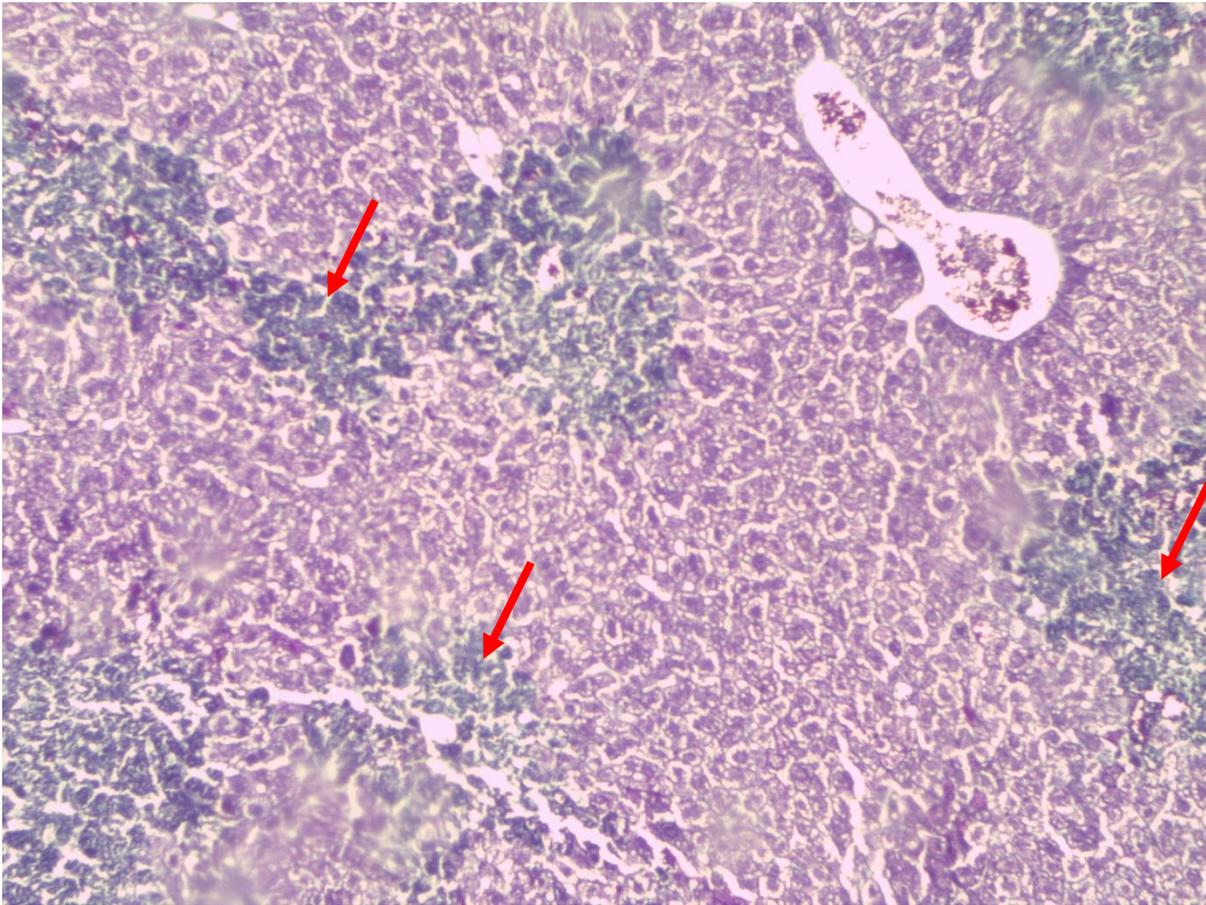


Figure 36: Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Les coupes histologiques des souris ayant reçu l'extrait de la peau de *Psidium guajava* à une dose de 100 mg/ml avant l'intoxication au CCL4. Ces coupes révèlent un dépôt de matériel conjonctif au niveau du parenchyme hépatique. Un dépôt de collagène interstitiel a été noté au sein des travées d'hépatocytes.

(Planche XII)

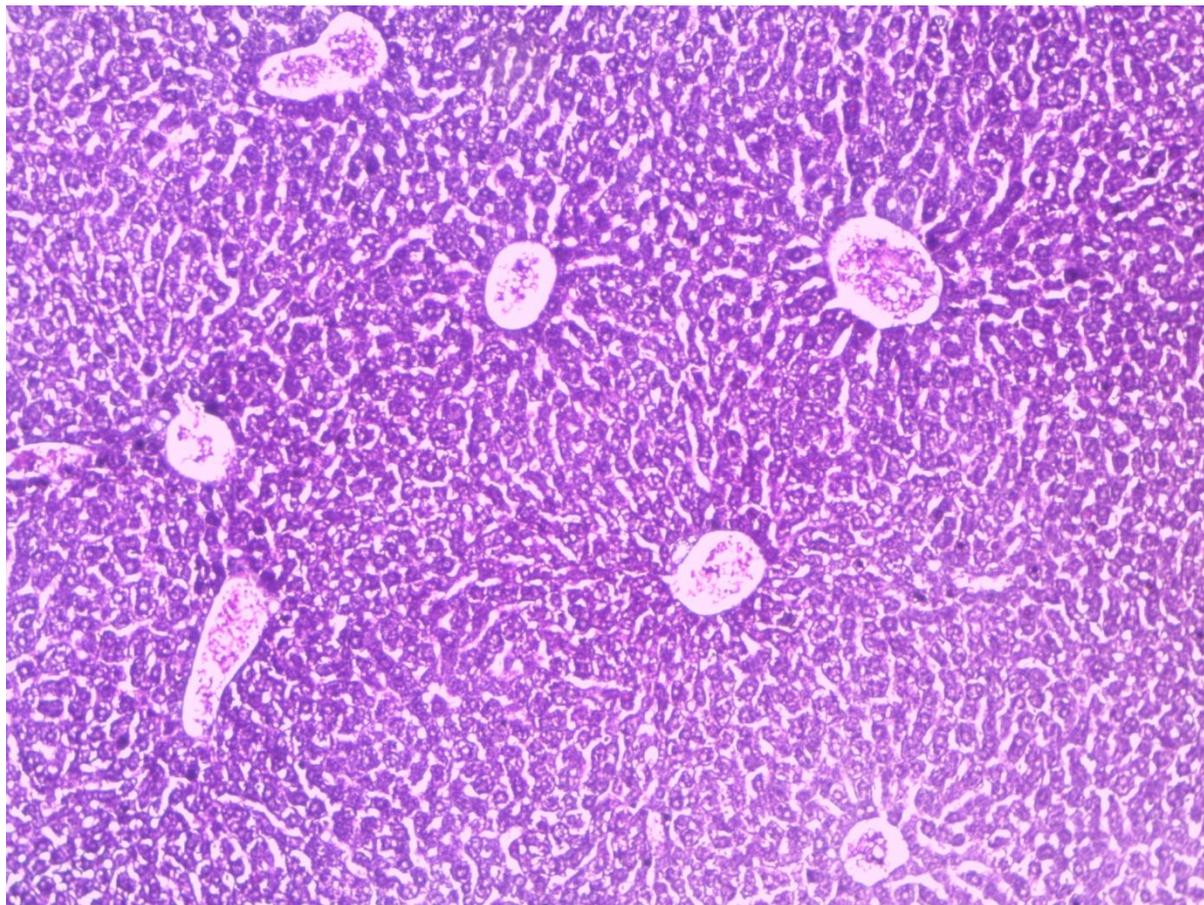


Figure 37 : Coloration au trichrome de Masson. Grossissement objectif $\times 10$.

Les coupes histologiques des souris ayant reçu l'extrait de la peau de *Psidium guajava* à une dose de 300 mg/ml révèlent un parenchyme hépatique normal, aucun dépôt de matériel conjonctif ou infiltration cellulaire n'a été noté.

Cette étude sert à évaluer la capacité des extraits de *Psidium guajava* à empêcher les effets d'une intoxication au CCL4 sur l'histologie du foie. Ainsi, nos résultats, révèlent une altération modérée de l'histologie du foie des souris soumises aux CCL4, caractérisées par l'accumulation de matériel conjonctif autour des structures vasculaires et au sein du parenchyme

RESULTATS ET DISCUSSIONS

hépatique. L'administration de l'extrait de goyave chez les souris ayant été intoxiquées au CCL4 au préalable, montre une organisation tissulaire normale, aucun dépôt matriciel n'a été mis en évidence. Ceci témoignerait d'un effet protecteur qu'exerce les extraits de *Psidium guajava*.

Le tétrachlorure de carbone ou tétrachlorométhane, de formule chimique CCl₄ est un alcane polyhalogéné de poids moléculaire égal à 82 grammes. Il est utilisé comme solvant ou comme réactif dans les laboratoires et les industries chimiques (**Merck Index, 1989**). En thérapeutique animale le tétrachlorure de carbone a été utilisé comme un antihelminthique principalement actif contre la grande douve du foie (**Fasciola hepatica**). Sous le nom commercial de Didakol®, il a même connu une certaine utilisation chez l'homme (**Thiombiano, 1984**). Son utilisation médicinale a été abandonnée à cause de sa très grande toxicité.

Le tétrachlorure de carbone manifeste sa toxicité sur l'organisme animal en provoquant d'importantes lésions sur plusieurs organes à savoir ; la peau, les yeux, le cœur, et même pour les embryons et les fœtus d'animaux. Le CCl₄ est cancérigène chez les animaux, mais les preuves d'une telle action carcinogène ne sont pas encore nettement établies chez l'homme.

L'intoxication aiguë au CCl₄ survient en cas d'absorption massive ou d'inhalation prolongée. Les lésions d'intoxication hépatique apparaissent dès la deuxième heure qui suit l'absorption du toxique et sont maximales 24 ou 36 heures après (**ZIMMERMANN, 1982**). Ce sont des lésions de nécrose parenchymateuse accompagnées d'infiltrats inflammatoires à mono ou polynucléaires et de changements des substances graisseuses. En suivant la chronologie des événements depuis l'administration du toxique à l'animal, on observe tout d'abord une ballonnisation cellulaire qui en certaines circonstances ralentit la circulation sanguine intrahépatique. A partir de la troisième heure, surviennent une clarification et une microvacuolisation cellulaires. Dix-huit heures après l'intoxication, le foie des zones centrolobulaires dont la grande majorité des hépatocytes est nécrosée. Autour de ces zones de nécrose, le parenchyme hépatique présente des cellules ballonnées ou stéatosiques et des régions périportales qui sont le plus souvent intactes. La nécrose hépatique massive constitue de ce fait un phénomène assez rare (**MARTIN & FELDMANN, 1983**).

L'importance des lésions dépend toujours de la gravité de l'intoxication. Les intoxications chroniques obtenues expérimentalement chez l'animal par répétition des doses administrées permettent d'aboutir à des cirrhoses hépatiques

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Lors de son passage hépatique, le CCl₄ subit une réaction de conversion métabolique catalysée par le système enzymatique du cytochrome P-450 microsomial et donne des radicaux libres CCl₃·. Les radicaux libres CCl₃· issus de cette réaction ont la capacité de réagir avec les macromolécules hépatiques pour déclencher des réactions de peroxydation des lipides des membranes cellulaires hépatiques. Il en résulte des lésions conduisant à la nécrose hépatocytaire menant à des perturbations de la fonction hépatique.

Le traitement par l'extrait des épiluchures de goyave réduit ces lésions et protège significativement la morphologie des hépatocytes en régénérant les cellules du parenchyme hépatique et en les protégeant contre la fragilité des membranes cellulaires. Cet effet hépatoprotecteur des extraits de goyave pourrait être dû aux propriétés antioxydantes et aux principes actifs, ce qui conduit à l'inhibition de la peroxydation lipidique et la préservation de la membrane cellulaire (Ajith *et al.*, 2011).

Analyses biochimiques

Nous tenons à porter à votre connaissance que le bilan hépatique n'a pas pu être réalisé et ce en raison des nombreux refus des hôpitaux pour accéder à leurs laboratoires suite à la troisième vague du COVID-19. Ces laboratoires sont destinés uniquement aux analyses en rapport avec la pandémie.

Conclusion

CONCLUSION

Dans le but de rechercher de nouvelles plantes à intérêt thérapeutique, nous nous sommes intéressés à valoriser les vertus de *Psidium Guajava* L. par une caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques. Notre choix pour ce fruit si singulier que l'on cultive aujourd'hui uniquement à Fouka est justifié par ses nombreux bienfaits sur la santé, sa valeur nutritive, ses activités fort intéressantes ainsi que ses nombreux avantages curatifs.

L'étude phytochimique des extraits de *Psidium Guajava* a révélé une richesse en polyphénols ; flavonoïdes, tanins, saponines et quinones libres ainsi que les stéroïdes dans les trois parties du fruit : la peau, la pulpe et le jus.

Les extraits de *Psidium Guajava* ont permis d'obtenir des rendements différents en fonction des solvants utilisés et en fonction des parties de fruit, nous avons constaté que les trois extraits sont riches en métabolites secondaires, en particulier en polyphénols avec des teneurs qui varient entre 0,25 mg à 16,88 mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait et en flavonoïdes totaux avec des teneurs qui varient entre 0,19 mg à 5,09 mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

L'analyse de l'activité antioxydante *in vitro*, a été déterminée par la méthode DPPH, a révélé que tous les extraits montrent une activité antiradicalaire intéressante qui dépend de leur contenu en polyphénols totaux ainsi que de leurs différentes structures, l'extrait des épiluchures a exercé la meilleure capacité de piégeage des radicaux libres avec inhibition de $36,10 \pm 7.02\%$, alors que les extraits de pulpe et de jus ont exercé les plus faibles activités anti-radicalaires.

Ce travail avait pour but d'évaluer l'effet hépatoprotecteur des extraits naturels de *Psidium Guajava* L. contre une intoxication par le CCl₄. Il s'est avéré que le prétraitement des souris par des doses de 100 mg/kg et 300 mg/kg, suivi de trois doses du CCl₄ à 1 mg/kg, a révélé une structure hépatique globalement normale comparativement à la structure altérée observée chez les souris du groupe traité par le CCl₄. En outre, nous avons constaté que l'extrait des épiluchures à 100 mg/kg a montré un effet remarquable sur le foie des souris intoxiqué par le CCl₄, ce qui indique que cet extrait est actif à faible dose. L'effet hépatoprotecteur de ce fruit est probablement lié aux métabolites secondaires et leurs propriétés antioxydantes.

L'évaluation de l'effet hépatoprotecteur a montré un effet éventuellement préventif ce qui affirmerait l'effet protecteur de *Psidium Guajava* L. et son aptitude à bloquer les effets nocifs et

CONCLUSION

toxiques du CCl₄ entraînant des lésions hépatiques importantes conduisant même à des cirrhoses hépatiques selon la dose administrée.

Il ressort du présent travail que *Psidium Guajava* L. est un fruit très intéressant riche en antioxydants avec un pouvoir hépatoprotecteur.

L'ensemble des résultats exposés sont encourageants et très prometteurs, et les perspectives qui en découlent sont nombreuses, parmi elles :

- Explorer d'autres parties de la matrice, plus particulièrement les graines.
- Compléter l'étude par des tests biochimiques (enzymes hépatiques, morphométrie ...) pour la mise en évidence d'un effet préventif et /ou curatif prononcé.
- L'utilisation de logiciels développés afin de calculer les surfaces des hépatocytes, mesurer les vaisseaux sanguins.
- Déterminer le profil des composés phénoliques par des techniques plus avancées telle que L'HPLC.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références

- Abu Rmilah, A., Zhou, W., Nelson, E., Lin, L., Amiot, B., & Nyberg, S. L. (2019). Understanding the marvels behind liver regeneration. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 8(3), e340. <https://doi.org/10.1002/wdev.340>
- Akinola, O. B., Oladosu, O. S., & Dosumu, O. O. (2007). Ethanol extract of the leaves of *Psidium guajava* Linn enhances sperm output in healthy Wistar rats. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, 36(2), 137-140.
- BACILA Fatima Zohra, Enquête sur la consommation des polyphénols auprès d'un échantillon de 200 personnes de la région de Constantine, mémoire de fin d'études, Université Constantine 1, 2013-2014 .
- Baroni G. S., D'Ambrosio L., Curto P., Casini A. Mancini R. Jezequel A. M. Benedetti A. (1996). Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. *Hepatology*, 23 : 1189-1199.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22(3), 266 272. <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>
- Bataller R., Brenner D. A. (2005). Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 115 : 209-218.
- Begum, S., Hassan, S. I., Siddiqui, B. S., Shaheen, F., Nabeel Ghayur, M., & Gilani, A. H. (2002). Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. *Phytochemistry*, 61(4), 399-403. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00190-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00190-5)
- Belafia F.; B. Jung ; S. Jaber Et C. Paugam-Burtz. Chapitre 70 insuffisances hépatiques aiguës, session commune sfmu/sfar urgences digestives (journée des urgences vitales), 2012.
- BelkheirI N., (2010). Derives phenoliques à activite antiatherogenes. Thèse de doctorat en Chimie-Biologie-Santé. Université Toulouse III : 34p.
- Benavente-García, O., & Castillo, J. (2008). Update on Uses and Properties of Citrus Flavonoids : New Findings in Anticancer, Cardiovascular, and Anti-inflammatory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6185 6205. <https://doi.org/10.1021/jf8006568>
- Bisbal, C., Lambert, K., & Avignon, A. (2010). Antioxidants and glucose metabolism disorders: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 13(4), 439 446. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32833a5559>
- Bruno, R. (2016). Les Dosages sanguins liés aux maladies hépatiques. Centre Hépatobiliaire Paul Brousse. [En ligne] 16/06/2021. <http://www.centre-hepatobiliaire.org/soin-traitement/examens/dosage-sanguin.html>
- Brzozowska J., Hanower P., 1976. Recherches sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'université d'Abijan, série C (Science)*, tome XII: 65 – 80
- Casciaro, B., Mangiardi, L., Cappiello, F., Romeo, I., Loffredo, M. R., Iazzetti, A., Calcaterra, A., Goggiamani, A., Ghirga, F., Mangoni, M. L., Botta, B., & Quaglio, D. (2020). Naturally-Occurring Alkaloids of Plant Origin as Potential Antimicrobials against Antibiotic-Resistant Infections. *Molecules*, 25(16), 3619. <https://doi.org/10.3390/molecules25163619>
- Casini A., Cunningham M., Rojkind M., Lieber C. S. (1997). Acetaldehyde increases procollagen type I and fibronectin gene transcription in cultured rat fat-storing cells through a protein synthesis dependent mechanism. *Hepatology*, 13 : 758-765.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chen, K.-C., Peng, C.-C., Chiu, W.-T., Cheng, Y.-T., Huang, G.-T., Hsieh, C.-L., & Peng, R. Y. (2010). Action Mechanism and Signal Pathways of *Psidium guajava* L. Aqueous Extract in Killing Prostate Cancer LNCaP Cells. *Nutrition and Cancer*, 62(2), 260-270. <https://doi.org/10.1080/01635580903407130>
- Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G. A., Uzunov, D., Tubaro, A., Menichini, F., & Loggia, R. D. (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.015>
- Debib, A., Tir-Touil, A., Mothana, R. A., Meddah, B., & Sonnet, P. (2014). Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of two fruit varieties of Algerian *Ficus carica* L. *Journal of Food Biochemistry*, 38(2), 207-215.
- Delattre, J., J.-L. Beaudoux et D. Bonnefont- Rousselot(2005d). "Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques." 87-108.
- Díaz-de-Cerio, E., Verardo, V., Gómez-Caravaca, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017). Health Effects of *Psidium guajava* L. Leaves : An Overview of the Last Decade. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 897. <https://doi.org/10.3390/ijms18040897>
- El-Najjar, N., Gali-Muhtasib, H., Ketola, R. A., Vuorela, P., Urtti, A., & Vuorela, H. (2011). The chemical and biological activities of quinones : Overview and implications in analytical detection. *Phytochemistry Reviews*, 10(3), 353-370. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9209-1>
- EVANS, W.C. 1996. Trease and Evans Pharmacognosy, 14th Ed.,(Bailliere Tindall W.B.) pp. 224-228, 293-309, 542-575,Saunders Company Ltd, London, U.K.
- F.Deba, T.Dang Xuan, M.Yasuda, S.Tawata, "Chemical composition and antioxidant,antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*" *Food Control*,2008, Vol. (19), page : 346.
- Fabrice L., Christian L. (2006). La goyave aux antilles : intérêt pour la diversification fruitière.
- Falcão, L., & Araújo, M. (2018). Vegetable Tannins Used in the Manufacture of Historic Leathers. *Molecules*, 23(5), 1081. <https://doi.org/10.3390/molecules23051081>
- -Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008>
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396. [https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(06)75334-2)
- Friedman, M. 2004. NUTRITION | Effects of Food Processing. In: Wrigley, C. *Encyclopedia of Grain Science* , Australia, Academic Press, 328-340.
- Gan, R.-Y., Chan, C.-L., Yang, Q.-Q., Li, H.-B., Zhang, D., Ge, Y.-Y., Gunaratne, A., Ge, J., & Corke, H. (2019). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted Grains* (p. 191-246). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00009-9>
- Gill, K. S. (2016). Guavas. In *Encyclopedia of Food and Health* (p. 270-277). Elsevier <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00363-9>
- Gill, K. S. (2016). Guavas. In *Encyclopedia of Food and Health* (p. 270-277). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00363-9>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- -Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Lojek, A., M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y.-S., Caspi, A., Libman, I., & Trakhtenberg, S. (2002). Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10), 1166-1170. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1178>
- Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V., Math, A. A., Vernekar, S. N., & Kulkarni, S. S. (2009). A review on laboratory liver function tests. *The Pan African medical journal*, 3, 17.
- Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M. et Aboul-Enein, HY. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry* 3: 43-53.
- Guo, L., Qiang, T., Ma, Y., Wang, K., & Du, K. (2020). Optimisation of tannin extraction from *Coriaria nepalensis* bark as a renewable resource for use in tanning. *Industrial Crops and Products*, 149, 112360. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112360>
- Gutiérrez, R. M. P., Mitchell, S., & Solis, R. V. (2008). *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(1), 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.025>
- Halliwell, B. (1990). How to Characterize a Biological Antioxidant. *Free Radical Research Communications*, 9(1), 1-32. <https://doi.org/10.3109/10715769009148569>
- HARBORNE, J.B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 3rd Ed., pp. 5–12, Chapman & Hall, London, U.K.
- Holetz FB. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(7):1027–31.
- Holetz, F. B., Pessini, G. L., Sanches, N. R., Cortez, D. A. G., Nakamura, C. V., & Dias Filho, B. P. (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7), 1027-1031. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>
- -Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- HUANG, D.J., LIN, C.D., CHEN, H.J. and LIN, Y.H. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam “Tainong 57”) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sinica* 45, 179–186.
- Huang, X. J., Choi, Y. K., Im, H. S., Yarimaga, O., Yoon, E., & Kim, H. S. (2006). Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 6(7), 756–782.
- J. V. Kamath, Nair Rahul, C. K. Ashok Kumar, S. Mohana Lakshmi. (2008) *Psidium guajava* L: A review *International Journal of Green Pharmacy*, volume 2, 9-12
- Jaeschke H. (2011). Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1:173-179.
- Joseph B, R MP (2011). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of guava (*Psidium guajava* Linn.). *Int J Pharma Bio Sci*, 2, 53-69.
- Kaileh, M., Berghe, W. V., Boone, E., Essawi, T., & Haegeman, G. (2007). Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(3), 510-516. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.008>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kaiser, S., Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. (1990). Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 277(1), 101-108. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(90\)90556-E](https://doi.org/10.1016/0003-9861(90)90556-E)
- Kholodenko, I. V., & Yarygin, K. N. (2017). Cellular Mechanisms of Liver Regeneration and Cell-Based Therapies of Liver Diseases. *BioMed Research International*, 2017, 1-17. <https://doi.org/10.1155/2017/8910821>
- Koenig, G., & Seneff, S. (2015). Gamma-Glutamyltransferase: A Predictive Biomarker of Cellular Antioxidant Inadequacy and Disease Risk. *Disease markers*, 2015, 818570. <https://doi.org/10.1155/2015/818570>
- Ku, Y.-S., Ng, M.-S., Cheng, S.-S., Lo, A. W.-Y., Xiao, Z., Shin, T.-S., Chung, G., & Lam, H.-M. (2020). Understanding the Composition, Biosynthesis, Accumulation and Transport of Flavonoids in Crops for the Promotion of Crops as Healthy Sources of Flavonoids for Human Consumption. *Nutrients*, 12(6), 1717. <https://doi.org/10.3390/nu12061717>
- LAMAISON, J.L.C. and CARNET, A. 1990. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm. Acta Helv.* 65, 315-320.
- Lapierre, P., & Alvarez, F. (2007). Le foie: Un organe du système immunitaire? *médecine/sciences*, 23(11), 985-990. <https://doi.org/10.1051/medsci/20072311985>
- Lee, S. H. (2001). Vitamin C-Induced Decomposition of Lipid Hydroperoxides to Endogenous Genotoxins. *Science*, 292(5524), 2083-2086. <https://doi.org/10.1126/science.1059501>
- Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients 1. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.6.3315807>
- Maheul Ploton, IMPACT DE LA PHOSPHORYLATION DE FXR PAR LA PKA SUR SON ACTIVITÉ TRANSCRIPTIONNELLE ET SUR LA RÉGULATION DE LA NÉOGLUCOGENÈSE HÉPATIQUE, grade de doctorat, Université de LILE, 2018.
- Marchisello, S., Pino, A. D., Scicali, R., Urbano, F., Piro, S., Purrello, F., & Rabuazzo, A. M. (2019). Pathophysiological, Molecular and Therapeutic Issues of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1948. <https://doi.org/10.3390/ijms20081948>
- MARTOJA R., MARTOJA-PIERSON M. - 1967 - Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson & Cie, 345 pages.
- MatÉs, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595-603. [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2)
- McCall, M. R., & Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*, 26(7-8), 1034-1053. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00302-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00302-5)
- MERCK INDEX - 1989 - An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals Eleventh Ed.. Ed. Merck & Co., 10100 pages.
- Messaoudi Dalila, Effet hépatoprotecteur et propriétés antioxydantes de *Santolina chamaecyparissus*, Diplôme de doctorat, université de sérif, 2017.
- Meyer, F., Bannert, K., Wiese, M., Esau, S., Sautter, L. F., Ehlers, L., Aghdassi, A. A., Metges, C. C., Garbe, L.-A., Jaster, R., Lerch, M. M., Lamprecht, G., & Valentini, L. (2020). Molecular Mechanism Contributing to Malnutrition and Sarcopenia in Patients with Liver Cirrhosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5357. <https://doi.org/10.3390/ijms21155357>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Migdal C. Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)* 27:405-412.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
- Mittler, R. (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Mohan, V. R., Tresina, P. S., & Daffodil, E. D. (2016). Antinutritional Factors in Legume Seeds : Characteristics and Determination. In *Encyclopedia of Food and Health* (p. 211-220). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00036-2>
- Mukhtar, H. M., Ansari, S. H., Bhat, Z. A., Naved, T., & Singh, P. (2006). Antidiabetic activity of an ethanol extract obtained from the stem bark of *Psidium guajava* (Myrtaceae). *Die Pharmazie*, 61(8), 725-727.
- N. Boizot et J-P. Charpentier. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA*. N°. special. (2006). pp. 79-82.
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., & Rahman, M. (2018). The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., & Rahman, M. (2018). The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>
- Nasrollahzadeh, M., Shafiei, N., Nezafat, Z., Soheili Bidgoli, N. S., & Soleimani, F. (2020). Recent progresses in the application of cellulose, starch, alginate, gum, pectin, chitin and chitosan based (nano)catalysts in sustainable and selective oxidation reactions : A review. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116353. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116353>
- Nsemi, F.M. 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Biologie végétale*. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français. ffNNT : 2010METZ011Sff. fftel-017526
- Ojewole, J. A. O. (2006). Anti-Inflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extracts in rats and mice. *Methods and Findings in*
- Parola M., Pinzani M., Casini A., Albano E., Poli G., Gentilini A., Gentilini P., Dianzani M. U. (1993). Stimulation of lipid peroxidation or 4-hydroxynonenal treatment increases procollagen alpha 1(I) gene expression in human liver fat-storing cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194 : 1044-1050.
- Parola M., Robino G. (2001). Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *Journal of Hepatology*, 35 : 297-306.
- Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Jacques, P. F., & McCullough, M. L. (2015). Improving the estimation of flavonoid intake for study of health outcomes. *Nutrition Reviews*, 73(8), 553-576. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv008>
- Phung N., Pera N., Farrell G., Leclercq I., Hou J. Y., George J. (2009). Pro-oxidant-mediated hepatic fibrosis and effects of antioxidant intervention in murine dietary steatohepatitis. *International Journal of Molecular Medicine*, 24 : 171-180.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant Polyphenols : Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621. <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>
- Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., & Frei, B. (1999). Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2), 90-98. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00151-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00151-8)
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rosa M, Perez G, Sylvia M, Rosario VS, Psidium guajava: A Review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, 117, 1-27
- Sartori-Thiel, A. (2003). "Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols." *Science et Agronomie ED 380 Doctorat*: 177.
- Sato, R., Dang, K. M., McPherson, B. G., & Brown, A. C. (2010). Anticancer Activity of Guava (*Psidium guajava*) Extracts. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 7(1). <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1361>
- Shaheen, null, Ali, null, Alqarawi, null, & Bashir, null. (2000). Erratum. H.M. Shaheen, B.H. Ali, A.A. Alqarawi and A.K. Bashir. « Effect Of psidium guajava leaves on some aspects of the central nervous system in mice ». *Phytotherapy research* 14(2) 2000, 107-111. *Phytotherapy Research: PTR*, 14(5), 400.
- Shao, Y., Wang, M., Zhang, F., Zhao, Z., Mei, X., Li, T., Wang, D., Liang, Y., Li, J., Xu, T., Zhao, Y... and Lu, B. 2020. Phenolic acid profiles of common food and estimated natural intake with different structures and forms in five regions of China. *Food Chemistry*, 321, 126675
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- [Soares, F. D., Pereira, T., Maio Marques, M. O., & Monteiro, A. R. \(2007\). Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit \(*Psidium guajava*\) at different stages of maturity. *Food Chemistry*, 100\(1\), 15-21. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.061](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.061)
- Soliman, F. M., Fathy, M. M., Salama, M. M., & Saber, F. R. (2016). Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 54(2), 219-225. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2016.06.003>
- Souad L, 2009 La goyave, un fruit tropical produit à Fouka (Tipaza) Exotisme dans la Mitidja [en ligne]. Disponible sur : <https://www.djazairress.com/fr/info-soir/94190>, (consulté le 2 octobre 2020).
- Strathearn, L. S., Stepanov, A. I., & Font-Burgada, J. (2020). Inflammation in Primary and Metastatic Liver Tumorigenesis—Under the Influence of Alcohol and High-Fat Diets. *Nutrients*, 12(4), 933. <https://doi.org/10.3390/nu12040933>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sulava, E., Bergin, S., Long, B., & Koyfman, A. (2017). Elevated Liver Enzymes : Emergency Department-Focused Management. *The Journal of Emergency Medicine*, 52(5), 654-667. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2016.10.016>
- Swallah, M. S., Sun, H., Affoh, R., Fu, H., & Yu, H. (2020). Antioxidant Potential Overviews of Secondary Metabolites (Polyphenols) in Fruits. *International Journal of Food Science*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/9081686>
- Tachakittirungrod, S., Ikegami, F. et Okonogi, S. (2007). Antioxidant Active Principles Isolated from *Psidium guajava* Grown in Thailand. *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.)* 75: 179-193.
- THIOMBIANO A. - 1984 - Contribution à l'étude hépato-protectrice de *Cochlospermum tinctorium* A. Rich. (Cochlospermaceae). Thèse d'état de Pharmacie - Université de DAKAR.
- Trefts, E., Gannon, M., & Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current Biology*, 27(21), R1147-R1151. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
- Tropicos.org (Consulté le 11.09.2014)
- -Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12(3), 484-496. <https://doi.org/10.3390/12030484>
- Udenigwe, C. C., Ramprasath, V. R., Aluko, R. E., & Jones, P. J. (2008). Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy : *Nutrition Reviews*©, Vol. 66, No. 8. *Nutrition Reviews*, 66(8), 445-454. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00076.x>
- Universalis.fr (Consulté le 02.04.2021)
- Valanciene, E., Jonuskiene, I., Syrpas, M., Augustiniene, E., Matulis, P., Simonavicius, A., & Malys, N. (2020). Advances and Prospects of Phenolic Acids Production, Biorefinery and Analysis. *Biomolecules*, 10(6), 874. <https://doi.org/10.3390/biom10060874>
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Vendemiale G., Grattagliano I., Caruso M. L., Serviddio G., Valentini A. M., Pirrelli M., Altomare E. (2001). Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: Effect of N-acetylcysteine and interferon- γ . *Toxicology and Applied Pharmacology*, 175:130-139.
- Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Research International*, 2013, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2013/963248>
- Wang, B., Jiao, S., Liu, H., & Hong, J. (2007). [Study on antioxidative activities of *Psidium guajava* Linn leaves extracts]. *Wei Sheng Yan Jiu = Journal of Hygiene Research*, 36(3), 298-300.
- Watanabe, M., Y. Ohno, et Y. Kasuya. 1976. « Desensitization of Guinea Pig Tracheal Muscle Preparation to Beta-Adrenergic Stimulants by a Preceding Exposure to a High Dose of Catecholamines ». *Japanese Journal of Pharmacology* 26 (2): 191-99.
- Watrelot, A. A., & Norton, E. L. (2020). Chemistry and Reactivity of Tannins in *Vitis* spp. : A Review. *Molecules*, 25(9), 2110. <https://doi.org/10.3390/molecules25092110>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wei L, Li Z, Chen B, Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis with *Psidium guajava* L, Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 20(12), 2000, 893-895.
- Yoshida, H., Kajimoto, G., & Emura, S. (1993). Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. Journal of the American Oil Chemists' Society, 70(10), 989-995. <https://doi.org/10.1007/BF02543025>
- Zhou, W.-C. (2014). Pathogenesis of liver cirrhosis. World Journal of Gastroenterology, 20(23), 7312 <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i23.7312>

Annexes

Annexe 1 : Agitateur à hélice



Annexe 2 : Balance de précision



Annexe 3 : Broyeur manuelle



Annexe 4 : Spectrophotomètre

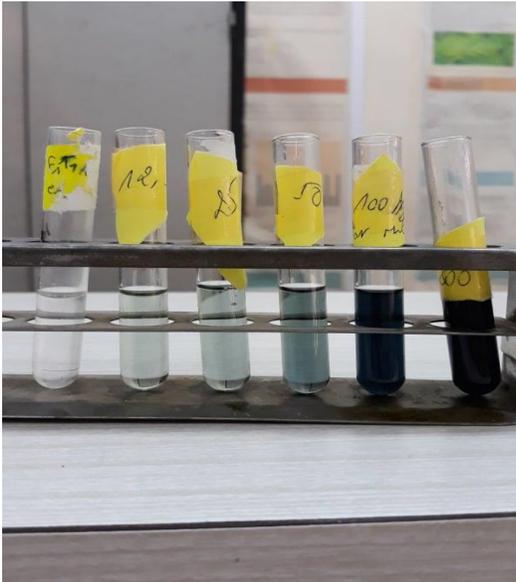


Annexe 5 : Rotavapeur



Annexes

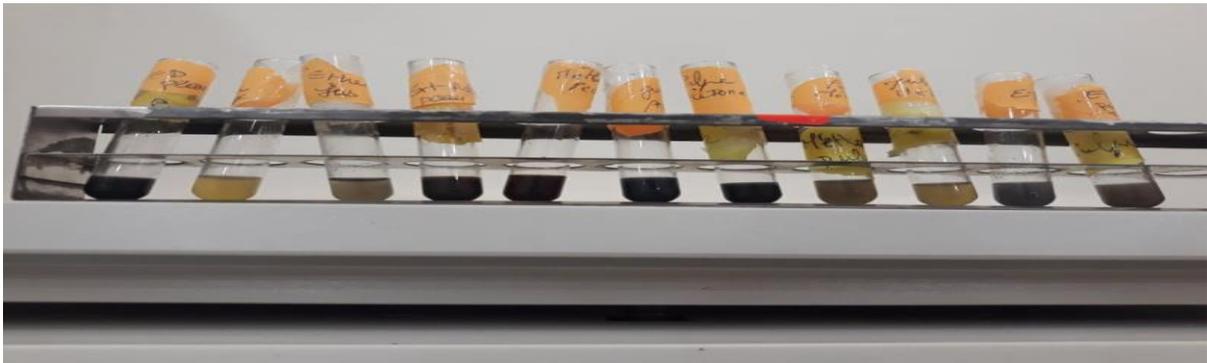
Annexe 6. Gamme d'étalonnage



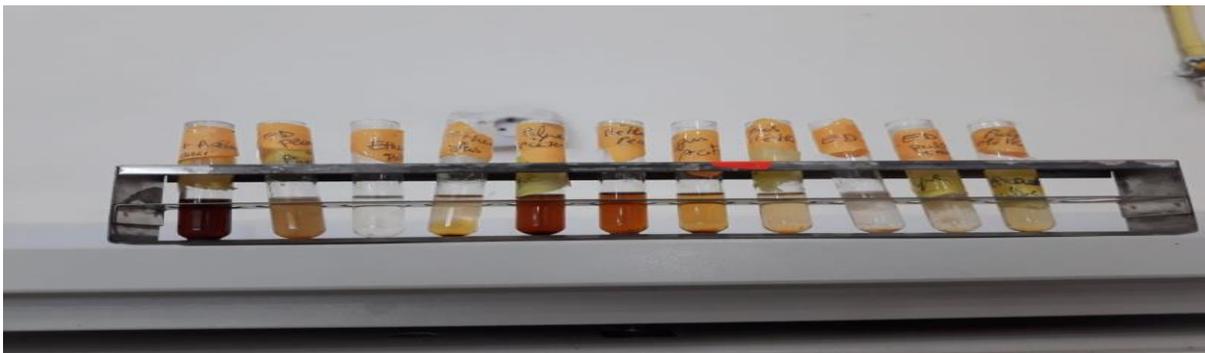
Annexe 7. Résultat du screening (quinones)



Annexe 8. Résultat du screening (saponines)

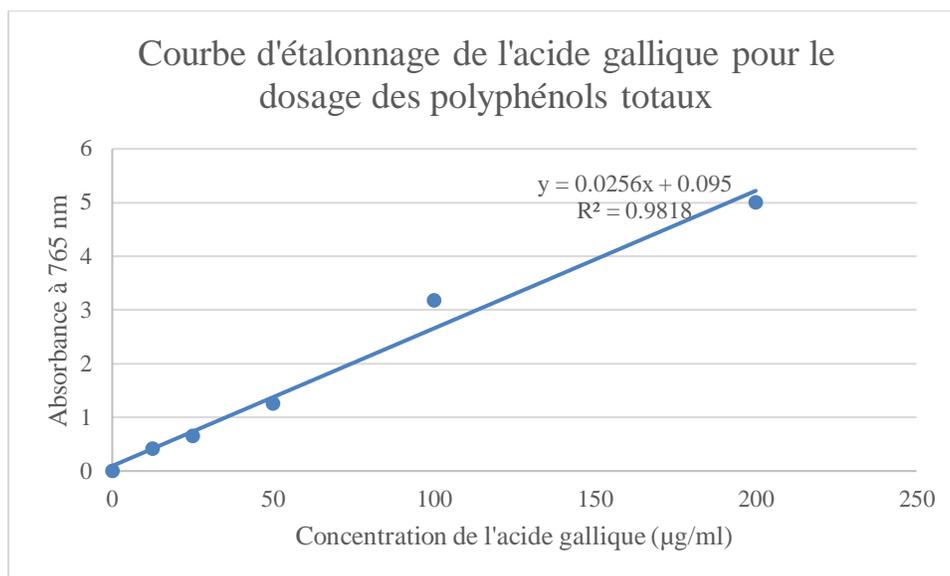


Annexe 9. Résultat du screening (Tanins)



Annexes

Annexe 10. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe 11-A. Analyse de la variance : Teneurs en polyphénols totaux

Tissu:

	diff	lwr	upr	p
Peau-Jus	0.3399654	-0.1463376	0.8262683	0.2093012
Pulpe -Jus	-1.4073918	-1.8936947	-0.9210888	0.0000005
Pulpe -Peau	-1.7473571	-2.2336601	-1.2610542	0.0000000

Extrait :

	diff	lwr	upr	p
Ext ED_Jus - Ext A_Jus	-1.09301	0.38946	-2.806	0.2383
Ext EP_Jus - Ext A_Jus	-2.76728	0.38946	-7.105	<0.01 ***
Ext MeOH_Jus - Ext A_Jus	7.12798	0.38946	18.302	<0.01 ***
Ext A_Peau - Ext A_Jus	2.82243	0.38946	7.247	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext A_Jus	13.23074	0.38946	33.972	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext A_Jus	-16.75954	0.38946	-43.032	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext A_Jus	5.33391	0.38946	13.695	<0.01 ***
Ext A_Pulpe - Ext A_Jus	1.49786	0.38946	3.846	0.0293 *
Ext ED_Pulpe - Ext A_Jus	-1.83096	0.38946	-4.701	<0.01 **
Ext EP_Pulpe - Ext A_Jus	-0.07092	0.38946	-0.182	1.0000
Ext MeOH_Pulpe - Ext A_Jus	-1.95787	0.38946	-5.027	<0.01 **
Ext EP_Jus - Ext ED_Jus	-1.67427	0.38946	-4.299	0.0104 *

Annexes

Ext MeOH_Jus - Ext ED_Jus	8.22099	0.38946	21.108	<0.01 ***
Ext A_Peau - Ext ED_Jus	3.91544	0.38946	10.053	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext ED_Jus	14.32375	0.38946	36.778	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext ED_Jus	14.32375	0.38946	36.778	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext ED_Jus	-15.66653	0.38946	-40.226	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext ED_Jus	6.42692	0.38946	16.502	<0.01 ***
Ext A_Pulpe - Ext ED_Jus	2.59087	0.38946	6.652	<0.01 ***
Ext ED_Pulpe - Ext ED_Jus	-0.73795	0.38946	-1.895	0.7522
Ext EP_Pulpe - Ext ED_Jus	1.02210	0.38946	2.624	0.3195
Ext MeOH_Pulpe - Ext ED_Jus	-0.86486	0.38946	-2.221	0.5513
Ext MeOH_Jus - Ext EP_Jus	9.89526	0.38946	25.407	<0.01 ***
Ext A_Peau - Ext EP_Jus	5.58971	0.38946	14.352	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext EP_Jus	15.99803	0.38946	41.077	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext EP_Jus	-13.99225	0.38946	-35.927	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext EP_Jus	8.10119	0.38946	20.801	<0.01 ***
Ext A_Pulpe - Ext EP_Jus	4.26514	0.38946	10.951	<0.01 ***
Ext ED_Pulpe - Ext EP_Jus	0.93632	0.38946	2.404	0.4392
Ext EP_Pulpe - Ext EP_Jus	2.69637	0.38946	6.923	<0.01 ***
Ext MeOH_Pulpe - Ext EP_Jus	0.80942	0.38946	2.078	0.6408
Ext A_Peau - Ext MeOH_Jus	-4.30555	0.38946	-11.055	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext MeOH_Jus	6.10277	0.38946	15.670	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext MeOH_Jus	-23.88751	0.38946	-61.334	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext MeOH_Jus	-1.79406	0.38946	-4.606	<0.01 **
Ext A_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-5.63012	0.38946	-14.456	<0.01 ***
Ext ED_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-8.95893	0.38946	-23.003	<0.01 ***
Ext EP_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-7.19889	0.38946	-18.484	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext MeOH_Jus	6.10277	0.38946	15.670	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext MeOH_Jus	-23.88751	0.38946	-61.334	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext MeOH_Jus	-1.79406	0.38946	-4.606	<0.01 **
Ext A_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-5.63012	0.38946	-14.456	<0.01 ***
Ext ED_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-8.95893	0.38946	-23.003	<0.01 ***
Ext EP_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-7.19889	0.38946	-18.484	<0.01 ***
Ext MeOH_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-9.08584	0.38946	-23.329	<0.01 ***
Ext ED_Peau - Ext A_Peau	10.40831	0.38946	26.725	<0.01 ***

Annexes

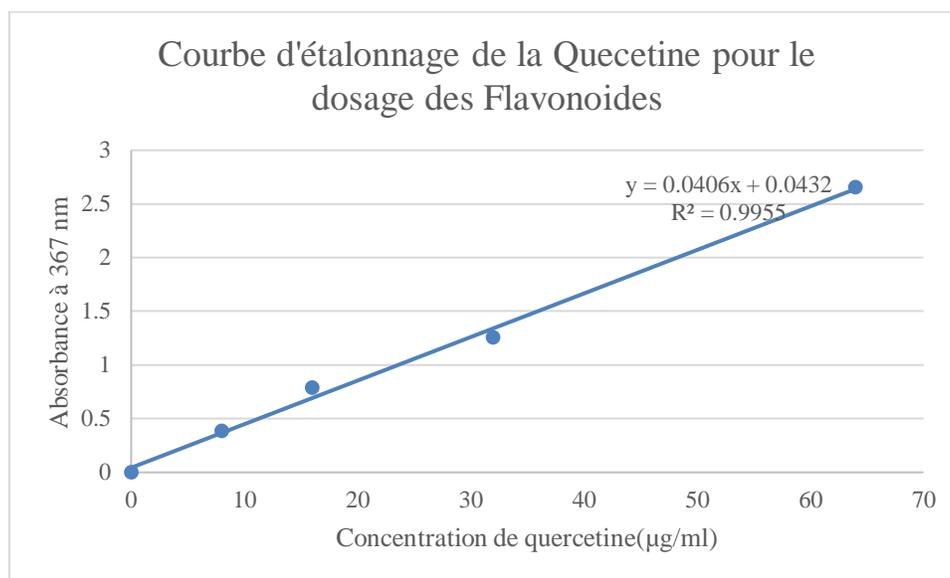
Ext EP_Peau - Ext A_Peau	-19.58197	0.38946	-50.279	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext A_Peau	2.51148	0.38946	6.449	<0.01 ***
Ext A_Pulpe - Ext A_Peau	-1.32457	0.38946	-3.401	0.0778
Ext ED_Pulpe - Ext A_Peau	-4.65339	0.38946	-11.948	<0.01 ***
Ext EP_Pulpe - Ext A_Peau	-2.89334	0.38946	-7.429	<0.01 ***
Ext MeOH_Pulpe - Ext A_Peau	-4.78030	0.38946	-12.274	<0.01 ***
Ext EP_Peau - Ext ED_Peau	-29.99028	0.38946	-77.004	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext ED_Peau	-7.89683	0.38946	-20.276	<0.01 ***

Signif. Codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Annexe 11-B. Test Newman et Keuls : Groupes homogènes

Extrait	Epluchures	Pulpe	Jus
MeOH	f	bc	g
A	e	f	d
ED	h	bc	cd
EP	a	d	b

Annexe 12. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes



Annexe 13-A. Analyse de la variance : Teneurs en flavonoïdes totaux

Tissu:

	diff	lwr	upr	p
Peau-Jus	2.479010	2.37040963	2.5876100	0.0000000
Pulpe -Jus	0.083906	-0.02713495	0.1949469	0.1635356
Pulpe -Peau	-2.395104	- 2.50614477	-2.2840629	0.0000000

Annexes

Extrait :

	diff	lwr	upr	p
Ext ED:Jus -Ext A:Jus	-0.2610330290	-0.57507139	0.05300533	0.1683201
Ext EP_Jus - Ext A_Jus	-0.2457623750	-0.55980074	0.06827599	0.2294933
Ext MeOH_Jus - Ext A_Jus	0.1233538033	-0.19068456	0.43739216	0.9467889
Ext A_Peau - Ext A_Jus	0.8839029840	0.56986462	1.19794135	0.0000000
Ext ED_Peau - Ext A_Jus	4.6375745463	4.32353619	4.95161291	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext A_Jus	3.1918378313	2.87779947	3.50587619	0.0000000
Ext MeOH_Peau - Ext A_Jus	0.8192823243	0.50524396	1.13332069	0.0000001
Ext A_Pulpe - Ext A_Jus	0.5584284193	0.24439006	0.87246678	0.0000751
Ext ED_Pulpe - Ext A_Jus	-0.2451113553	-0.55914972	0.06892701	0.2324323
Ext EP_Pulpe - Ext A_Jus	-0.3375710572	-0.68867662	0.01353450	0.0669971
Ext MeOH_Pulpe - Ext A_Jus	-0.2120789180	-0.52611728	0.10195944	0.4170825
Ext EP_Jus - Ext ED_Jus	0.0152706540	-0.29876771	0.32930902	1.0000000
Ext MeOH_Jus - Ext ED_Jus	0.3843868323	0.07034847	0.69842519	0.0081707
Ext A_Peau - Ext ED_Jus	1.1449360130	0.83089765	1.45897437	0.0000000
Ext ED_Peau - Ext ED_Jus	4.8986075753	4.58456921	5.21264594	0.0000000
Ext ED_Peau - Ext ED_Jus	3.4528708603	3.13883250	3.76690922	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext ED_Jus	1.0803153533	0.76627699	1.39435371	0.0000000
Ext MeOH_Peau - Ext ED_Jus	0.8194614483	0.50542309	1.13349981	0.0000001
Ext A_Pulpe - Ext ED_Jus	0.0159216737	-0.29811669	0.32996003	1.0000000
Ext ED_Pulpe - Ext ED_Jus	-0.0765380282	-0.42764359	0.27456753	0.9995188
Ext EP_Pulpe - Ext ED_Jus	0.0489541110	-0.26508425	0.36299247	0.9999813
Ext MeOH_Pulpe - Ext ED_Jus	0.3691161783	0.05507782	0.68315454	0.0122490
Ext MeOH_Jus - Ext EP_Jus	1.1296653590	0.81562700	1.44370372	0.0000000
Ext A_Peau - Ext EP_Jus	4.8833369213	4.56929856	5.19737528	0.0000000
Ext ED_Peau - Ext EP_Jus	3.4376002063	3.12356185	3.75163857	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext EP_Jus	1.0650446993	0.75100634	1.37908306	0.0000000
Ext MeOH_Peau - Ext EP_Jus	0.8041907943	0.49015243	1.11822916	0.0000002
Ext A_Pulpe - Ext EP_Jus	0.0006510197	-0.31338734	0.31468938	1.0000000
Ext ED_Pulpe - Ext EP_Jus	-0.0918086822	-0.44291424	0.25929688	0.9975591
Ext EP_Pulpe - Ext EP_Jus	0.0336834570	-0.28035490	0.34772182	0.9999996
Ext MeOH_Pulpe - Ext EP_Jus	0.7605491807	0.44651082	1.07458754	0.0000005
Ext A_Peau - Ext MeOH_Jus	4.5142207430	4.20018238	4.82825910	0.0000000

Annexes

Ext ED_Peau - Ext MeOH_Jus	3.0684840280	2.75444567	3.38252239	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext MeOH_Jus	0.6959285210	0.38189016	1.00996688	0.0000023
Ext MeOH_Peau - Ext MeOH_Jus	0.4350746160	0.12103625	0.74911298	0.0020839
Ext A_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-0.3684651587	-0.68250352	-0.05442680	0.0124610
Ext ED_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-0.4609248605	-0.81203042	-0.10981930	0.0038654
Ext EP_Pulpe - Ext MeOH_Jus	-0.3354327213	-0.64947108	-0.02139436	0.0293186
Ext ED_Peau - Ext MeOH_Jus	3.7536715623	3.43963320	4.06770992	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext MeOH_Jus	2.3079348473	1.99389649	2.62197321	0.0000000
Ext MeOH_Peau - Ext MeOH_Jus	-0.0646206597	-0.37865902	0.24941770	0.9997191
Ext A_Pulpe - Ext MeOH_Jus	4.6375745463	4.32353619	4.95161291	0.0000000
Ext ED_Pulpe - Ext MeOH_Jus	3.1918378313	2.87779947	3.50587619	0.0000000
Ext EP_Pulpe - Ext MeOH_Jus	0.8192823243	0.50524396	1.13332069	0.0000001
Ext MeOH_Pulpe - Ext MeOH_Jus	4.6375745463	4.32353619	4.95161291	0.0000000
Ext ED_Peau - Ext A_Peau	3.1918378313	2.87779947	3.50587619	0.0000000
Ext EP_Peau - Ext A_Peau	0.8192823243	0.50524396	1.13332069	0.0000001
Ext MeOH_Peau - Ext A_Peau	-0.3354327213	-0.64947108	-0.02139436	0.0293186
Ext A_Pulpe - Ext A_Peau	3.7536715623	3.43963320	4.06770992	0.0000000
Ext ED_Pulpe - Ext A_Peau	2.3079348473	1.99389649	2.62197321	0.0000000
Ext EP_Pulpe - Ext A_Peau	-0.0646206597	-0.37865902	0.24941770	0.9997191
Ext MeOH_Pulpe - Ext A_Peau	0.80942	0.38946	2.078	0.6408
Ext EP_Peau - Ext ED_Peau	-4.30555	0.38946	-11.055	<0.01 ***
Ext MeOH_Peau - Ext ED_Peau	-0.770507	0.086730	-8.884	< 0.001 ***

Signif. Codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

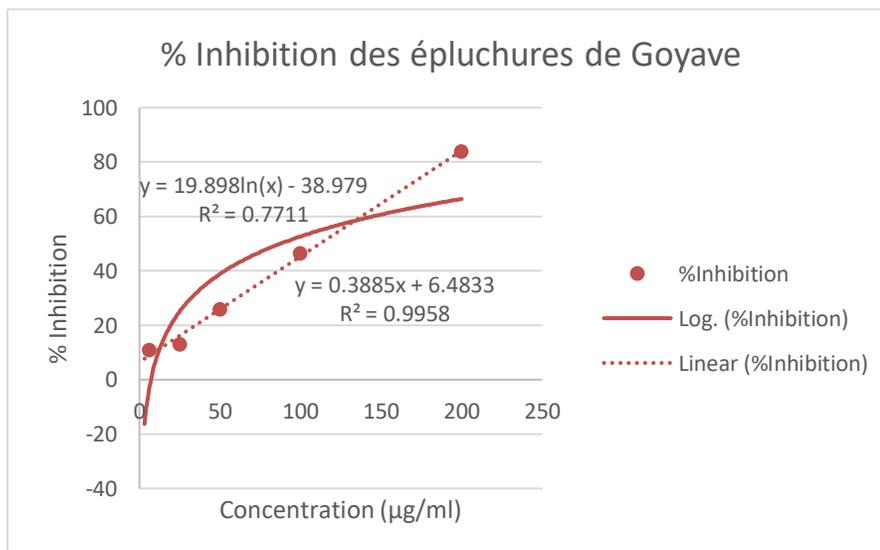
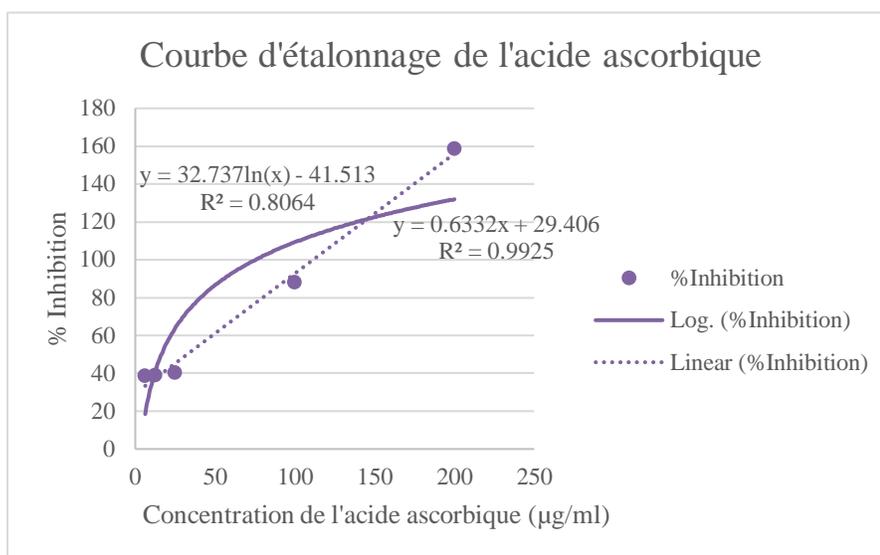
Annexe 13-B. Test Newman et Keuls : Groupes homogènes

Extrait	Epluchures	Pulpe	Jus
MeOH	cd	a	b
A	d	c	ab
ED	f	a	a
EP	e	a	a

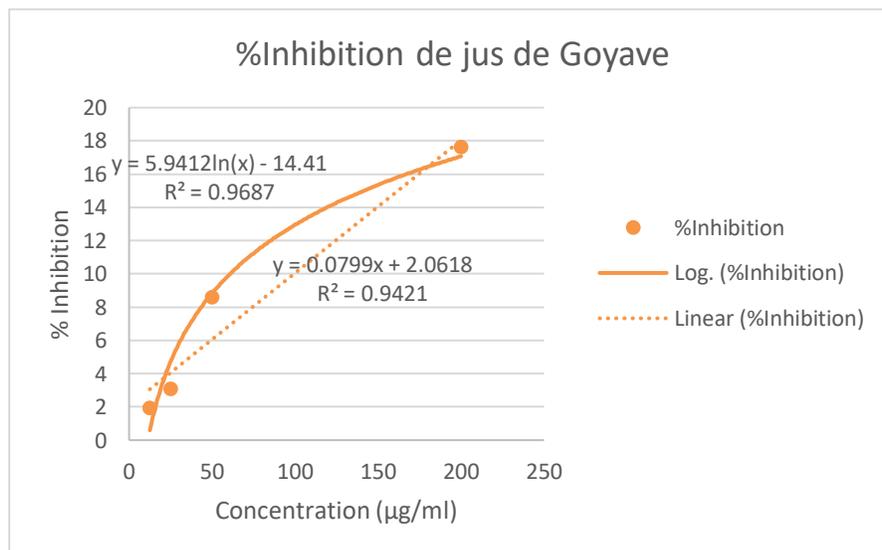
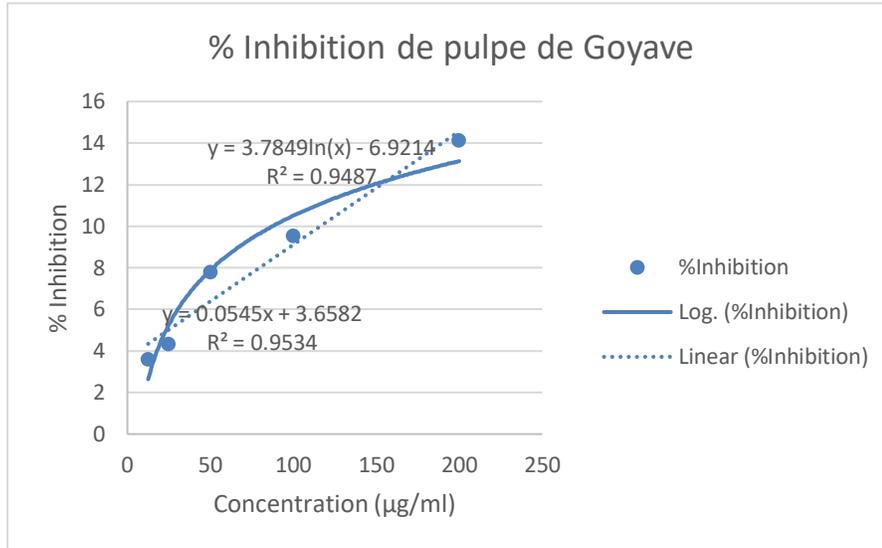
Annexe 14. Test Newman et Keuls de l'activité antioxydante : Groupes homogènes

Extrait	Groupe homogène
Epluchures	b
Pulpe	c
Jus	c
Acide ascorbique	a

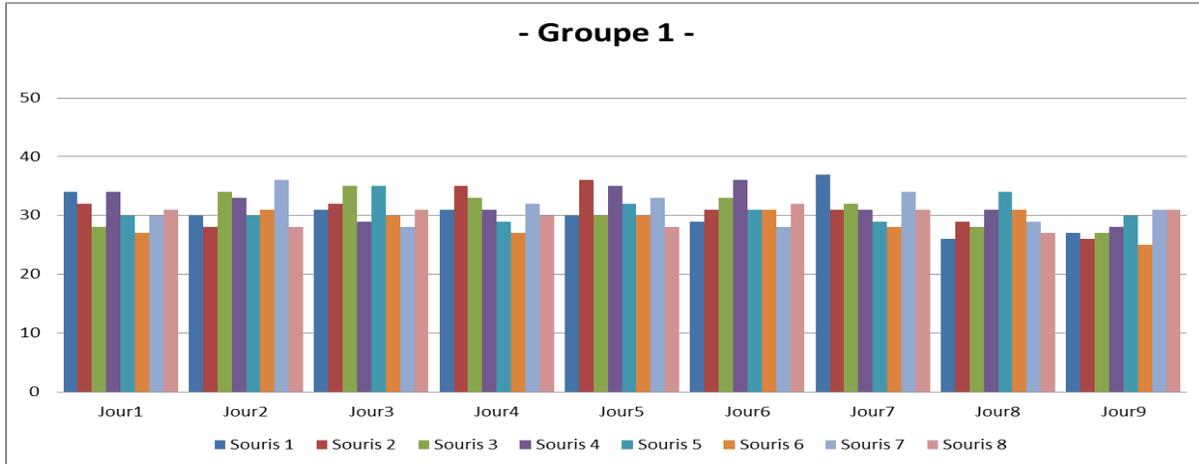
Annexe 15. Courbes du pourcentage d'inhibition du DPPH



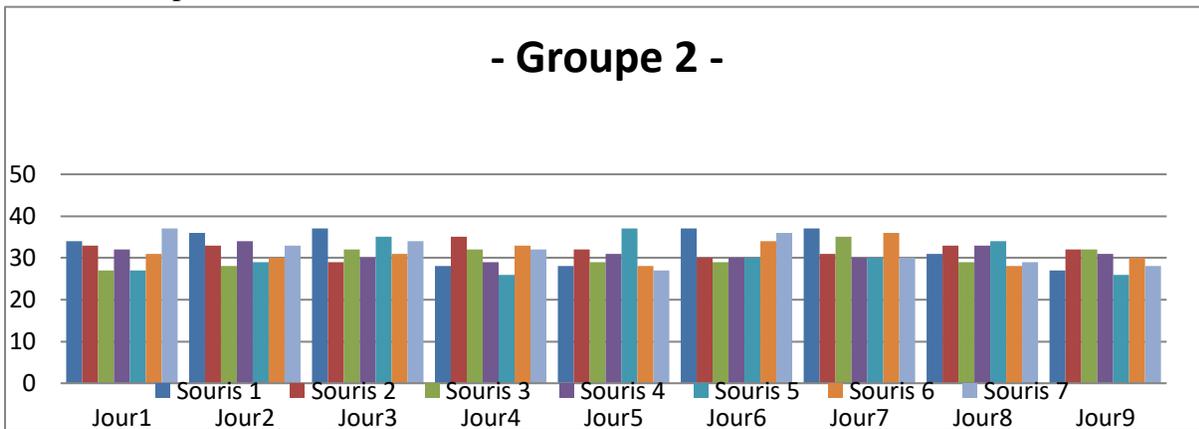
Annexes



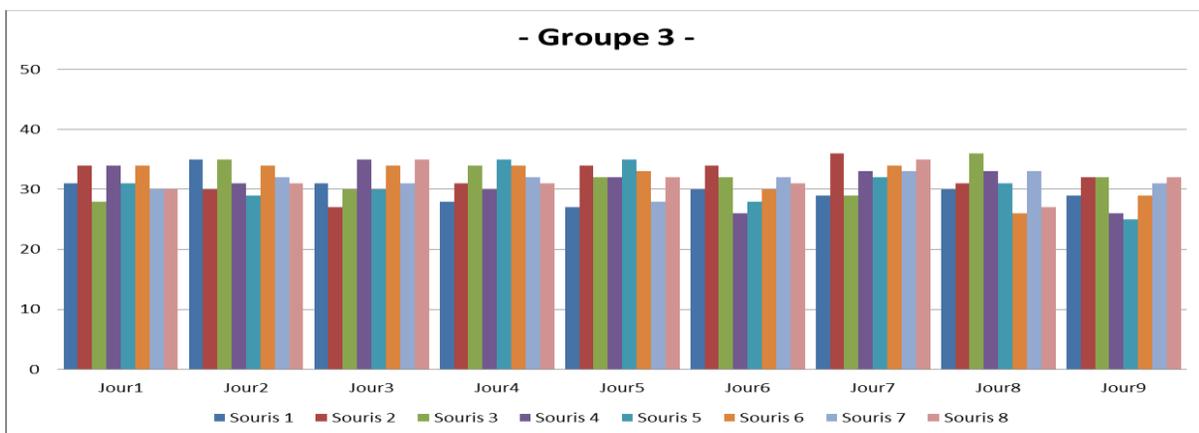
Annexe 16. Poids des souris du 1er lot au cours de la semaine du traitement et de toxicité



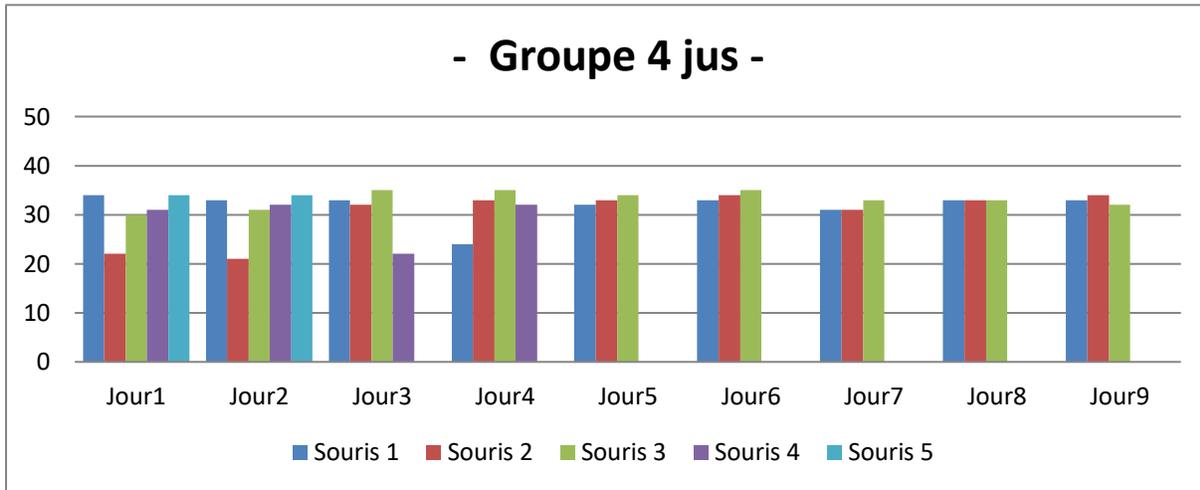
Annexe 17 : poids des souris du 2eme lot au cours de la semaine du traitement et toxicité



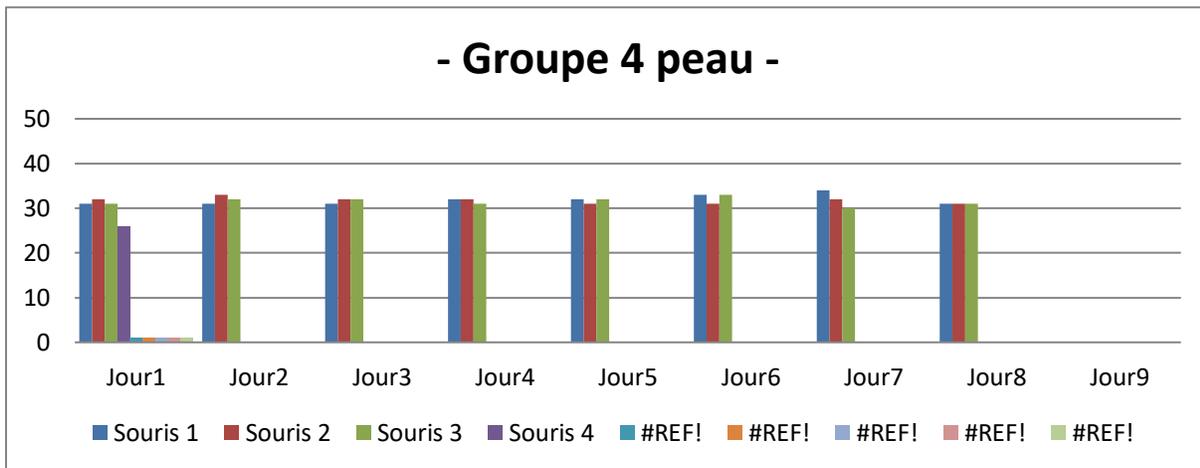
Annexe 18. Poids des souris du 3éme lot au cours de la semaine du traitement et de toxicité



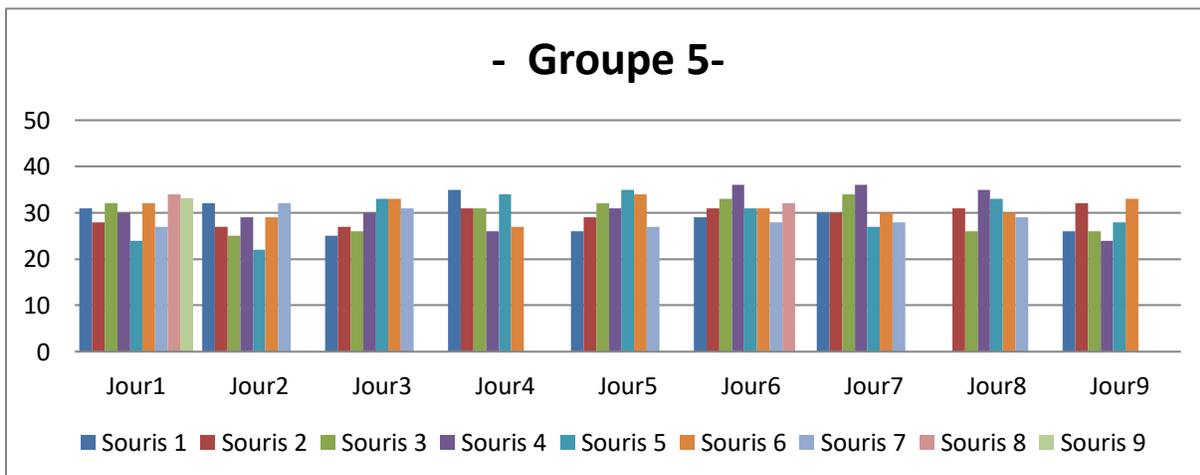
Annexe 19. Poids des souris du 4 éme lot (J) au cour de la semaine du traitement et de toxicité



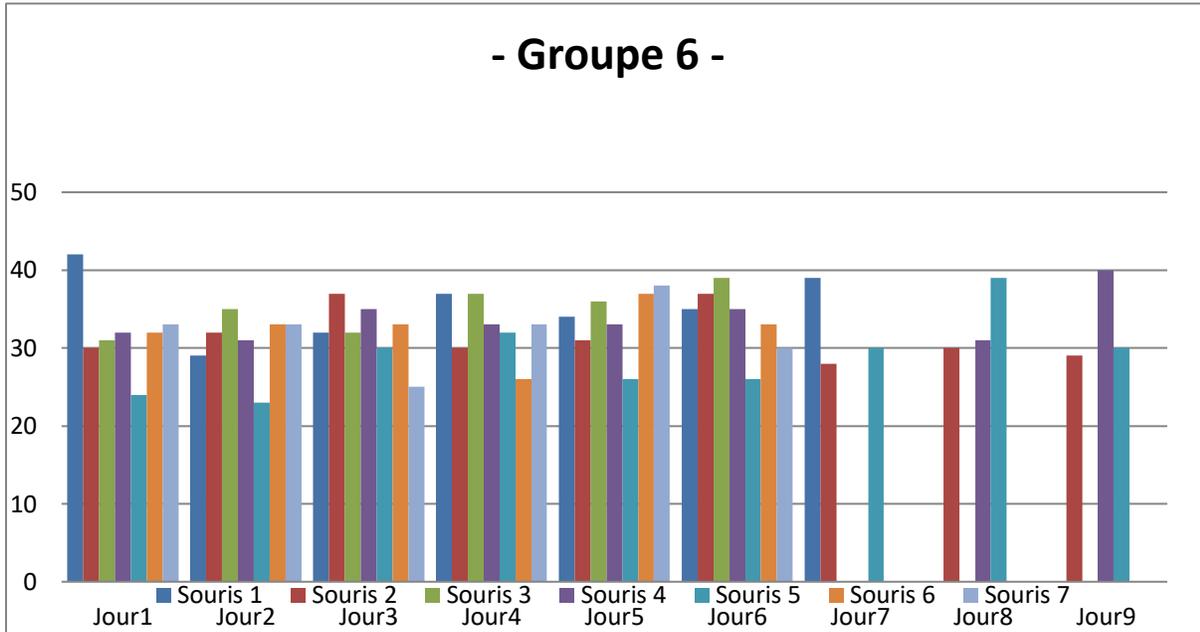
Annexe 20. Poids des souris du 4éme (P) lot au cour de la semaine du traitement et de toxicité



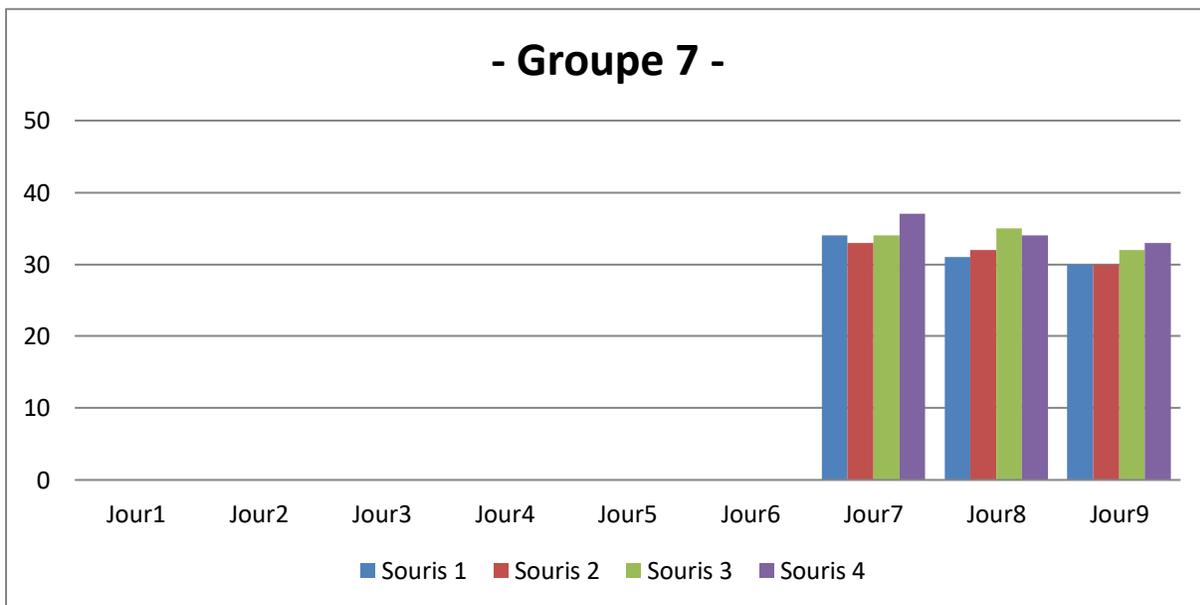
Annexe 21. Poids des souris du 5éme lot au cour de la semaine du traitement et de toxicité



Annexe 22. Poids des souris du 6ème lot au cour de la semaine du traitement et de toxicité



Annexe 23. Poids des souris du 7ème lot au cour de la semaine du traitement et de toxicité



Annexes

Annexe 24. Prélèvement sanguin



Annexe 25. Conservation du foie



Annexe 26. Matériel de dissection



Annexe 27. Souris disséqué



Annexe 28. Sonde œsophagienne



Annexe 29. Malformation (Groupe4P)



Annexes

Annexe 30. Paraffineuse



Annexe 31. Microtome



Annexe 32. Ruban du tissu du foie



Annexe 33. Déparaffinage



Annexe 34. Coloration des coupes histologique

