

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

Réf :.....

# Mémoire

Présenté par

**KHOUCHANE Fatah et MAHOUI Yacine**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master Académique**

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Santé

Thème

**Etude in vitro de l'effet anti-inflammatoire et  
évaluation in vivo de la toxicité de l'extrait éthanolique  
des feuilles de *Moringa Oleifera*.**

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mme REMILA S.	MCB	Président
Mme MEZIANI S.	MCA	Encadrant
Mme KHEYAR N.	MCA	Examineur

Année Universitaire : 2023/2024

# Remerciements

*Ces quelques lignes vont nous permettre de remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce modeste travail, sans qui il n'aurait pu aboutir.*

*En premier lieu, nous tenons à adresser nos sincères et vifs remerciements à notre encadreur, Mme **MEZIANI S.**, à l'origine du sujet de ce mémoire, qui a consacré beaucoup de son temps cher pour nous accompagner tout au long de ce parcours fastidieux. Son soutien, ses encouragements, sa gentillesse et surtout ses qualités professionnelles nous ont été d'un grand apport.*

*Nous ne raterons pas cette occasion pour exprimer nos meilleurs sentiments, notre grand respect et profonde gratitude à Mme **BOUREBABA Y.**, pour son aide précieuse, sa disponibilité et pour avoir consacré un peu de son temps précieux à nous aider dans nos travaux pratiques et ce depuis le début.*

*Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Mme **REMILA S.**, d'avoir accepté de faire partie des membres du jury et d'avoir eu l'honneur de le présider.*

*Nos grands remerciements vont aussi à Mme **KHEYAR N.**, qui a aussi accepté de faire partie des membres de jury pour examiner ce travail.*

*Nous remercions Mr. **BOUDJOUAN F.**, pour son aide précieuse, sa disponibilité et pour avoir consacré un peu de son temps précieux à nous aider dans nos travaux pratiques.*

*Grands remerciements à Mlles **MAHDI Amina, KOUBACHE Sonia, BERRAKI Zahoua Sarah, CHIKH Amel, OUATATI Fifi** et Mr **BRAHMI Rabah** pour leurs aides inestimables, leurs bonnes humeurs, leurs patiences angéliques et leurs présences tout au long de la préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions tous les **membres du Laboratoire de Biotechnologie de l'université de Bejaïa**, qui à un moment ou à un autre, nous ont apporté leur aide.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire de fin d'études en premier lieu à mes parents, dont le soutien indéfectible, l'amour et les sacrifices ont été la pierre angulaire de mon parcours. Leur encouragement constant m'a permis d'atteindre cet objectif.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à « Farida », qui m'a vu grandir, m'a éduqué, et a fait office de deuxième mère à mes yeux. Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute ma reconnaissance envers elle.*

*Je dédie aussi ce travail à ma sœur « Kim-Farah », ainsi qu'à mes frères « Youcef et Elias », dont le soutien inébranlable et la présence m'ont été d'une aide précieuse. Enfin, je remercie tous ceux qui me sont chers, famille et amis sans oublier mon oncle « Karim », qui m'est particulièrement précieux.*

*Pour conclure, je partage cette citation inspirante :*

*"Le succès n'est pas la clé du bonheur. Le bonheur est la clé du succès. Si vous aimez ce que vous faites, vous réussirez." - Albert Schweitzer.*

*Khouchane.Fatah*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes chers parents qui m'ont apporté leurs soutiens et encouragements tout le long de mon cursus universitaire et qui ont été très patient et compréhensif, malgré les moments difficiles.*

*À ma très cher et adorable sœur « Louiza » qui m'a épaulé tout le long de ce parcours parsemé d'embûches. Sa gentillesse, sa finesse, son tempérament drôle et joyeux, ont égayés mes jours et m'ont permis de surmonter tous les obstacles.*

*À mes oncles qui m'ont soutenu et encouragé et qui m'ont été d'un grand réconfort.*

*À mes ami(e)s de la FAC avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.*

*MAHOUI Yacine.*

Remerciements

Dédicaces

## ***Tables des matières***

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 01

### ***Partie bibliographique***

*"Moringa Oleifera et inflammation"*

1. Généralités sur <i>Moringa oleifera</i> .....	03
1.1. Caractéristiques botaniques .....	03
1.2. Taxonomie .....	03
1.3. Origine et distribution.....	04
1.4. Composition chimique des feuilles .....	04
1.5. Utilisations des feuilles de <i>Moringa Oleifera</i> .....	05
1.6. Propriétés pharmaceutiques .....	06
2. Inflammation et Activité anti-inflammatoire.....	07
2.1. Définition de l'inflammation .....	07
2.2. Etiologie de l'inflammation .....	07
2.3. Types de l'inflammation.....	08
2.3.1. Inflammation aigue.....	08
2.3.2. Inflammation chronique.....	08
2.4. Les médiateurs de l'inflammation.....	09
2.5. Les mécanismes de l'inflammation.....	09
2.6. Activité anti-inflammatoire.....	10
2.6.1. Les Anti-inflammatoires Non stéroïdiens (AINS) .....	11
2.6.2. Les Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	12
2.6.3. Les Anti-inflammatoires d'origine végétale (AIV).....	13

## ***Partie expérimentale***

### "Matériel et Méthodes"

1. Matériel végétale.....	14
1.1. Origine des feuilles .....	14
1.2. . Préparation des feuilles .....	14
2. Extraction des composés phénoliques.....	14
3. Dosage des métabolites secondaires .....	15
3.1. Dosage des poly phénols totaux.....	15
3.2. Dosage des flavonoïdes .....	15
3.3. Dosage des tanins condensés .....	16
3.4. Dosage des tanins hydrolysables.....	16
4. Détermination de l'activité anti-oxydante .....	16
4.1. Effet scavenger du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH) .....	17
4.2. Effet de piégeage du radical ABTS.....	17
4.3. Effet scavenger du radical du monoxyde d'azote (NO•).....	18
4.4. Effet scavenger du radical hydroxyle (HO•) .....	18
4.5. Effet scavenger du peroxyde d'oxygène H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	19
4.6. Dosage de la vitamine C.....	19
5. Détermination de l'activité anti-inflammatoire in-vitro.....	20
5.1. Activité anti-dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine .....	20
5.2. Évaluation de l'activité enzymatique.....	20
5.3. Inhibition de l'activité de l'alpha-amylase.....	20
6. Test de toxicité <i>in-vivo</i> .....	21
6.1. Toxicité aigüe par voie orale .....	21
6.2. Suivi quotidien après le gavage.....	22
6.3. Sacrifice, prélèvement et dissection .....	22
6.4. Analyse du sang .....	23
6.4.1. Analyse hématologique .....	23
6.4.2. Analyse biochimique.....	23
7. Analyses statistiques.....	23

## ***Partie expérimentale***

### "Résultats et discussions"

1. Teneurs en composés phénoliques.....	24
2. Potentiel antioxydant.....	26
2.1. Activité DPPH .....	26
2.2. Activité ABTS.....	28

2.3. Activité anti-radicalaire NO et OH.....	29
2.3.1. Test de piégeage du radical hydroxyle (OH) .....	30
2.3.2. Test de piégeage des radicaux de monoxyde d'azote (NO).....	31
2.3.3. Activité anti-peroxyde d'oxygène .....	32
2.4. Vitamine C .....	33
3. Potentiel anti-inflammatoire .....	34
3.1. Dénaturation des protéines .....	34
3.2. Activité alpha-amylase .....	36
4. Test de toxicité in-vivo .....	37
4.1. Suivi quotidien après le gavage .....	38
4.1.1. Évaluation de la toxicité sur l'état physique .....	38
4.1.2. Suivi du poids et de la température corporelle .....	38
4.2. Analyses biochimiques .....	40
4.2.1. Bilan rénal .....	40
4.2.2. Bilan hépatique.....	41
4.2.3. Bilan hématologique.....	43
4.3. Etude macroscopique du foie .....	45
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>47</b>

## **Annexes**

### **Résumé**

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Photo de l'arbre de <i>Moringa oleifera</i> (Lam)	3
2	Carte de distribution spatiale de <i>M. oleifera</i> ( <b>Pareek et al., 2023</b> ).	4
3	Les caractéristiques nutritionnelles des feuilles de <i>M. oleifera</i> ( <b>Su et Chen, 2020</b> ).	5
4	Les vertus thérapeutiques de <i>M. oleifera</i> ( <b>Granella et al., 2021</b> ).	6
5	Utilisations médicinales des feuilles de <i>M. oleifera</i> ( <b>Mohlala et al., 2023</b> ).	6
6	Schéma fonctionnel de la réaction immunitaire innée (réaction inflammatoire)	10
7	Mécanisme d'action des AINS dans la production des prostaglandines et leur effet sur le processus inflammatoire (Biorender).	11
8	Les feuilles sèches de <i>Moringa oleifera</i> [a] et la poudre après broyage [b].	14
9	Photo du gavage par voie orale des souris par l'extrait aqueux de feuilles de <i>M. oleifera</i> .	22
10	Teneurs en composés phénoliques (PST, FLA, TC et TH) de l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> .	24
11	Les pourcentages de piégeage des radicaux libres DPPH par l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> (MO), par l'acide ascorbique (AA) et par l'acide gallique (AG).	27
12	Les pourcentages de piégeage des radicaux libres ABTS par l'extrait éthanol/eau des feuilles de <i>M. oleifera</i> (MO) et par le Trolox.	28

13	Les pourcentages d'inhibition de l'oxydation des radicaux libres OH et NO par l'extrait éthanol/eau des feuilles de <i>M. oleifera</i> et par les antioxydants de références (l'acide gallique et l'acide ascorbique	30
14	Les pourcentages d'inhibition de l'oxydation du radical libre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> par l'extrait éthanol/eau de feuilles de <i>M. oleifera</i> et par les antioxydants de références (AA).	32
15	Teneur de l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> en Vitamine C	34
16	Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine (EGG) par l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> et le Diclofénac de sodium.	35
17	Pouvoir inhibiteur de l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> et de l'Acarbose sur l'activité enzymatique de l'α-amylase	37
18	Aspect physique d'une souris du lot de 5000mg/kg, 7 jours après gavage par l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> .	38
19	Suivie de l'évolution de poids et température entre J1 et J15 des différents lots de souris après gavage par l'extrait de feuilles de <i>M.oleifera</i> .	39
20	Les Paramètres biochimiques du bilan rénal du groupe témoin et des groupes ayant reçus une dose d'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> par voie orale.	41
21	Les Paramètres biochimiques du bilan hépatique du groupe témoin et des groupes ayant reçus une dose d'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> par voie orale.	42
22	Les Paramètres du bilan hématologique du groupe témoin et des groupes ayant reçus une dose d'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i> par voie orale.	44
23	Aspect macroscopique du foie d'une souris (lot 5000 mg/kg) accompagné d'une vésicule biliaire apparente.	45

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>I</b>	Les médiateurs de l'inflammation	<b>9</b>

## Liste des abréviations

**ABTS** : Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**ALAT** : Alanine Amino-Transférase

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium

**ASAT** : Aspartate Amino-Transférase

**BSA** : Protéine sérum-albumine bovine

**BT** : Bilirubine total

**CE** : Equivalent de Catéchine

**CRP** : Protéine C réactive

**DCPIP** : 2,6-dichloro-phénol-indophénol

**DL50** : dose létale

**DPPH** : Radical diphényl picryl-hydrazyl

**EAG** : Equivalent d'Acide gallique

**EAS** : Equivalent d'Acide ascorbique

**EQ** : Equivalent de Quercitine

**FeSO<sub>4</sub>** : sulfate ferreux

**GB** : Globules blanc

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**HB** : Hémoglobine

**HCl** : Acide chlorhydrique

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice médiane

**IL-1** : Interleukine-1

**IL-6** : Interleukine-6

**K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>** : persulfate de potassium

**KIO<sub>3</sub>** : Iodate de potassium

**NADPH** : Nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate hydrogéné

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Carbonate de sodium

**NEDD**: N-1- Naphtylethylènediaminedihydrochloride

**NF-κB** : Facteur de nécrose kappa B

**NO** : Oxyde nitrique

**OH** : Radical hydroxyle

**PBS** : Tampon phosphate salin

**TA** : Acide Tannique

**TEAC** : Test de la capacité antioxydante équivalente de Trolox

**TNF-α** : Facteur de nécrose tumoral alpha

**UV** : Ultra-violet

**DAMP** : Damage-Associated Molecular Patterns (les motifs moléculaires associés aux dommages).

**PAMP**: Pathogène Associated Molecular Patterns (les motifs moléculaires associés aux pathogènes).

**NK**: Natural killer (cellule tueuse naturelle).

**PRR** : Pattern Recognition Receptors (*récepteurs de reconnaissance de motifs*)

**AIS** : Anti-inflammatoire stéroïdien

**AINS** : *Anti*-inflammatoire non stéroïdien

**AIV** : *Anti*-inflammatoire végétale

**COX** : cyclo oxygenase

**LOX** : lipo oxygenase

**PAF** : Facteur d'activation plaquettaire

**NO** : oxyde nitrique

**PPAR**: peroxisome proliferator-activated receptors. (récepteurs actives par les proliférateurs de peroxysomes).

**NOS**: oxyde nitrique synthase.

**NAG-1**: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug-Activated Gene-1. (Gène 1 activé par les anti-inflammatoires non stéroïdiens).

**PST**: poly phénols total

**FLA:** flavonoïde

**TC:** tannin condensé

**TH:** tannin hydrolysable

**MO:** *Moringa oleifera*

**EGG:** ovalbumine

**Kg:** kilogramme

**g :** gramme

**Mg:** Milligramme

**Ug:** microgramme

**MI :** millilitre

**Ul:** micro litre

# Introduction

Le *Moringa oleifera* (Lam.) est un arbre très populaire à usages multiples, d'une importance financière considérable et aux vertus diététiques (**Padayachee et Baijnath, 2020**). C'est un arbre connu pour sa poussé rapide et sa résistance aux conditions de sécheresse et aux environnements difficiles. Elle pousse dans une variété de sols différents, des sols semi secs, désertiques ou tropicaux, ainsi que dans des endroits à précipitations variables. La plante peut supporter une large gamme de pH allant de 5 à 9 (**Yadava, 1996 ; Olson et Fahey, 2011**). On retrouve *M. Oleifera* dans les régions occidentales et sub-himalayennes du nord-ouest de l'Inde, du Pakistan et de l'Afghanistan. L'Afrique y compris dans le sud Algérien (**Pereira et al., 2015**), l'Asie du Sud-Est, l'Arabie, l'Amérique du Sud et les îles des Caraïbes et le nord-est semi-aride du Brésil sont également de régions où cette variété est fréquemment cultivée (**Thiago et al., 2019**).

Considéré comme un "aliment naturel des tropiques" *M. oleifera* est une denrée alimentaire traditionnellement importante. Les feuilles, les fleurs, les fruits et les racines sont considérées localement comme des légumes (**Qaiser, 1973 ; Siddhuraju et al., 2003**). Les Indonésiens consomment les feuilles et les gousses de cet arbre, et décrivent son goût comme étant similaire à celui de l'asperge (**Fletcher, 1998**). Il possède également des attributs médicinaux importants ; il est utilisé dans le traitement de l'ascite, des rhumatismes, des morsures venimeuses et comme stimulant cardiaque et circulatoire (**Dahot, 1988**).

De nombreux rapports récents sur la prévention des maladies par *M. oleifera* ont été publiés. D'après (**Mbikay, 2012**), l'extrait de feuille est capable de réduire l'hyperglycémie et la dyslipidémie. De nombreuses vertus thérapeutiques sont également attribuées aux feuilles de *M. oleifera*. Des études effectuées sur l'utilisation des feuilles ont montré leurs propriétés anticancéreuse (**Guevara et al., 1999 ; Anwar et al., 2007 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017**), hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II (**McCarty, 2000**), anti-inflammatoire, antalgique (**Adebayo et al., 2019 ; Cui et al., 2019**), antispasmodiques, antiulcéreuses, hépato-protectrices (**Chaudhary et Chaurasia, 2017**) et antimicrobiennes (**Anwar et al., 2007 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017**). Elles peuvent être aussi employées pour amplifier le sang pendant l'anémie hémolytique (**Ezekwe et Ugwu, 2013**).

Les feuilles de *M. oleifera* sont très riches en protéines et en acides aminés (**Anzano et al., 2021**). Elles contiennent des concentrations élevées de calcium, de fer, de potassium, de phosphore, de cuivre, de vitamines A, B et C, de riboflavine, d' $\alpha$ -tocophérol, d'acide folique, d'acide nicotinique, de pyridoxine, de  $\beta$ -carotène, de protéines, d'acide ascorbique, de substances oestrogéniques, de  $\beta$ -sitostérol et de certains acides aminés vitaux tels que le tryptophane, la méthionine, la cystéine et la lysine présents dans les feuilles de Moringa (**Anwar et al., 2005 ; Chaudhary et Chaurasia, 2007**). Elles agissent comme une bonne source d'antioxydants naturels et sont riches en substances phytochimiques telles que les flavonoïdes, les phénols, les tanins, les stéroïdes, les tri-terpénoïdes, les saponines, les anthraquinones, les alcaloïdes, la niazimycine, la moringine et les sucres réducteurs (**Anwar et al., 2005 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017 ; Omotoso et al., 2017**). Elles possèdent un potentiel antioxydant plus fort que les antioxydants synthétiques comme la rutine et l'hydroxytoluène butylé (**Saleem et al., 2020**).

L'objectif de la présente étude était d'évaluer le pouvoir antioxydant de la poudre de feuilles de *M. Oleifera*, ainsi que son activité anti-inflammatoire et antidiabétique à travers de tests *in-vitro* d'une part. D'autre part, d'analyser sa toxicité sur des souris à travers un test *in-vivo* de toxicité aigüe par voie orale.

La présente étude est structurée en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une revue bibliographique divisée en deux parties : la première enveloppe des généralités sur *M. Oleifera* et la deuxième partie traite de l'inflammation et de l'activité anti-inflammatoire.
- Le deuxième chapitre est une description détaillée du matériel et des différentes méthodes utilisées au laboratoire.
- L'ensemble des résultats obtenus, suivis de leurs discussions respectives, est rapporté dans le dernier chapitre ou le troisième chapitre.
- Enfin, une conclusion générale et des perspectives sont présentées.

# Revue Bibliographique

## 1. Généralités sur *Moringa oleifera*

### 1.1. Caractéristiques botaniques

Le *Moringa* est un arbre pérenne, pouvant atteindre 10 ou 12 m de hauteur (Figure 1). Son tronc mesure de 1,5 à 2 m de haut avant de se ramifier. Les feuilles, alternes et bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Les fleurs sont de couleur blanche avec des points jaunes à la base. Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. Les fruits forment des gousses allongées à trois lobes, de 20 à 60 cm de long et qui contiennent chacune entre 12 et 35 graines brunes sphériques à maturité (Chaudhary et Chausaria, 2017 ; Gandji et al., 2018).



**Figure 1.** Photo de l'arbre de *Moringa oleifera* (Lam).

<https://www.istockphoto.com/photo/moringa-pods-on-the-tree-moringa-oleifera-pod-suhanjna-phalee-gousses-moringa-vainas-gm1483470190-510051079>

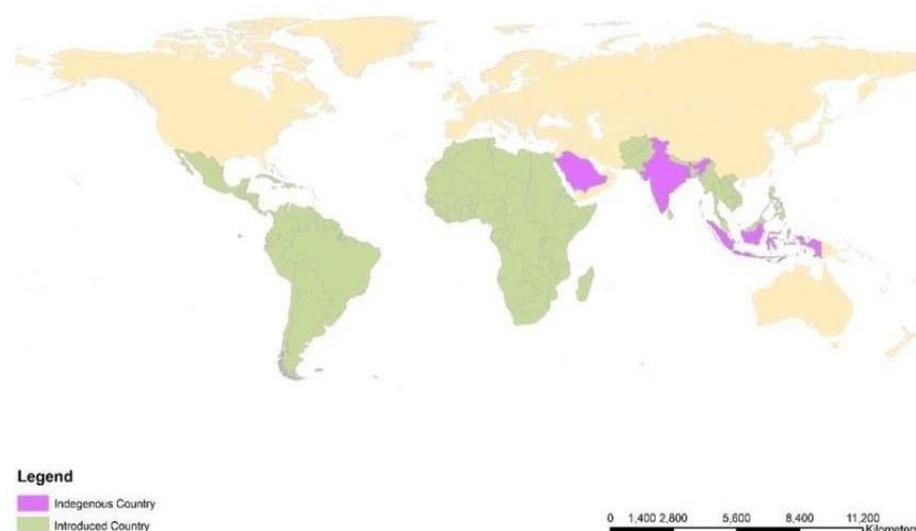
## 1.2. Taxonomie

*Moringa oleifera* (Lam) appartient au règne végétal, à l'embranchement des phanérogames, au sous-embranchement des angiospermes, à la famille des Moringaceae, à l'ordre des Capparales et à la classe des Magnoliopsida (Olson, 2002). Cette famille comprend un seul genre : *Moringa* et une dizaine d'espèces, parmi lesquelles *Moringa oleifera* (Lam) largement connu comme une plante à usage multiple.

## 1.3. Origine et distribution

*Moringa oleifera* est un arbre tropical, parfois appelé l'arbre de la vie ou l'arbre miraculeux (Mahato et al., 2022 ; Pareek et al., 2023). C'est une espèce originaire des contreforts de l'Himalaya en Asie du Sud (Figure 2), du nord-est du Pakistan, au nord de l'État du Bengale occidental, en Inde et au nord-est du Bangladesh (Gandji et al., 2018).

Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20<sup>e</sup> siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes (Foidl et al., 2001). Elle peut être cultivée dans des zones arides, semi-arides et chaudes, dans des températures comprises entre 25 et 35 °C, mais peut tolérer temporairement jusqu'à 48 °C ainsi que de faibles conditions de givre dans les zones subtropicales ce qui lui permet d'être cultivé dans plusieurs régions dans le monde entier y compris dans le sud algérien (Pereira et al., 2015).



**Figure 2.** Carte de distribution spatiale de *M. oleifera* (Pareek et al., 2023).

#### 1.4. Composition chimique des feuilles

Les feuilles de *M. oleifera* sont très riches en protéines et en acides aminés (Anzano et al., 2021). Des concentrations élevées de calcium, de fer, de potassium, de phosphore, de cuivre, de vitamines A, B et C, de riboflavine (Figure 3), d' $\alpha$ -tocophérol, d'acide folique, d'acide nicotinique, de pyridoxine, de  $\beta$ -carotène, de protéines, d'acide ascorbique, de substances oestrogéniques, de  $\beta$ -sitostérol et de certains acides aminés vitaux tels que le tryptophane, la méthionine, la cystéine et la lysine présents dans les feuilles de Moringa (Anwar et al., 2005 ; Chaudhary et Chaurasia, 2007).

Elles agissent comme une bonne source d'antioxydants naturels et riches en substances phytochimiques, les feuilles comprennent les flavonoïdes, les phénols, les tanins, les stéroïdes, les tri-terpénoïdes, les saponines, les anthraquinones, les alcaloïdes, la niazimycine, la moringine et les sucres réducteurs (Anwar et al., 2005 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017 ; Omotoso et al., 2017). La plupart des flavonoïdes présents dans les feuilles sont des flavanols et en forme glycosylés. Les plus identifiées de ces molécules sont la rutine, la quercétine, la rhamnétine, le kaempférol et l'apigénine (Wang et al., 2017).



Figure 3. Les caractéristiques nutritionnelles des feuilles de *M. oleifera* (Su et Chen, 2020).

### 1.5. Utilisations des feuilles de Moringa

*Moringa oleifera* est une plante utilisée presque dans le monde entier dans plusieurs domaines (Figure 4) tels que la santé, la nutrition, le cosmétique et l'agriculture (Anwar et al., 2007). Les feuilles sont un légume de bonne qualité nutritionnelle, elles sont ajoutées aux préparations alimentaires, consommées en salade, en soupe de légumes pour la nutrition humaine (Foidl et al., 2001) et comme fourrage pour l'alimentation animale (Nouman et al., 2014).

En médecine traditionnelle, les feuilles sont largement utilisées pour lutter contre la malnutrition chez les enfants, les femmes enceintes et les mères allaitantes (Anwar et al., 2007). Elles sont utilisées pour traiter des affections telles que le paludisme, la fièvre typhoïde, les maladies parasitaires, l'arthrite, les gonflements, les coupures, les maladies de la peau, les affections génito-urinaires, l'hypertension et le diabète (Leone et al., 2015). Elles sont également utilisées pour stimuler le système immunitaire (Anwar et al., 2007), le système cardiaque et comme contraceptif (Leone et al., 2015).

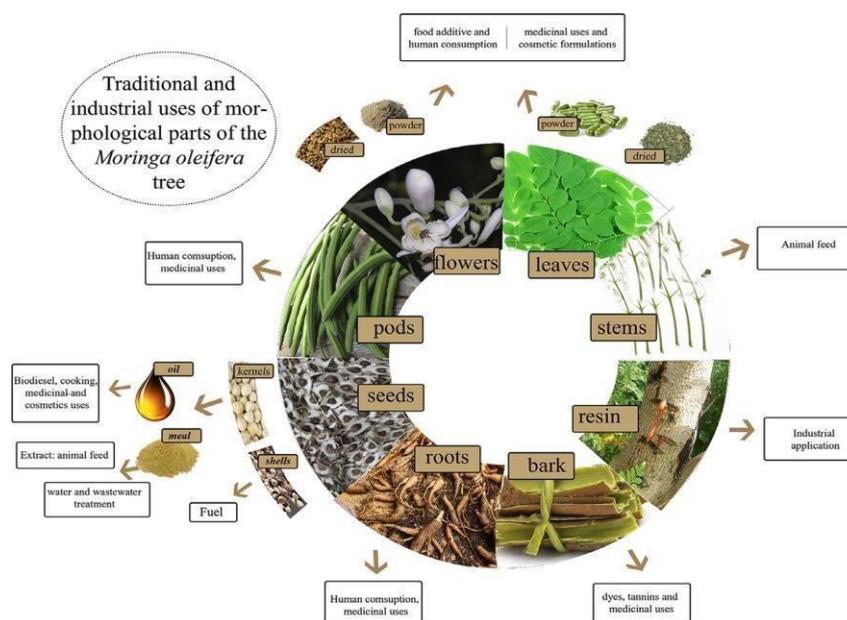


Figure 4. Les vertus thérapeutiques de *M. oleifera* (Granello et al., 2021).

## 1.6. Propriétés pharmaceutiques

De nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées aux feuilles de *M. oleifera* (Figure 5). Des études effectuées sur l'utilisation des feuilles ont montré leurs propriétés anticancéreuse (Guevara et al., 1999 ; Anwar et al., 2007 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017), hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II (McCarty, 2000), anti-inflammatoire, antalgique (Adebayo et al., 2019 ; Cui et al., 2019), antispasmodiques, antiulcéreuses, hépato-protectrices (Chaudhary et Chaurasia, 2017) et antimicrobiennes (Anwar et al., 2007 ; Chaudhary et Chaurasia, 2017). Les feuilles de *M. oleifera* peuvent être aussi employées pour amplifier le sang pendant l'anémie hémolytique (Ezekwe et Ugwu, 2013).

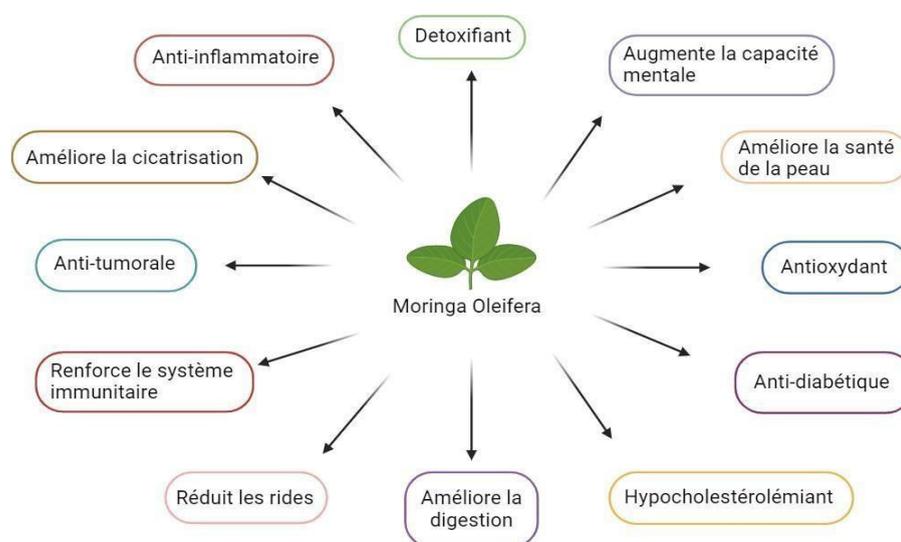


Figure 5. Utilisations médicinales des feuilles de *M. oleifera* (Mohlala et al., 2023).

## 2. Inflammation et activité anti-inflammatoire

### 2.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est un processus de défense naturel de l'organisme contre un agent agresseur et de réparation tissulaire, indispensable et qui détient un rôle vital dans le maintien de la santé de l'organisme (Nathan et Ding, 2010). Elle est généralement définie par quatre mots latins : calor (chaleur), dolor (douleur), rubor (rougeur) et tumor (tumeur). Ces symptômes sont liés aux effets des différents agents agresseurs présents sur le site de l'infection (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). L'inflammation est une réponse adaptative déclenchée par des stimuli nocifs tels que les agents pathogènes, les lésions tissulaires et les composés toxiques (Nathan et Ding, 2010 ; Chen et al., 2017). Cette réponse est orchestrée par de nombreux médiateurs qui interagissent dans un réseau de régulation complexe, afin de restaurer complètement la santé

et de rétablir l'homéostasie (**Medzhitov, 2008 ; Fioranelli et al., 2021**).

## **2.2. Etiologie de l'inflammation**

Selon (**Chen et al., 2017**), les stimulus responsables de l'initiation de la réaction inflammatoire peuvent présenter une grande diversité. Les facteurs infectieux incluent les bactéries, les virus et d'autres micro-organismes. Parmi les facteurs non infectieux, on retrouve les sources physiques telles que les brûlures, les gelures, les blessures, les corps étrangers, les traumatismes et les radiations ionisantes.

- Les substances chimiques comme le glucose, les acides gras, les toxines, l'alcool et les irritants chimiques tels que le fluorure, le nickel et d'autres éléments traces.
- Les éléments biologiques provenant de cellules endommagées.
- Les facteurs psychologiques tels que le stress ou l'excitation.

Indépendamment de la nature du stimulus, les manifestations de la réponse inflammatoire restent constantes. Cependant, c'est l'intensité et la durée de ces manifestations qui varient, influençant ainsi les effets bénéfiques ou néfastes de la réaction inflammatoire (**Weill et al., 2003**).

## **2.3. Type d'inflammation**

Les facteurs peuvent induire des réponses inflammatoires aiguës et/ou chroniques.

### **2.3.1. L'inflammation aiguë**

L'inflammation aiguë, une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), est un processus bénéfique qui contribue à immobiliser la zone atteinte, permettant ainsi l'activation et la mobilisation du reste du système immunitaire pour guérir les lésions (**Aghasafari et al., 2019**). Elle commence rapidement (en quelques minutes) et persiste seulement, pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte (**Lin et Karin, 2007**). Cette réaction peut entraîner une altération fonctionnelle de la région atteinte, dont l'importance varie en fonction de la gravité de l'agression. Ce processus peut être divisé en trois grandes phases (**Weill et al., 2003**) :

- a. Phase vasculaire** : Elle se déclenche immédiatement, en l'espace de quelques minutes, et se caractérise par des modifications de la microcirculation locale.
- b. Phase cellulaire** : elle résulte de la mobilisation de nombreuses cellules. Cette mobilisation cellulaire permet l'élimination des micro-organismes pathogènes et des tissus endommagés.
- c. Phase de résolution et de cicatrisation** : en l'espace de quelques jours, cette phase aboutit à la restauration des tissus.

### 2.3.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est définie comme étant une réponse inflammatoire prolongée et irréversible, résultant d'une perturbation de l'équilibre entre le recrutement, la prolifération, la migration et la mortalité des cellules essentielles pour l'homéostasie tissulaire (homéostasie tissulaire : la capacité des tissus à maintenir leur stabilité et leur fonction en régulant la croissance cellulaire). Elle marque ainsi un défaut de l'inflammation aiguë et devient un problème plutôt qu'une solution aux blessures, induisant plusieurs pathologies (**Noack et Kolopp-Sarda, 2018**) et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, comme la polyarthrite rhumatoïde, les inflammations du tube digestif, le diabète, l'asthme, les allergies et le cancer (**Lin et Karin,**

**2007 ; Viladomiu et al., 2016**). L'inflammation et ses pathologies associées constituent de plus en plus un problème majeur de santé tant par la majorité de personnes qui en souffrent mais aussi par les différentes formes sous lesquelles ces dernières se manifestent.

### 2.4. Médiateur de l'inflammation

Les médiateurs de l'inflammation sont regroupés dans le tableau I :

**Tableau I : Les médiateurs de l'inflammation (Henrotin et al., 2001).**

Type de médiateur	Origine et rôle
Substance P	Neuropeptide issu de la stimulation des fibres afférentes de la nociception, il est impliqué dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la stimulation de la production de prostaglandines par les macrophages.
Le platelet activating factor (PAF)	Résulte de l'action successive de deux enzymes, la phospholipase A2 et l'acetyl-transferase. La production de PAF stimule l'agrégation plaquettaire et augmente la perméabilité vasculaire et active les leucocytes.
Histamine	Libérée suite à l'activation des mastocytes par la reconnaissance de DAMP ou de PAMP, cette dernière augmente la perméabilité vasculaire et agit au niveau du système nerveux et provoque la sensation de douleur.
Les cytokines pro-inflammatoires	Secrétées par les cellules immunitaires suite à une réponse à un stimulus, elles facilitent la communication entre les cellules immunitaires et orientent la réponse en fonction de la nature du signal détecté, on retrouve : TNF alpha, IL-1, IL-6 et les chimiokines.

## 2.5. Mécanisme de l'inflammation

Deux types de cellules immunitaires interviennent lors du processus inflammatoire (Mayol, 2024) :

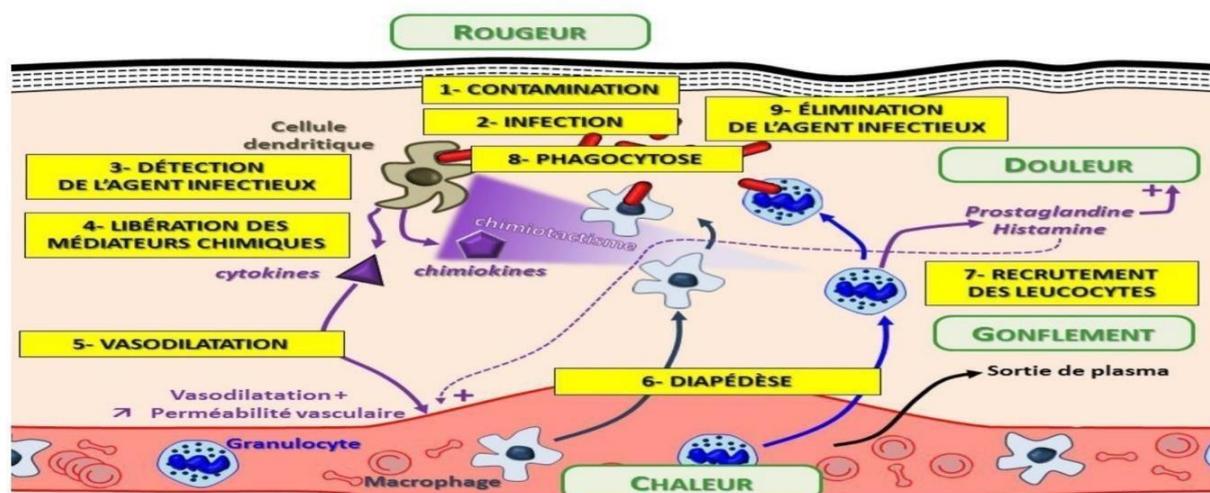
- Les cellules immunitaires résidentes des tissus : les mastocytes, les macrophages et les cellules dendritiques.
- Les cellules immunitaires circulantes dans le sang : les neutrophiles, les éosinophiles, les basophiles, les monocytes, les cellules NK et les lymphocytes T et B.

Les pathogènes sont détectés par les cellules immunitaires via leur *PRR* (récepteurs de reconnaissance des PAMP, motifs associés aux pathogènes) et par les cellules immunitaires résidentes dans les tissus qui jouent le rôle de sentinelles (Figure 5). Une fois activées, elles libèrent des médiateurs de l'inflammation dans le milieu extracellulaires. Les effets combinés de ces médiateurs permettent : le recrutement de cellules circulantes dans le sang, telles que les leucocytes, l'élimination du pathogène par phagocytose suite au recrutement des macrophages, et la réparation de la lésion.

## 2.6. Activité anti-inflammatoire

La réaction inflammatoire se manifeste par divers symptômes de gravité variable (Figure 6), décrits pour la première fois par Celsius, puis par Galien. Ces manifestations cliniques peuvent conduire le praticien à prescrire des agents anti-inflammatoires. La thérapie anti-inflammatoire a pour objectif de réguler l'excès de réponse non spécifique des tissus et de prévenir la progression de l'inflammation aiguë vers une phase chronique (Muster, 2005).

Les anti-inflammatoires sont des médicaments symptomatiques qui ne ciblent pas la cause sous-jacente de l'inflammation. Leur usage est recommandé lorsque cette dernière devient problématique. On retrouve ainsi deux classes d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les non stéroïdiens (AINS) (Boulanger, 2017).

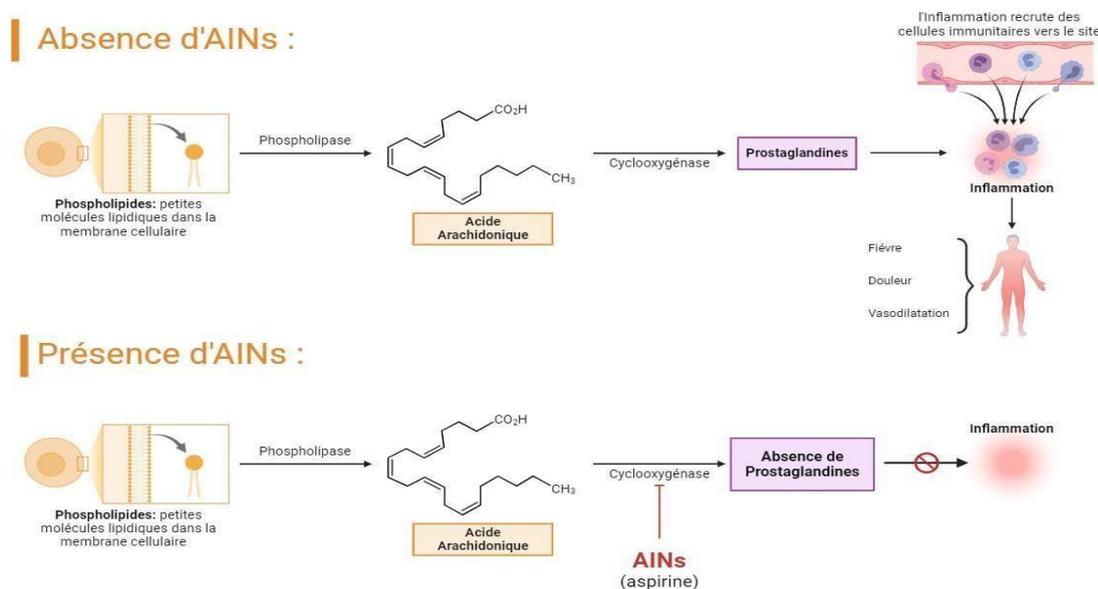


**Figure 6.** Schéma fonctionnel de la réaction immunitaire innée (réaction inflammatoire) (Ykhlef, 2020).

### 2.6.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

Les AINS constituent une classe de médicaments de structure chimique hétérogène non stéroïdienne. On distingue les AINS salicylés, dont le principe actif est l'acide acétylsalicylique, les AINS arylcarboxyliques, dont les principes actifs sont l'acide tiaprofénique, l'ibuprofène ou le kétoprofène, et les AINS anthraniliques, dont le principe actif est l'acide niflumique (Muster, 2005). Malgré leur diversité chimique, tous les AINS partagent la capacité de contrer les manifestations de la réaction inflammatoire. En outre, ils possèdent des effets antalgiques, antipyrétiques et antiagrégants plaquettaires (Pillon, 2014).

Les effets des AINS peuvent presque tous être attribués à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (Figure 7), impliquées dans la vasodilatation, la fièvre et la douleur qui caractérisent la réaction inflammatoire (Pillon, 2014). L'aspirine inhibe la COX en acétylant de manière irréversible son composant cyclo-oxygénase, tout en laissant l'activité peroxydase de l'enzyme inchangée alors que l'indométacine ou l'ibuprofène inhibent la COX de manière réversible en rivalisant avec le substrat (l'acide arachidonique) pour le site actif de l'enzyme (Vane et Botting, 2009).



**Figure 7.** Mécanisme d'action des AINS dans la production des prostaglandines et leur effet sur le processus inflammatoire réalisé avec (Vane et Botting, 1998).

### 2.6.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)

Les AIS sont des analogues structuraux du cortisol. Ils représentent une large catégorie de médicaments dérivés du principal glucocorticoïde surrénalien. Leur utilisation s'étend sur plusieurs décennies pour traiter diverses pathologies caractérisées par une inflammation (Sébastien Faure, 2009).

Des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes moléculaires par lesquels les glucocorticoïdes parviennent à supprimer l'inflammation. Ces hormones stéroïdiennes régulent l'activation et la suppression de nombreux gènes impliqués dans les réponses pro- et anti-inflammatoires, et exercent également des effets au niveau post-transcriptionnel (Barnes, 2010). Les glucocorticoïdes peuvent avoir deux effets : les effets non génomiques et les effets génomiques (Dejean et Richard, 2013).

### □ Les effets génomiques se traduisent par

- ✚ La réduction des médiateurs de l'inflammation par inhibition de la transcription des enzymes cyclo-oxygénase (COX) et lipo-oxygénase (LOX), ce qui diminue la production de prostaglandine et de leucotriène, ainsi que par la réduction de la production de PAF-ACéther (Facteur d'activation plaquettaire) en inhibant la transcription des enzymes responsables de sa synthèse.
- ✚ Ils inhibent la transcription des gènes codant pour des protéines pro-inflammatoires (trans-répression), ce qui diminue ainsi l'expression de cytokines inflammatoires.
- ✚ Ils augmentent la synthèse des protéines anti-inflammatoires (trans-activation), telles que l'annexine-1, qui inhibe la phospholipase A2.
- ✚ Les glucocorticoïdes réduisent la production de radicaux libres et d'oxyde nitrique (NO), limitant ainsi les dommages oxydatifs et l'excès de vasodilatation.

### □ Effets non génomiques comprennent plusieurs mécanismes

- ✚ La réduction de la vasodilatation des vaisseaux sanguins, qui se dilatent en réponse à une inflammation, diminue le flux sanguin vers les tissus enflammés.
- ✚ La diminution de l'œdème, qui correspond à l'accumulation de liquide dans les tissus des zones enflammées, par inhibition de la perméabilité des vaisseaux sanguins.
  - ✚ Le blocage de la migration des leucocytes (globules blancs) vers les sites d'inflammation, réduisant ainsi l'infiltration des cellules inflammatoires.

### 2.6.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Plusieurs études montrent que l'utilisation de médicaments synthétiques présente beaucoup d'effets secondaires et afin d'éviter leur utilisation, la médecine à base de plantes offre une alternative viable. Il est donc crucial de procéder à une analyse chimique de ces plantes pour identifier et quantifier leurs constituants actifs. En outre, l'évaluation de la toxicité des plantes à des fins thérapeutiques (Yunis Aguinaga *et al.*, 2014).

La phytothérapie consiste à utiliser des plantes, soit par ingestion interne, soit par application externe, sous diverses formes telles que tisanes, gélules, alcoolats, teintures et extraits, afin de traiter ou de prévenir des maladies (**Létard et al., 2015**). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols. Ces derniers ont démontré leur pouvoir anti-inflammatoire en inhibant des enzymes liées à l'inflammation, comme la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase, ainsi que d'autres cibles comme PPAR, NOS, NF-kB et NAG-1 et influencent diverses autres voies de l'inflammation (**Yoon et al., 2005**).

*Moringa oleifera* est une excellente source de phyto-nutriments, ce qui lui confère des applications à la fois nutritionnelles et médicinales. Grâce à sa combinaison de composés phénoliques elle constitue un réservoir de compléments alimentaires aux propriétés anti-inflammatoires (**Koul et Chase, 2015**).

# Matériels & Méthodes

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Origine des feuilles

Les feuilles de *M. oleifera* ont été achetées chez un herboriste au niveau de la wilaya de Bejaia.

### 1.2. Préparation des feuilles

Après réception, les feuilles sèches de *M. oleifera* ont été triées et nettoyées de toutes les impuretés telles que les débris de tiges et les feuilles jaunes. Un broyage des feuilles est pratiqué à l'aide d'un Broyeur mécanique (Wenzhou Wanhe Machinery Co. Ltd) jusqu'à obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue a été tamisée par une tamiseuse électrique (Retsch-AS200). La taille de la poudre finale obtenue est inférieure à 250  $\mu\text{m}$ . Enfin, la poudre a été conservée dans un bocal en verre hermétiquement fermé à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure 8 :** Les feuilles sèches de *Moringa oleifera* [a] et la poudre après broyage [b].

## 2. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode décrite par **Yala et al. (2016)** avec quelques modifications. 100 mg de la poudre de *M. oleifera* ont été extraites par macération dans 500 ml d'éthanol (70 %) pendant 72h sous agitation magnétique et à température ambiante. L'extrait a été filtré à travers du papier Whatman N°1. Le résidu a été repris deux fois avec le même volume du solvant pendant 24h. Le surnageant a été séché dans

une étuve aérée. L'extrait brut obtenu a été conservé dans une boîte en verre, dans un réfrigérateur à 4°C en vue d'une utilisation ultérieure.

### 3. Dosages des métabolites secondaires

#### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et al. (1999)** avec quelques modifications. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Un volume de 200 µl d'extrait à 1 mg/ml a été mélangé à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué (1:10), le mélange réactionnel a été homogénéisé puis incubé pendant 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante. Après incubation, 800 µl d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 7.5 % ont été ajoutés. Les tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 5 minutes dans un bain marie à 50°C. L'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G).

Une courbe d'étalonnage a été établie dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (0-400 µg/mL) comme contrôle positif (Annexe I). Le résultat est exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

#### 3.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) décrite par (**Lamaison et al., 1990**). La méthode repose sur la capacité des flavonoïdes à chélater des métaux et de former un complexe (AlCl<sub>3</sub>-flavonoïdes) jaunâtre.

Un volume de 1 ml d'extrait à 1 mg/ml a été ajouté au même volume de la solution de trichlorure d'aluminium (2 %). Après agitation, le mélange a été incubé pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G). Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine (0-50 µg/mL) comme contrôle positif (Annexe I).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

### 3.3 Dosage des tanins condensés

La détermination de la teneur en tannins condensés dans l'extrait a été réalisée selon la méthode décrite par **Broadhurst et Jones (1978)** avec quelques modifications.

A un volume de 250  $\mu$ L d'extrait à 1 mg/ml ont été ajoutés à 1.5 mL de la solution de vanilline (1% dans le méthanol) et à 750  $\mu$ L d'HCl concentré. Le mélange a été agité vigoureusement puis incubé pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G) contre un blanc réalisé avec le méthanol. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la catéchine (0-100  $\mu$ g/ml) comme composé de référence (Annexe I). La teneur en tannins est estimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg ECAT/g extrait).

### 3.4. Dosage des tanins hydrolysables

La teneur en tanins hydrolysables a été déterminée par la méthode décrite par **Bossu et al. (2006)** avec quelques modifications.

Un volume de 250  $\mu$ L d'extrait à 1 mg/ml a été ajouté à 1.25 mL d'une solution aqueuse de KIO<sub>3</sub> (2.5%). Le mélange réactionnel est homogénéisé puis incubé pendant 6 minutes à 30°C. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc (méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G). Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide tannique (0-50  $\mu$ g/mL) comme contrôle positif (Annexe I). Le résultat est exprimé en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g extrait).

## 4. Détermination de l'activité antioxydante *in-vitro*

L'évaluation du potentiel antioxydant des extraits de plantes peut se faire par de nombreuses méthodes qui se différencient par leurs principes et leurs conditions expérimentales. L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique (70 %) de la poudre de feuilles de *M. oleifera* a été déterminée par cinq tests antioxydants différents et complémentaires :

l'activité scavenger des radicaux DPPH et ABTS, le piégeage du radical hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ ), du monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$ ) et du  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

#### 4.1. Effet scavenger du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Le pouvoir antioxydant de l'extrait a été déterminé par la méthode utilisant le DPPH comme un radical libre habituellement stable, selon la méthode décrite par **Talbi et Boumaza (2015)**. Le dosage est basé sur la mesure du pourcentage de piégeage des radicaux libres de la solution de DPPH. Les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu.

Un volume de 500  $\mu\text{L}$  d'extrait à différentes concentrations (0-250  $\mu\text{g/ml}$ ) a été ajouté à 1 ml de la solution de DPPH (0.1 mM) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel est homogénéisé puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 517 nm contre un blanc (le méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G). L'acide ascorbique (0-10  $\mu\text{g/ml}$ ) et l'acide gallique (0-10  $\mu\text{g/ml}$ ) ont été utilisés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions que l'extrait (Annexe I). Le pourcentage d'inhibition ou de piégeage des radicaux libres DPPH a été calculé par la formule suivante :  $I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$ .

La concentration de l'antioxydant pour laquelle 50 % de DPPH sont inhibés ( $\text{IC}_{50}$ ) a été déterminée graphiquement par la régression linéaire établie entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibitions.

#### 4.2. Activité scavenging du radical ABTS

La capacité de notre extrait dans la piégeage et l'inhibition du radical ABTS a été réalisée selon la méthode décrite par **(Re et al., 1999)** avec de quelques modifications. 200  $\mu\text{l}$  d'extrait à différentes concentrations ont été ajoutés à 1 ml d'une solution éthanolique de radical ABTS (7mM). Avant utilisation, l'absorbance de cette solution a été ajustée à une valeur de  $0.70 \pm 0.02$  à 734 nm. Après incubation pendant 7 minutes à température ambiante, l'absorbance du

mélange résultant de la décoloration de l'ABTS a été mesurée à 734 nm. Le trolox (0-20µg/ml) a été utilisé comme contrôle positif (Annexe 1).

La capacité à piéger le radical  $ABTS^{+•}$  a été exprimée en pourcentage. Le pourcentage d'inhibition ou de piégeage de radicaux libres ABTS a été calculé par la formule suivante :

$$I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100.$$

La concentration de l'antioxydant pour laquelle 50% d'ABTS sont inhibés ( $IC_{50}$ ) a été déterminée graphiquement par la régression linéaire établie entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibitions.

#### 4.3. Effet scavenger du radical du monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ )

L'effet du radical  $NO^{\bullet}$  a été évalué par la méthode de Griess décrite par (Marcocci et al., 1994).

Un volume de 500 µL d'extrait à 1 mg/ml a été ajouté à 500 µl de la solution denitroprusside de sodium (NPS, 5mM) préparée dans du tampon phosphate salin (pH=7.4). Le mélange a été homogénéisé puis incubé pendant 1h30 minutes sous une lumière visible émise par une lampe de 25 watts et à température ambiante. Après incubation, 500 µL de sulfanilamide (1 %) préparé dans l'acide phosphorique (5 %) ont été ajoutés dans chaque tube. Après 10 min d'incubation à température ambiante, 500 µL du N-1-Naphtyl-éthylènediamine-dihydrochloride (0.1 %) préparé dans de l'eau distillée ont été ajoutés. Les tubes ont été incubés pendant 20 min à température ambiante. L'acide gallique (0.1 mg/ml) a été utilisé comme contrôle positif.

L'absorbance du chromophore formé (colorant azoïque violet) a été mesurée à 543 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G). L'activité de piégeage du radical

$NO^{\bullet}$  a été calculée selon l'équation suivante :  $I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100.$

#### 4.4. Effet scavenger du radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ )

L'activité scavenger du radical hydroxyle par l'extrait a été déterminée par la méthode décrite par **Rajamanikandan et al. (2011)** qui consiste en la production du radical ( $\text{OH}^\bullet$ ) à partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  par la réaction de Fenton. Les radicaux formés réagissent avec le salicylate de sodium pour générer des complexes salicylates-hydroxylés.

A 500  $\mu\text{L}$  d'extrait à 1mg/ml, 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeSO}_4$  (1,5 mM), 350  $\mu\text{L}$  du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 6 mM) et 150  $\mu\text{L}$  de salicylate de sodium (20 mM) ont été ajoutés. Le mélange a été homogénéisé puis incubé pendant 1 heure dans un bain-marie à 37°C. L'acide ascorbique (0.1 mg/ml) et l'acide gallique (0.1 mg/ml) ont été utilisés comme contrôles positifs.

L'absorbance du complexe salicylate-hydroxylé formé a été mesurée à 562 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G) contre un blanc. Le pourcentage d'inhibition de

l'oxydation du radical  $\text{OH}^\bullet$  a été calculé par la formule suivante :  $I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$ .

#### 4.5. L'effet scavenger du peroxyde d'oxygène $\text{H}_2\text{O}_2$

L'activité du piégeage du  $\text{H}_2\text{O}_2$  a été déterminée par la méthode décrite par **Mukhopadhyay et al. (2016)** avec quelques modifications. Dans ce système, le radical hydroxyle est généré par la réaction de Fenton. Ce radical oxyde le  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  et seul le  $\text{Fe}^{2+}$  pourrait se combiner au 1,10-phenanthroline pour donner un complexe coloré en rouge (1,10phenanthroline- $\text{Fe}^{2+}$ ). La décoloration des solutions réactionnelles reflète la concentration de radical hydroxyle formé.

A un volume de 750  $\mu\text{L}$  d'extrait à 1mg/ml, 125  $\mu\text{L}$  de la solution de  $\text{FeSO}_4$  (1mM) préparée dans l'eau distillée et 32  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (5 mM) ont été ajoutés. Le mélange a été homogénéisé puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Après incubation, 750  $\mu\text{L}$  de la solution de 1,10-phénantroline (1 mM) ont été ajoutés. L'acide ascorbique (0.05, 0.1 et 1 mg/ml) a été utilisé comme contrôle positif. Les tubes ont été incubés pendant 10 minutes à la température ambiante et l'absorbance a été mesuré à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G).

La capacité de piégeage de  $H_2O_2$  est déterminée par la formule suivante :  $I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$ .

#### 4.6. Dosage de la vitamine C

Nous avons opté, dans le cadre de ce travail, pour le dosage de la vitamine C par le 2,6-dichlorophénol-indophénol (DCPIP) selon la méthode décrite par **(Klein et Perry, 1982)** avec quelques modifications.

Le dosage est basé sur l'oxydation de la vitamine C par une solution de (DCPIP), qui est réduit en consommant deux électrons en un dérivé incolore, en milieu acide. Un volume de 100  $\mu\text{l}$  d'extrait préparé à partir d'une dissolution de 2g de ce dernier dans 10 ml d'acide oxalique à 3 % a été ajouté à 1 ml d'une solution aqueuse de DCPIP (143  $\mu\text{M}$ ).

L'absorbance a été mesurée à 515 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G) et la teneur en vitamine C a été déterminée par la formule suivante:  $\% \text{ Vit C} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$ .

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide ascorbique (0 à 0.132  $\mu\text{g/mL}$ ) comme contrôle positif. Le résultat est exprimé en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait).

### 5. Détermination de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

#### 5.1. Activité anti-dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été menée selon la méthode décrite par **Kandikattu et al. (2013)** avec quelques modifications.

A 50  $\mu\text{l}$  d'extrait, 1.95 ml de la solution de BSA ou de l'ovalbumine à 0.5 % préparé dans le Tris HCl (pH 6.8) ont été ajoutés. Après homogénéisation, les tubes ont été incubés dans un bain marie à 37°C pendant 20 minutes puis déplacés dans un deuxième bain marie à 72°C pendant 10 minutes. Le Diclofénac de sodium a été utilisé comme standard dans les mêmes conditions que les extraits. Le contrôle positif contient 1.25 ml de BSA ou d'ovalbumine

(EGG) et 50  $\mu$ l de tampon Tris. Après refroidissement à la température ambiante, la turbidité a été mesurée à 660 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'inhibition de la dénaturation de la BSA ou de l'ovalbumine est déterminée par la formule suivante :  $I \% = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Contrôle}}] \times 100$ .

## 5.2. Inhibition de l'activité de l'alpha-amylase

L'estimation de l'inhibition de l'alpha amylase a été réalisée selon la méthode décrite par **Hawash et al. (2021)** avec quelques modifications. 200  $\mu$ l d'extrait de trois concentrations différentes (1, 3 et 5 mg/ml) ont été ajoutés au même volume d'amidon à 1 % (préparée dans le tampon phosphate salin à un pH de 6,9) et d'alpha-amylase. Après homogénéisation et incubation pendant 10 minutes à température ambiante, 400  $\mu$ l d'une solution de DNS (préparé à partir d'un mélange contenant 1g de DNS, 20 ml d'une solution de NaOH (2M) et 30g de tartrate de sodium et de potassium tétra-hydraté.

Après homogénéisation, les tubes ont été incubés dans un bain marie à 100°C pendant 5 minutes. Après refroidissement, 800  $\mu$ l d'eau distillée ont été additionnés à 200  $\mu$ l du mélange précédent. L'absorbance a été mesurée à 540 nm contre un blanc (préparé sans l'ajout de l'enzyme) à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-7220G). Afin d'évaluer l'efficacité de notre extrait, l'acarbose (25 mg/ml) a été utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions que l'extrait. L'activité inhibitrice de l'enzyme a été exprimée en % d'inhibition suivant la formule suivante :  $\alpha$  amylase inhibition (%) =  $[(A_{\text{Blanc}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{Blanc}}] \times 100$ .

## 6. Test de toxicité *in-vivo*

L'expérimentation a été réalisée sur 26 souris femelles (Swiss albinos) fournies par le Centre d'élevage de l'Institut Pasteur de Kouba (Alger). Les souris étaient âgées d'au moins 6 semaines, sans signe de malformation physique et pesant entre 20 et 27g. Elles ont été réparties au hasard et par la suite marquées, puis réparties en 5 lots de 5 animaux chacun en fonction de leur poids. Les souris ont été placées en période d'acclimatation pendant 7 jours dans le laboratoire d'expérimentation animale. L'animalerie est équipée d'un système de ventilation assurant la circulation de l'air, ainsi que d'un radiateur électrique maintenant une température d'environ 25°C, avec un cycle lumière/obscurité de 12 heures. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois tous les deux jours. Les souris ont été privées de nourriture pendant 24 heures avant l'administration de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* par gavage.



**Figure 9.** Photo du gavage par voie orale des souris par l'extrait de feuilles de *M. oleifera*.

### 6.1. Toxicité aiguë par voie orale

L'extrait de feuilles de *M. oleifera* a été dissouts dans de l'eau distillée. Il a ensuite été administré aux animaux par gavage à la dose unique de 5, 50, 300, 2000 et 5000 mg/kg de poids corporel, avec un lot témoin (gavage à l'eau distillée) et quatre lots expérimentaux, conformément aux directives pour le test des produits chimiques de l'OCDE (OECD/OCDE, 2022).

- | Le lot contrôle négatif (03 souris) : 1 dose d'eau distillée.
- | Le lot N°1 (3 souris) : 1 dose de 5 mg/kg de poids corporel.
- | Le lot N°2 (5 souris) : 1 dose de 50 mg/kg de poids corporel.
- | Le lot N°3 (5 souris) : 1 dose de 300 mg/kg de poids corporel.
- | Le lot N°4 (5 souris) : 1 dose de 2000 mg/kg de poids corporel.
- | Le lot N°5 (5 souris) : 1 dose de 5000 mg/kg de poids corporel.

### 6.2. Suivi quotidien après le gavage

Après administration de l'extrait, les observations comportementales ont été effectuées dans les deux premières heures suivant le gavage. Les souris ont été suivies quotidiennement pendant 14 jours pour évaluer la toxicité physique, on observant les modifications de la couleur de la peau, l'aspect des poils, la couleur des yeux, les tremblements, les convulsions, la salivation, la diarrhée, la léthargie, la sensibilité au son, le sommeil et le décès.

Le poids et la température corporelle ont été notés le jour de l'administration de l'extrait, puis quotidiennement sur une période de 14 jours. Le poids de la nourriture et le volume d'eau

ont également été mesurés et renouvelés quotidiennement à des doses déterminées, afin d'analyser la fréquence de leur consommation.

### **6.3. Sacrifice, prélèvement et dissection**

Au 15<sup>e</sup> jour, les souris ont été sacrifiées par euthanasie au formol. Après la dissection, le sang de chaque animale a été collecté et transféré dans des tubes héparinés. Ces tubes ont été bouchés et laissés au repos, puis centrifugés à 3000 trs/min pendant 5 minutes. Le surnageant (sérum) a été recueilli dans des tubes Eppendorf étiquetés et conservés à 4°C pour les analyses biochimiques. Une dissection a été réalisée sur les souris après le sacrifice afin de mener une étude macroscopique du foie.

### **6.4. Analyse du sang**

Les analyses sanguines ont été effectuées au laboratoire d'analyse médicale de la Mutuelle Général des Transports de Bejaia. Afin d'étudier le potentiel de toxicité de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*, des examens biochimiques et hématologiques du sang ont été réalisés.

#### **6.4.1. Analyse hématologique**

Une numérotation-formule sanguine (NFS), également appelée (hémogramme), a été réalisée. Ce test mesure les composants cellulaires du sang, fournissant ainsi des informations sur le nombre et la taille des différents types de cellules sanguines.

Les principaux paramètres mesurés sont le taux de globules rouges, de globules blancs et d'hémoglobine. Les tubes héparinés contenant le sang à analyser ont été étiquetés et mélangés doucement pour éviter la coagulation. Les échantillons sanguins ont été placés dans un analyseur hématologique automatisé de type Mindray BC 5380, permettant de compter et de mesurer les différents types de cellules sanguines.

#### **6.4.2. Analyse biochimique**

Ce test mesure divers composants chimiques présents dans le plasma sanguin, notamment un bilan rénal comprenant les paramètres suivants : urée, créatinine et acide urique, ainsi qu'un bilan hépatique comprenant les paramètres suivants: bilirubine totale, transaminases sériques ASAT et ALAT, phosphatase alcaline et protéine C-réactive, ont été effectués.

L'examen biochimique a été réalisé à l'aide d'un analyseur automatisé de type Biosystems BA 200 led technology, permettant de mesurer les concentrations de divers composant chimiques dans le sérum. A cet effet, des réactifs spécifiques à chaque test ont été stockés dans des réservoirs adaptés à l'automate biochimique.

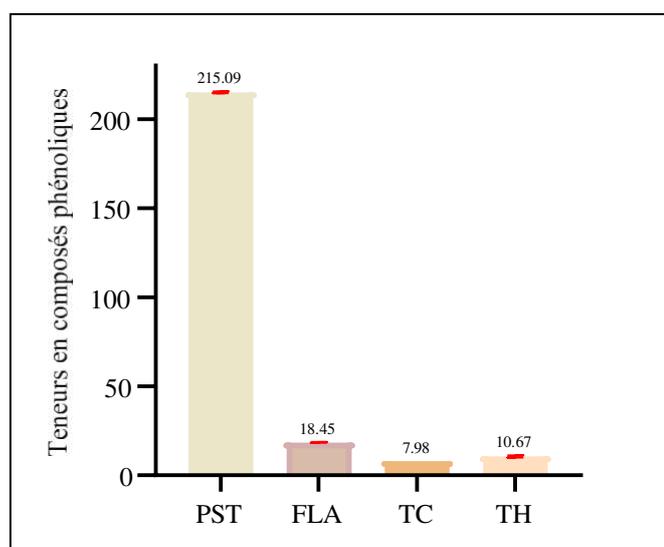
## **7. Analyses statistiques**

Pour les tests statistiques, le logiciel Graph-Pad Prism version 8.02 (San Diego, CA, USA) a été utilisé. L'analyse statistique des résultats a été effectuée par application d'une analyse de variance (ANOVA). Les différences sont considérées comme significatif si  $p$  est inférieur à 0.05.

# Résultats & Discussions

## 1. Teneurs en composés phénoliques

Dans cette étude, nous avons évalué la teneur en polyphénols totaux (PST), en flavonoïdes (FLA), en tanins condensés (TC) et en tanins hydrolysables (TH) de l'extrait éthanolique (70/30, v/v) des feuilles de *M. oleifera*. Les résultats obtenus (Figure 10) mettent en évidence les composés les plus abondants et ceux présents en faible quantité. Les résultats du dosage des polyphénols totaux (PST) des feuilles de *M. oleifera* sont exprimés en mg EAG/g d'extrait. L'estimation quantitative des polyphénols totaux montre que l'extrait est plus riche en polyphénols ( $215.09 \pm 0.6$  mg EAG/g d'extrait). Les résultats du dosage des flavonoïdes (FLA) sont exprimés en mg EQ/g d'extrait. Nos résultats montrent que l'extrait a une te en flavonoïdes ( $18.45 \pm 0.3$  mg EQ/ g d'extrait). Les résultats du dosage des tanins sont exprimés en mg ECAT/g d'extrait et en mg EAT/g d'extrait respectivement pour les tanins condensés (TC) et les tanins hydrolysables (TH). Les teneurs sont de  $7.98 \pm 0.0$  mg ECAT/ g d'extrait et de  $10.67 \pm 0.6$  mg EAT/ g d'extrait respectivement pour les tanins condensés et les tanins hydrolysables.



**Figure 10.** Teneurs en composés phénoliques (PST, FLA, TC et TH) de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*.

Le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins a été effectué dans cette étude, car la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués à ces substances. Plusieurs études ont confirmé la richesse des feuilles de *M. oleifera* en polyphénols. Dans notre étude, la teneur en polyphénols totaux est de  $215.09 \pm 0.6$  mg EAG/g d'extrait, le résultat est similaire à celui obtenu par **Charoensin (2014)** dans l'extrait méthanolique ( $216.45 \pm 4.64$  mg EAG/g d'extrait). Il est supérieur à ceux obtenues par **Singh et al. (2009)** dans l'extrait aqueux (105 mg GAE/g d'extrait) et par **Sultana et al. (2014)** dans les extraits méthanolique (103 mg GAE/g d'extrait) et éthanolique (97.2 mg GAE/ g d'extrait). En revanche, la teneur obtenue est légèrement inférieure à celle obtenue par **Shahzad et al. (2017)** dans l'extrait aqueux (243.8 mg EAG/g d'extrait) et par **El-Hadary et Ramadan (2018)** dans l'extrait éthanolique (380.3 mg EAG/g d'extrait).

Dans notre étude, l'extrait éthanolique (70 %) des feuilles de *M. oleifera* présente une quantité importante de flavonoïdes ( $18.45 \pm 0.30$  mg QE/g d'extrait). Ce résultat est inférieur à ceux obtenues par **Shanmugavel et al. (2018)**, où la teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux est de  $22.16 \pm 1.45$  mg QE/g d'extrait et par **Charoensin (2014)** dans l'extrait méthanolique ( $65.38 \pm 2.37$  mg QE/g d'extrait). En revanche, il est légèrement supérieur à celui obtenu par **Adisakwattana et Chanathong (2011)**, qui rapportent une teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux de 15.39 mg CATE/g d'extrait. Cette différence peut s'expliquer par l'utilisation de solvants différents. Plusieurs études ont montré que les feuilles de *M. oleifera* sont principalement riches en flavonoïdes. **Moyo et al. (2012)** ont rapporté que la teneur en flavonoïdes de l'extrait acétonique des feuilles (295,01 mg QE/g d'extrait sec) est plus élevée que celle de l'extrait aqueux (45,1 mg QE/g d'extrait). L'étude de **Sreelatha et Padma (2009)** met en évidence l'importance du stade de maturité de la plante sur la teneur en flavonoïdes des feuilles. Les feuilles matures sont plus riches ( $27 \pm 0.03$  mg QE/g d'extrait) par rapport aux jeunes feuilles ( $15 \pm 0.02$  mg QE/g d'extrait).

Les feuilles de *M. oleifera* sont connues par leur faible teneur en tanins. Les résultats montrent que l'extrait éthanol/eau des feuilles présente des teneurs faibles en tanins condensés ( $7.98 \pm 0.0$  mg ECAT/g d'extrait) et en tanins hydrolysables ( $10.67 \pm 0.6$  mg EAT/ g d'extrait). Le résultat pour les tanins condensés est légèrement supérieur à celui obtenu par **Shanmugavel et al. (2018)**, où la teneur dans l'extrait aqueux est de  $4.90 \pm 0.20$  mg ECAT/g d'extrait, et inférieur à celui obtenu par **Djemoui et al. (2019)**, où la teneur dans l'extrait méthanol/eau (70 %) est de 15.1 mg ECAT/g d'extrait.

La teneur en antioxydants varie considérablement en fonction de plusieurs facteurs. En effet, il a été démontré par plusieurs auteurs que la composition phytochimique des plantes dépend de diverses variables telles que :

- L'âge de la plante
- Le stade de maturité
- La variété
- La saison de la récolte
- La partie de la plante récoltée
- Les conditions climatiques
- Les zones phytogéographiques.

En plus de ces facteurs de variabilité, s'ajoutent l'effet de la méthode de préparation des feuilles et des techniques d'analyse des composés phénoliques, ainsi que des différences de solubilisation des composés phénoliques dans les solvants d'extraction (Nouman *et al.* 2016 ; Sanli *et al.*, 2017 ; Mwamatope *et al.*, 2020). Ces facteurs combinés peuvent expliquer les variations observées dans les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins des feuilles de *M. oleifera*.

## 2. Potentiel antioxydant

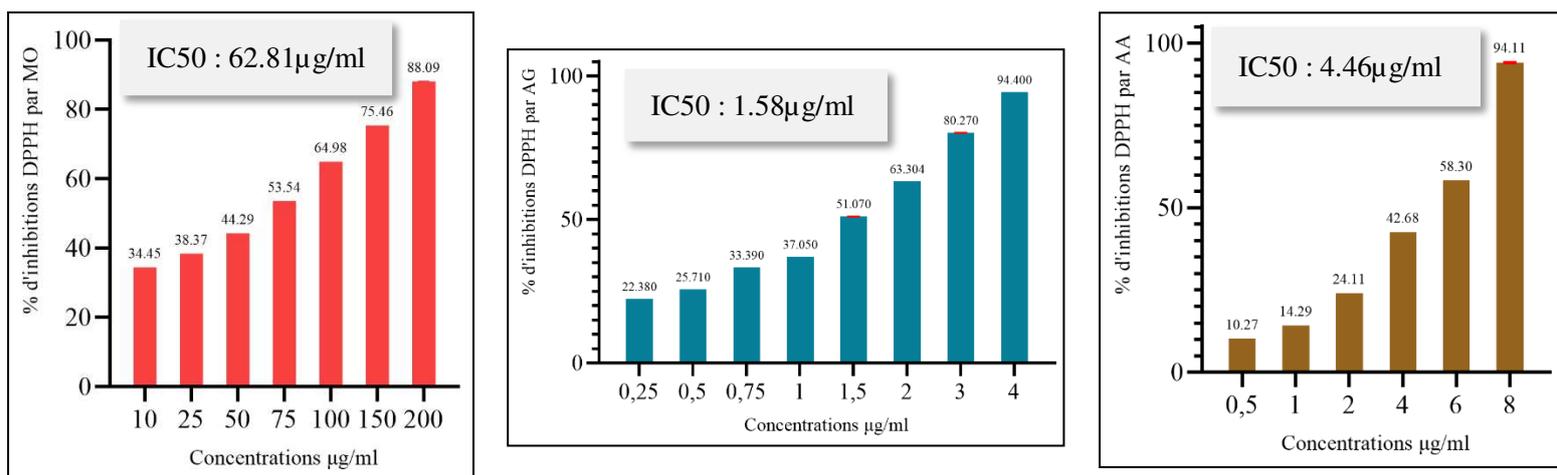
Dans cette étude nous avons évalué la capacité antioxydante de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* (MO) en utilisant plusieurs tests standardisés afin de mesurer le pourcentage de piégeage des radicaux libres. Des courbes d'étalonnage avec les antioxydants de référence ont permis de calculer précisément les pourcentages d'inhibitions.

### 2.1. Activité DPPH

Pour évaluer l'activité anti-radicalaire de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*, deux antioxydants de référence connus pour leur pouvoir anti-radicalaire ont été utilisés : l'acide gallique (AG) et l'acide ascorbique (AA). Les résultats (Figure 11), exprimés en pourcentage de piégeage des radicaux libres DPPH en fonction des concentrations de l'extrait et des antioxydants de référence, ont permis d'obtenir la concentration de l'extrait pour laquelle 50% des radicaux libres DPPH sont piégés (IC<sub>50</sub>). Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> sont de 4.47 µg/ml et de 1.58

$\mu\text{g/ml}$  respectivement pour l'acide ascorbique et l'acide gallique. Ces résultats montrent que l'acide gallique et l'acide ascorbique ont une activité antioxydante significative.

L'acide gallique a présenté la plus faible  $\text{IC}_{50}$ , donc il possède la plus forte activité anti-radicalaire par rapport à l'acide ascorbique. Cependant, l'extrait éthanolique (70 %) des feuilles de *M. oleifera*, avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $62.94 \mu\text{g/ml}$ , présente une activité antioxydante moins prononcée comparée à celles des standards utilisés.



**Figure 11.** Pourcentages de piégeage des radicaux libres DPPH par l'extrait de feuilles de *M. oleifera* (MO), par l'acide ascorbique (AA) et par l'acide gallique (AG).

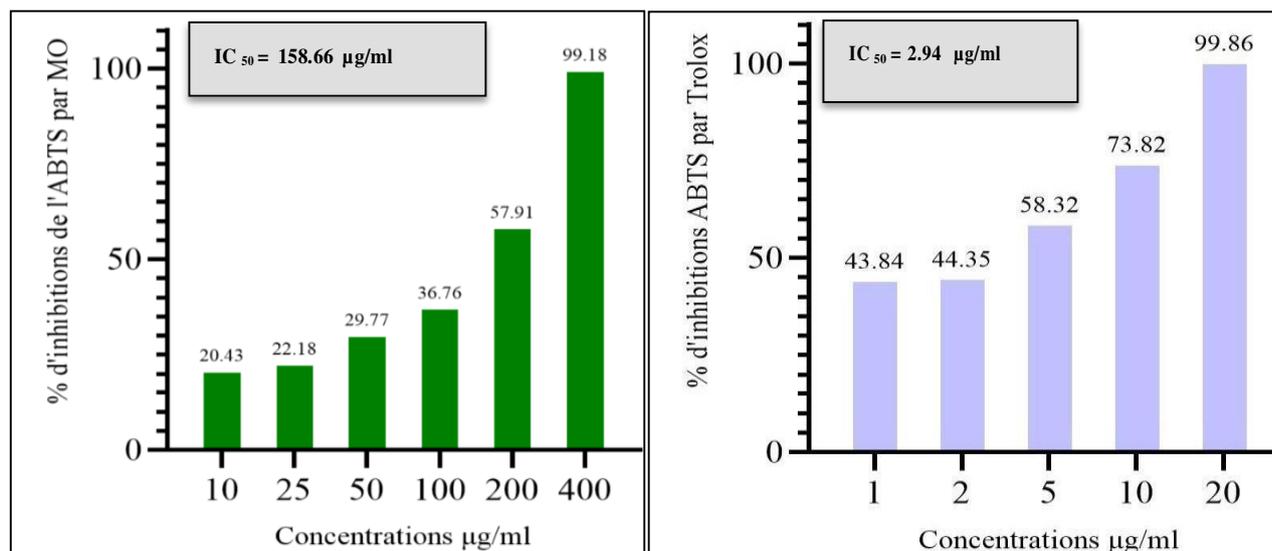
D'après les résultats, l'extrait de feuilles de *M. oleifera* a montré une capacité de piégeage du radical DPPH. Le pourcentage d'inhibition du DPPH augmente avec la concentration, atteignant 88.09 % à  $200 \mu\text{g/ml}$ , ce qui est légèrement inférieur aux résultats obtenus par les antioxydants de référence : 94.4 % à  $4 \mu\text{g/ml}$  pour l'acide gallique et 94.11 % à  $8 \mu\text{g/ml}$  pour l'acide ascorbique.

La valeur  $IC_{50}$  de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* est de 62.81  $\mu\text{g/ml}$ , inférieure à celle de l'extrait éthanolique trouvée par **Ndiaye et al. (2018)**, qui est de 87.86  $\mu\text{g/ml}$ , et par **Fachriyah et al. (2020)**, qui est de 118,615 mg/L. Selon **Molyneux (2003)**, l'extrait éthanolique de feuilles présente une activité antioxydante modérée. Cependant, la présence de méthanol et d'eau dans l'extrait améliore le pouvoir anti-radicalaire du radical DPPH<sup>\*</sup> (**Villano et al., 2006, Gulcin et al., 2023**). **Sreelatha et Padma (2009)** ont démontré que l'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera* réduisait de manière significative les radicaux DPPH. La variation pourrait être due à la différence de polarité des solvants et à la situation géographique de la plante.

Le test DPPH permet d'estimer la quantité totale d'antioxydants présents dans un extrait de plante (**Gulcin et al., 2023**). L'activité de piégeage de la DPPH a été attribuée aux composés phénoliques, à savoir les acides phénoliques et les flavonoïdes. La faible activité antioxydante de notre extrait est probablement due à sa faible teneur en flavonoïdes. Les composés phénoliques agissent comme des d'antioxydant en raison de la présence de groupes hydroxyle et de leur structure aromatique, leur permettent de neutraliser les radicaux libres (**Verhagen et al., 1996 ; Kefalas et al., 2003**), réduisant ainsi les dommages oxydatifs dans les processus biologiques (**Gulcin et al., 2011 ; Shantabi et al., 2014**). La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres dépend principalement de leur structure. Certains flavonoïdes réagissent rapidement avec le radical DPPH<sup>\*</sup> en raison de la présence de groupes hydroxyles dans leurs structures, en particulier les substitutions 3-OH (**Shariffar et al., 2009**).

## 2.2. Activité ABTS

Le test est utilisé pour mesurer la capacité de l'antioxydant à piéger le radical ABTS<sup>•+</sup> par rapport au Trolox. Les résultats (Figure 12), exprimés en pourcentages d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait et de trolox, ont permis d'obtenir la concentration de l'extrait pour laquelle 50% des radicaux libres ABTS sont piégés ( $IC_{50}$ ). La valeur de l' $IC_{50}$  du Trolox est de 2.94  $\mu\text{g/ml}$ , ce résultat montre qu'il présente une forte activité anti-radicalaire. Cependant, l'extrait éthanolique (70 %) des feuilles de *M. oleifera*, avec une  $IC_{50}$  de 158,66  $\mu\text{g/ml}$ , présente une activité anti-radicalaire modéré comparée à celle du Trolox.



**Figure 12.** Pourcentages de piégeage des radicaux libres ABTS par l'extrait de feuilles de feuilles de *M. oleifera* (MO) et par le Trolox.

D'après les résultats (Figure 12), le pourcentage d'inhibition de l'ABTS augmente avec la concentration, atteignant 99.18 % à 400 µg/ml, ce qui est légèrement inférieur au résultat obtenu pour le Trolox (99.86 % à 20 µg/ml).

La valeur  $IC_{50}$  de l'extrait éthanolique (70 %) des feuilles de *M. oleifera* est de 158.66 µg/ml, ce qui est presque identique aux résultats obtenus par **Fitriana et al. (2016)**, où la valeur  $IC_{50}$  de l'extrait de dichlorométhane était de 159.06 µg/mL. En revanche, elle diffère de celle de l'extrait de n-hexane (163.79 µg/mL), de l'extrait d'acétate d'éthyle (241.33 µg/mL) et de l'extrait méthanolique (11.73 µg/mL). Selon **Lisdawati (2006)**, si la valeur  $IC_{50}$  de l'extrait est  $\leq 100$  µg/mL, l'extrait possède des antioxydants actifs, tandis qu'une valeur  $IC_{50} \geq 200$  µg/mL indique la présence d'antioxydants inactifs. Cela nous permet de conclure que notre extrait possède une activité anti-radicalaire modérée ( $100 \mu\text{g/mL} \leq IC_{50} \leq 200 \mu\text{g/mL}$ ).

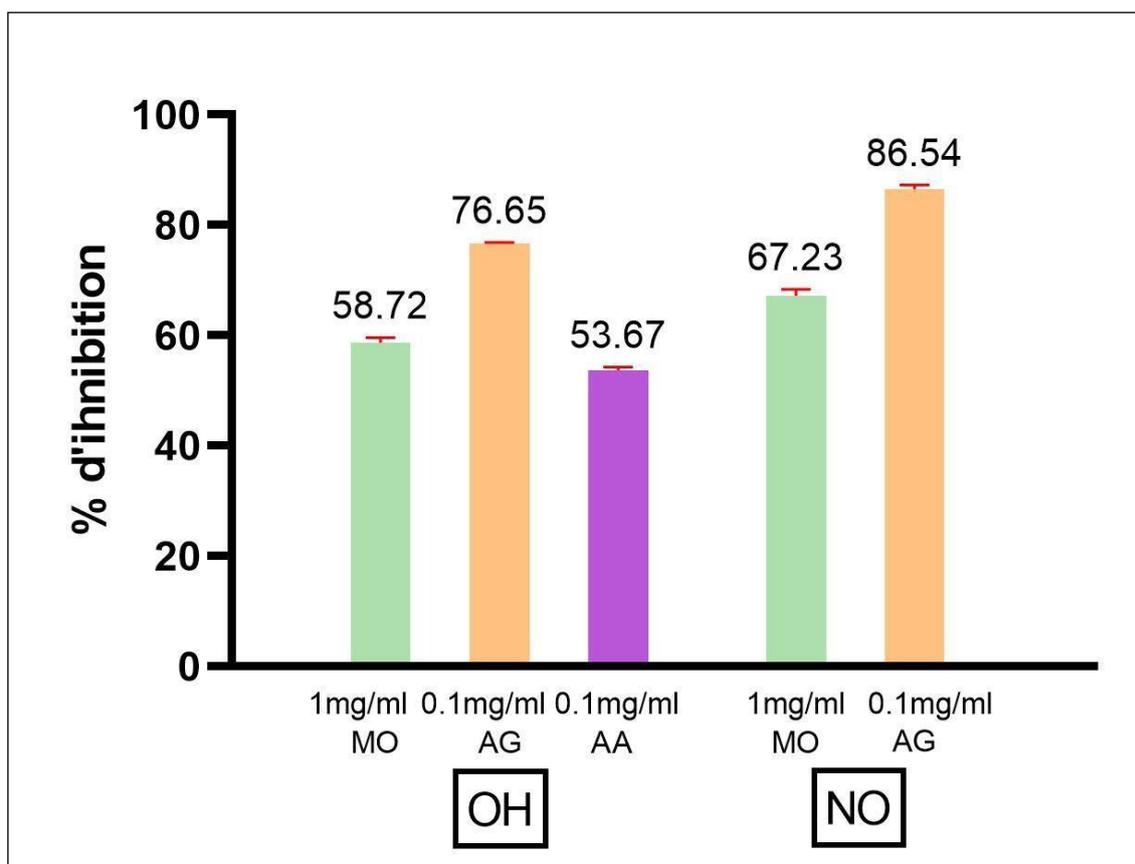
L'activité antioxydante observée dans les plantes est directement proportionnelle à la teneur en composés phénoliques, les flavonoïdes ou les tanins, peuvent être impliqués dans cette activité. La faible activité antioxydante de notre extrait pour piéger le radical ABTS est probablement dû à sa faible teneur en flavonoïdes et en tanins (tanins condensés et hydrolysables). Les tanins, en raison de leur poids moléculaire élevé et du fort hydroxylation de leurs anneaux aromatiques, possèdent un potentiel antioxydant élevé. Les effets antioxydants des tanins sont principalement attribués à la capacité de piégeage des radicaux libres, à la

chélation des métaux de transition, à l'inhibition des enzymes prooxydatives et à la peroxydation des lipides (Koleckar *et al.*, 2008).

En comparant l'activité antioxydante *in-vitro* de divers types de polyphénols, les procyanidines dimériques se révèlent être les plus efficaces pour piéger le radical ABTS. Après les procyanidines dimériques, viennent les flavanols, les flavonols, les acides hydroxycinnamiques et enfin les acides phénoliques simples (Soobrattee *et al.*, 2005).

### 2.3. Activité anti-radicalaire NO et OH

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de diagramme en bâtonnets (Figure 13), illustrant les capacités anti-oxydantes de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* pour chaque type de radical ainsi celles des composés de références, l'acide gallique et l'acide ascorbique.



**Figure 13.** Les pourcentages d'inhibition de l'oxydation des radicaux libres OH et NO par l'extrait de feuilles de *M. oleifera* et par les deux antioxydants de références (AG, AA).

### 2.3.1. Test de piégeage du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle (OH) est le plus réactif des radicaux libres, produit lors de la réaction de Haber-Weiss, où le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène réagissent ensemble. Il est capable de réagir avec de nombreuses molécules biologiques, y compris les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN, et peut entraîner des dommages cellulaires en raison de sa toxicité élevée (Cheeseman et al., 1993 ; Zhou et Li, 2009). La prévention contre ses réactions nuisibles est de grande importance pour maintenir la santé humaine (Zhou et Li, 2009).

Les résultats de l'effet inhibiteur de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* sur le radical hydroxyle montrent que l'extrait, l'acide gallique et l'acide ascorbique ont un effet scavenger remarquable sur le radical OH. A partir de l'histogramme de l'activité anti-radicalaire (Figure 13), il est clairement visible que l'acide gallique possède un pourcentage d'inhibition de l'oxydation du radical OH important, relativement supérieur à celui de l'acide ascorbique ainsi qu'à celui de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*, qui sont respectivement de 76.65%, 53.67% et 58.72%. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanol/eau des feuilles de *M. oleifera* à la concentration de 1 mg/ml sur le radical OH, qui est de 58.72%, est inférieur aux résultats de Tijani et al., (2018), obtenus sur l'extrait aqueux à 1.5mg/ml (84.73%). Cette différence est probablement due au solvant d'extraction, comme le suggèrent Suaib Luqman et Ritesh Kumar (2011), qui rapportent que l'activité de l'extrait aqueux est différente de celle de l'extrait alcoolique en raison de la présence de différents composés phytochimiques et d'une plus grande biodisponibilité dans le système de réaction.

Ceci indique que l'activité de l'extrait est influencée par le solvant d'extraction et est en accord avec les conclusions de Ojiako (2014) et Tijani et al., (2018). L'effet protecteur des extraits hydroalcooliques et aqueux des feuilles de *M. oleifera* sur l'activité de piégeage du radical OH est due à la présence de constituants phytochimiques tels que : les polyphénols, tanins, anthocyanes, glycosides et thiocarbamates, qui piègent les radicaux libres, activent les enzymes antioxydantes et inhibent les oxydases (Amin et al., 2005 ; Liu et al., 2006).

L'interaction des flavonoïdes avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène (Fabri et al., 2009).

### 2.3.2. Test de piégeage des radicaux de monoxyde d'azote

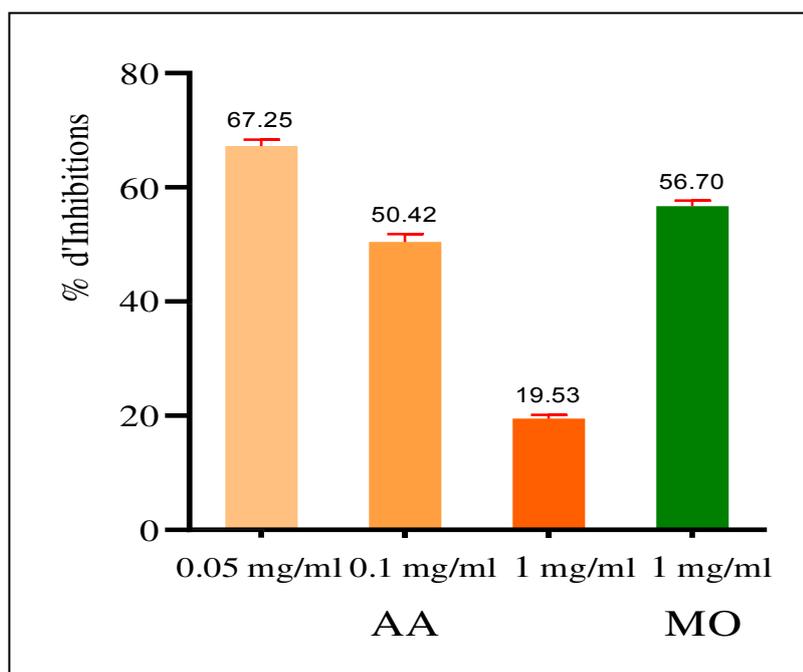
Le monoxyde d'azote (NO) est une espèce radicalaire très instable sous conditions aérobies. Il réagit avec l'O<sub>2</sub> pour produire des composés plus stables (nitrates et nitrites), grâce aux intermédiaires NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> and N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (**Kumbhare et al., 2012**). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites par les enzymes oxyde nitrique synthases (NOS) sont connues pour causer des dégâts sur les macromolécules biologiques telles que les protéines, l'ADN et les lipides membranaires lorsqu'il y a un déséquilibre entre la génération et le piégeage des radicaux libres. Différentes maladies telles que le diabète, l'artériosclérose, l'inflammation et le cancer en résultent (**Habtemariam et al., 2014 ; Habtemariam et al., 2017 ; Adeyanju et al., 2018**).

La capacité des plantes médicinales telle que *M. Oleifera* à piéger l'acide nitrique est considérée comme un avantage (**Olaoye et al., 2021**). L'histogramme (Figure 13) montre la performance de l'acide gallique, qui possède un pourcentage d'inhibition relativement supérieur à celui de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* (AG = 86.54 % ; MO = 67.23 %). Ce résultat indique que l'extrait de feuille de *M. oleifera* possède une capacité antioxydante notable, supérieure à celle de l'acide ascorbique mais inférieure à celle de l'acide gallique. Notre résultat est similaire à celui obtenu par **Kumbhare et al., (2012)**, concernant le pourcentage d'inhibition du radical NO par l'extrait méthanolique (100 µg/ml). En revanche, il est supérieur à celui rapporté par **Anigboro et al., (2019)**, où le pourcentage d'inhibition du radical NO par l'extrait aqueux (7 mg/ml) est de 64.7 %. Cette différence pourrait être justifiée par l'origine de *M. oleifera*. **Olaoye et al., (2021)** ont observés des intervalles de pourcentages allant de 60-85 % en fonction du lieu de provenance de Moringa. **Ahmed et al., (2019)**, rapportent que la répartition géographique, la saison, les facteurs lumineux, la température, les facteurs pédologiques et l'altitude influencent les métabolites secondaires du thé. Cela suggère que le type de sol exerce une influence considérable sur les composés antioxydants des plantes (**Poggi et al., 2018**). Il a également été démontré que les conditions environnementales liées au changement climatique pouvaient entraîner une augmentation ou une diminution de 50 % des métabolites secondaires du thé (**Ahmed et al., 2019**).

### 2.4. Activité anti-péroxyde d'oxygène

Le peroxyde d'hydrogène en lui-même n'est pas très réactif, mais il est parfois toxique pour la cellule parce qu'il est à l'origine des radicaux hydroxyles présents dans celles-ci. Les résultats de l'activité de piégeage du peroxyde d'oxygène par l'extrait de feuilles de *M. oleifera* et de l'acide ascorbique à différentes concentrations sont représentés dans la Figure 14. L'extrait brut

des feuilles exerce un effet de l'ordre de 56.70 %. A la concentration de 0.05 mg/mL, nous remarquons que l'acide ascorbique exerce un effet de l'ordre de 67.25 %. En revanche, à la concentration de 0.1 mg/mL et de 1 mg/mL, les taux de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par l'acide ascorbique sont de 50.42 % et 19.53 % respectivement. On remarque que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* a une capacité de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> supérieure à celle de l'acide ascorbique à 0.1 mg/mL et à 1 mg/mL.



**Figure 14.** Les pourcentages d'inhibition de l'oxydation du radical libre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par l'extrait de feuilles de *M. oleifera* et par l'acide ascorbique (AA).

Les polyphénols ont démontré une action protectrice chez les mammifères contre la cytotoxicité induite par le peroxyde d'hydrogène, notamment les composés phénoliques de type flavonoïdes, tels que la quercétine et la catéchine, ainsi que d'autres polyphénols comme les esters d'acide gallique et d'acide caféique (Kumaran et Karunakaran, 2007). D'après nos résultats, nous avons constaté que l'extrait des feuilles de *M. oleifera* a présenté une activité importante par rapport à l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique. Cela peut s'expliquer par la teneur en flavonoïdes et en polyphénols de l'extrait (18.45±0.30 mg EQ/g d'extrait et 215.09±0.6 mg EAG/g d'extrait), qui ont la capacité de donner des électrons pour favoriser la conversion du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O (Ruch et al., 1989 ; Shon et al., 2007).

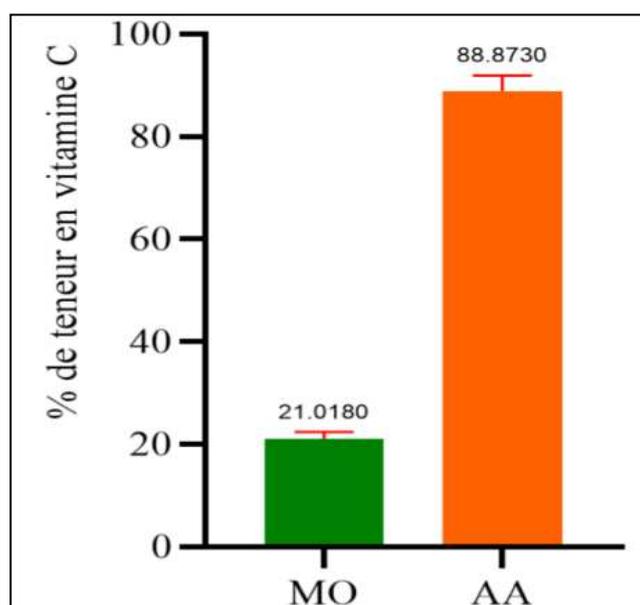
On a remarqué que la capacité de piégeage du peroxyde d'oxygène diminue avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique. A forte concentration, l'acide ascorbique a un effet pro-oxydant favorisé par la présence de fer dans le milieu réactionnel, ce qui contribue à la formation de radicaux hydroxyles (**Herbert et al., 1996 ; Chepda et al., 1999**). En présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), les métaux de transition catalysent la réaction dite de Fenton dont le résultat est la consommation rapide de l'ascorbate accompagné d'une production de radicaux hydroxyle (OH). Tout cela explique la diminution du pourcentage d'inhibition du radical libre  $H_2O_2$  lors de l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique.

## 2.5. Vitamine C

La vitamine C est un micronutriment qui est requis pour le bon fonctionnement d'un métabolisme humain (**Jaffe, 1984**), C'est un excellent antioxydant et un piègeur de radicaux libres, capable de protéger les cellules des dommages causés par les oxydants. Elle est nécessaire au métabolisme des tissus conjonctifs, en particulier des tissus cicatriciels, des os et des dents. De plus, elle prévient le scorbut et améliore l'absorption du fer dans l'intestin (**Gafar et Itodo, 2011**).

Le test de dosage de la vitamine C a été effectué dans le but de quantifier sa teneur dans l'extrait de feuilles de *M. Oleifera*. Les résultats exprimés en pourcentage de la teneur en vitamine C, sont représentés dans la Figure 15. De plus, le résultat obtenu est également exprimé en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait), la valeur obtenue est de 0,83 mg EAA/g d'extrait.

Des résultats similaires (0.82 mg/g d'extrait) ont été rapportés par **Sankhyan et al., (2013)** pour les feuilles fraîches et varient entre 0.07- 0.14 mg/g pour les feuilles séchées. Ce qui suggère que les feuilles de *M. Oleifera* sont une bonne source d'antioxydants tels que l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques, avec un taux élevé de vitamine C concentré dans les feuilles fraîches.



**Figure 15.** Teneur de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* en Vitamine C.

L'étude menée par **Sankhyan et al. (2013)** a également porté sur la teneur en vitamine C du citron, qui présente une teneur qui varie de 0.42 à 0.54 mg/g, soit environ deux fois moins que celle des feuilles de *M. oleifera* obtenue dans la présente étude (0.83 mg EAA/g d'extrait). Les feuilles de *M. oleifera* sont connues pour être une riche source de vitamine C.

**Su et Chen (2020)** rapportent qu'elles renferment sept fois plus de vitamine C que l'orange.

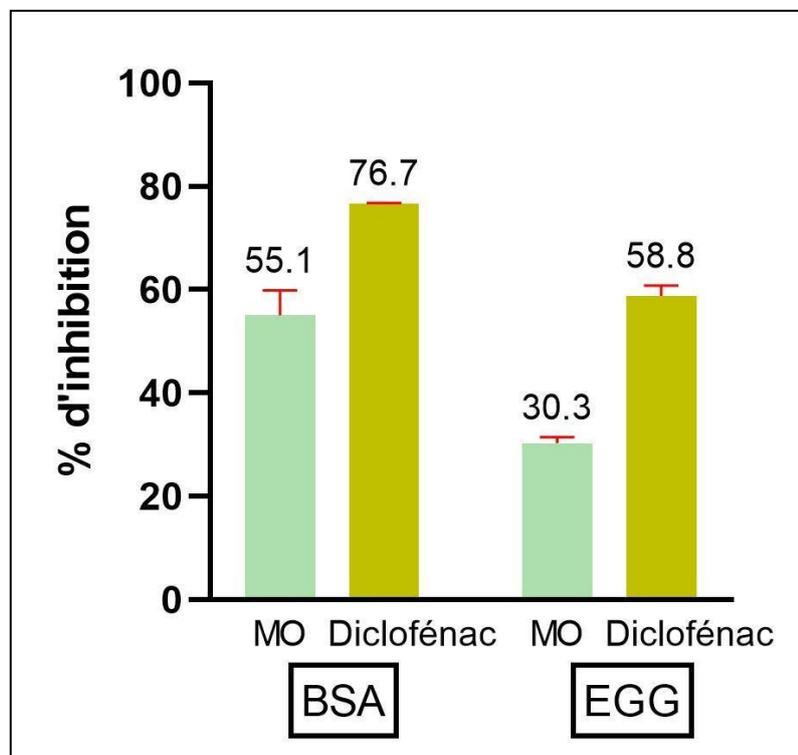
## 4. Potentiel anti-inflammatoire

### 4.1. Dénaturation des protéines

La dénaturation des protéines est un processus par lequel les protéines perdent leur structure secondaire et tertiaire ainsi que leur fonction biologique. Elle est considérée comme un marqueur de l'inflammation (**Sakat et al., 2010 ; Ruiz-Ruiz et al., 2017**). Les tests de dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine *in-vitro* sont les tests les plus utilisés pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de l'extrait. Les protéines dénaturées sont générées à un pH de 6.8, et l'inhibition de la dénaturation des protéines indique une propriété anti-inflammatoire de l'extrait.

Dans la présente étude, la capacité de l'extrait éthanolique (70 %) de feuilles de *M. oleifera* sur la dénaturation des protéines a été étudiée. La Figure 16 montre l'effet de l'extrait éthanol/eau des feuilles de *M. oleifera* et le Diclofénac de sodium sur l'activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA (albumine sérum bovine) et de l'ovalbumine (EGG). A la même

concentration, les résultats montrent que les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par le Diclofénac de sodium sont relativement supérieurs, avec des valeurs de 76.71 % et 58.81 % respectivement pour la BSA et l'ovalbumine, par rapport à ceux obtenus par l'extrait de feuille de *M. oleifera*, qui sont de 56.05 % et de 30.25 % respectivement pour la BSA et l'ovalbumine.



**Figure 16.** Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine (EGG) par l'extrait de feuille de *M. oleifera* et le Diclofénac de sodium.

La dénaturation des protéines est étroitement liée à la réponse inflammatoire et peut conduire à diverse maladie inflammatoire. Ainsi, la capacité d'une substance à prévenir la dénaturation des protéines suggère un potentiel significatif d'activité anti-inflammatoire. (Osman et al., 2016). Williams et al. (2008) ont rapporté que les composés inhibant la dénaturation des protéines avec un pourcentage supérieure à 20% sont considérés comme ayant des propriétés anti-inflammatoires. Bien que le médicament chimique de synthèse, le Diclofénac, ait montré une propriété anti-inflammatoire importante (BSA = 76.71 % ; EGG = 58.81 %), son utilisation prolongée peut entraîner des complications. Des études ont montré que les substances dérivées des plantes sont efficaces et sûres en tant qu'agent antiinflammatoires (Nunes et al., 2020).

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* présente un effet

protecteur contre la dénaturation des protéines (BSA= 55.05 % ; EGG= 30.25 %), confirmant ainsi son activité anti-inflammatoire. Cette activité pourrait être due à l'interaction de certains composants avec les sites de liaison riches en tyrosine, thréonine et lysine des protéines (Williams et al., 2008). Bien que les pourcentages d'inhibition obtenus par l'extrait hydro alcoolique soient inférieurs à ceux trouvés par Saleem et al. (2020), indiquant que l'extrait méthanolique de *M. oleifera* présente des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines plus élevés (BSA >80% ; EGG= 96.70%). Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines et les terpénoïdes peuvent être utilisés comme agents anti-inflammatoires (Mohammed et al., 2014).

Les feuilles de *M. oleifera* ont été largement utilisées pour le traitement des inflammations, et les phyto-constituants de *M. oleifera*, comprenant des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins, des terpènes et des alcaloïdes, connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires. En effet, Dufour et al. (2007) ont rapporté que la BSA possède une forte affinité pour la quercétine, ce qui pourrait expliquer l'activité protectrice des polyphénols contre la dénaturation thermique des protéines.

#### 4.2. Activité alpha-amylase

Dans le but d'évaluer la capacité de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* à inhiber l'activité de l' $\alpha$ -amylase, ce dernier a été testé à différentes concentrations (1 mg/ml, 5 mg/ml et 10 mg/ml). L'Acarbose a été utilisée comme standard à une concentration de 10 mg/ml. Les résultats obtenus (Figure 17) indiquent que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *M. oleifera* a une capacité dose-dépendante à inhiber l' $\alpha$ -amylase, avec une efficacité croissante à des concentrations plus élevées (1 mg/ml = 26.29 % ; 5 mg/ml= 34.05 % et 10 mg/ml= 63.67 %), tandis que l'Acarbose, à une concentration de 10 mg/ml, présente un pourcentage d'inhibition de 99.53 %.

A la même concentration, l'extrait de feuilles de *M. oleifera* présente un meilleur pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase (63,67 %) par rapport à la valeur rapportée par Magaji et al. (2019) qui est de l'ordre de 56.61 % et, à celui obtenu par Gu et al. (2020), qui est de 61.80 % à une concentration de 20 mg/ml. Notre résultat est légèrement inférieur à celui obtenu par Leone et al. (2018), qui ont étudié l'activité  $\alpha$ -amylase en administrant 20 g de poudre de feuilles de Moringa dans le régime alimentaire traditionnel. L'activité  $\alpha$ -amylase a montré une diminution de 68.2 % par rapport aux sujets non traités.

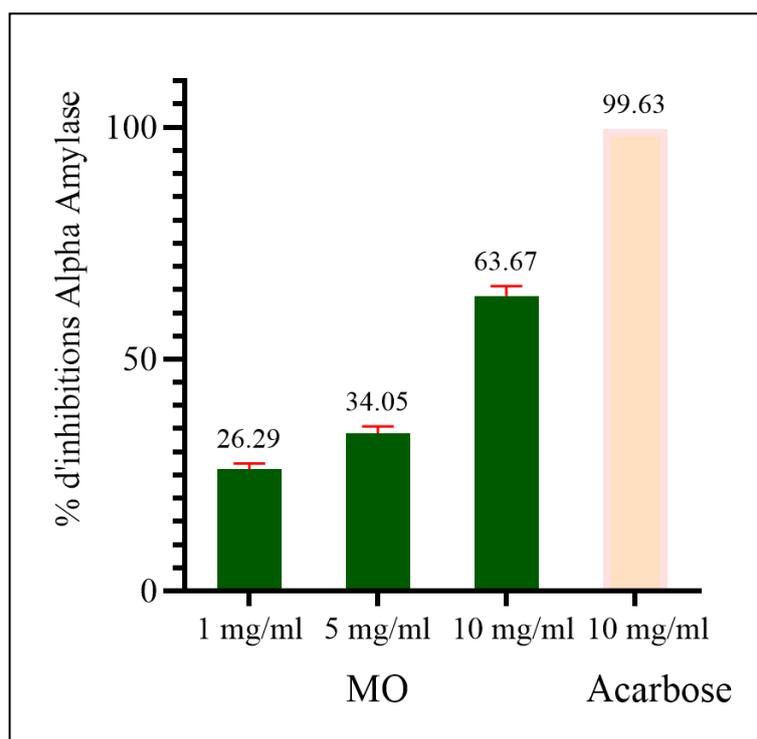


Figure 17. Pouvoir inhibiteur de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* et de l'Acarbose sur l'activité de l' $\alpha$ -Amylase.

Le pouvoir inhibiteur de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* sur l'alpha-amylase est attribué à sa richesse en divers composés phytochimiques tels que les flavonoïdes (Siddhuraju et Becker, 2003 ; Sultana et Anwar, 2008), les polyphénols (Tan et al., 2015) et d'autres composés comme les tannins, phytates, oxalates, alcaloïdes, saponines, terpénoïdes et l'acide ascorbique-2,6-dihexadecanoate (Abiodun et al., 2012 ; Ijarotimi et al., 2013 ; Aja et al., 2014 ; Magaji et al., 2019). De plus, les propriétés antidiabétiques de l'extrait de *M. oleifera* sont également le résultat d'une teneur élevée en glucoside et en glucosinolates (Rani et al., 2018 ; Ogundipe et al., 2022).

## 5. Test de toxicité *in-vivo*

Des analyses biochimiques et hématologiques du sang des souris ont été effectuées afin d'évaluer la toxicité de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* qui leur a été administré par gavage. Les analyses sont des outils essentiels qui peuvent fournir des informations détaillées sur l'état de santé général et le fonctionnement des principaux organes.

## 5.1. Suivi quotidien après le gavage

### 5.1.1. Evaluation de la toxicité sur l'état physique

L'étude, menée sur une période de 14 jours chez des souris ayant reçu un extrait de feuilles de *M. oleifera* par gavage, visait à évaluer sa toxicité. Les résultats (Figure 18) montrent qu'aucun changement significatif n'a été observé dans le comportement des souris. Elles n'ont manifesté aucune altération de la couleur de la peau, leurs poils sont restés brillants, et la couleur de leurs yeux est demeurée inchangée. De plus, aucune incidence de tremblements, de convulsions ou de salivation excessive n'a été relevée. Leur sommeil n'a pas été perturbé et aucune indication de dessèchement n'a été signalée durant toute la période d'observation.

Les résultats des observations suggèrent une bonne tolérance de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* aux doses administrées.

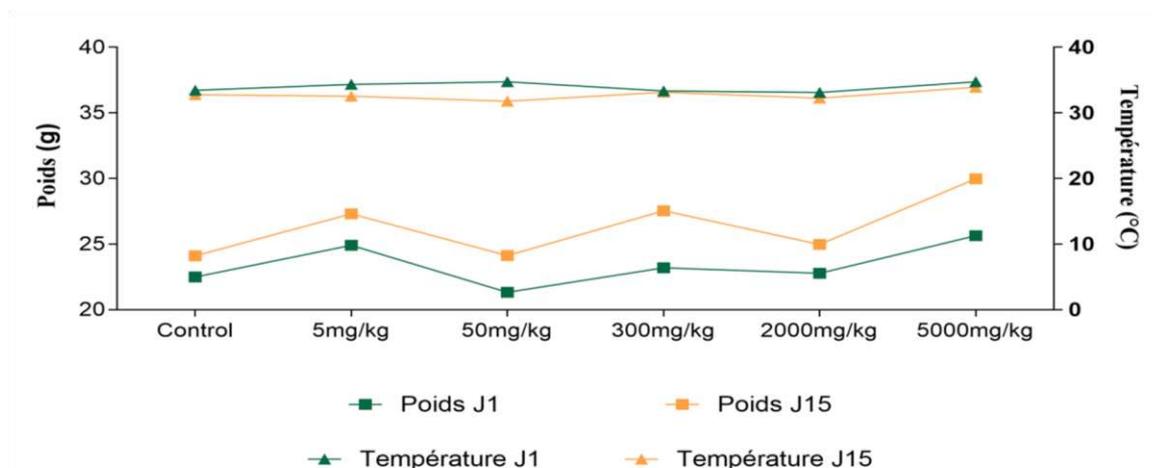


**Figure 18.** Aspect physique d'une souris du lot 5000 mg/kg, 7 jours après le gavage par l'extrait de feuilles de *M. Oleifera*.

Les résultats de la présente étude indiquent que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* est bien toléré par les souris et ne présente aucun effet toxique en dose unique, ce qui est conforme aux conclusions rapportées par **Ouhahchia et al. (2017)** et **Mikolo et al., (2020)**.

### 5.1.2. Suivi du poids et de la température corporelle

Une étude, sur une période de 14 jours, sur des souris après gavage avec un extrait de feuilles de *M. oleifera* a été réalisée pour évaluer les variations de poids et de température corporelle. L'extrait de feuilles de *M. oleifera* a induit une prise de poids chez les souris. Les résultats obtenus (Figure 19) montrent clairement une réponse dose-dépendante.



**Figure 19.** Suivi de l'évolution de poids et de la température entre J1 et J15 des différents lots de souris après gavage par l'extrait des feuilles de *M. oleifera*.

Le groupe témoin a montré une augmentation de poids modérée, passant de 22.49 g à 24.1 g sur la période de 14 jours. Les groupes ayant reçus les doses de 5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg, 2000 mg/kg et 5000 mg/kg ont présenté des augmentations de poids plus marquées et significatives ( $p < 0.05$ ). Le groupe ayant la dose de 5000 mg/kg a enregistré la plus forte augmentation, passant de 25.64 g à 30 g en deux semaines. Nous avons observé une augmentation constante sur les 14 jours de suivi, probablement due à une consommation alimentaire accrue, indiquant que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* n'affecte pas la croissance des animaux testés (Mikolo et al., 2020). Les résultats sont cohérents avec ceux obtenus avec d'autres extraits de plantes, comme rapporté par Allouni (2018), où des souris ont été traitées avec des doses atteignant la DL50.

En ce qui concerne la température corporelle des souris, les résultats de l'étude montrent également de légères variations entre les différents groupes expérimentaux, sans différence significative ( $p < 0.05$ ) observée. Le groupe témoin a maintenu une température initiale de 36.7 °C, légèrement diminuée à 36.4 °C après 14 jours. Les souris traitées avec l'extrait de feuilles de *M. oleifera* à différentes doses ont montré diverses réponses. Le groupe ayant reçu la dose de 5 mg/mL a montré une baisse notable de la température (de 37.2 °C à 36.3 °C) sur la même période. Le groupe ayant reçu la dose de 50 mg/kg a montré une baisse notable de la température (37.38 °C à 35.9 °C) sur la même période.

Les groupes ayant reçus les doses de 300 mg/kg, de 2000 mg/kg et de 5000 mg/kg ont montré des fluctuations moins prononcées, restant généralement stables autour de la température initiale avec des variations modestes. Globalement, la température corporelle est restée stable, bien que nous ayons observé une légère augmentation pour les doses de 5 mg/kg et 50 mg/kg, probablement liée à l'état physiologique des souris des groupes concernés et à un stress involontaire (Nnanga et al., 2020).

## 5.2. Analyses biochimiques

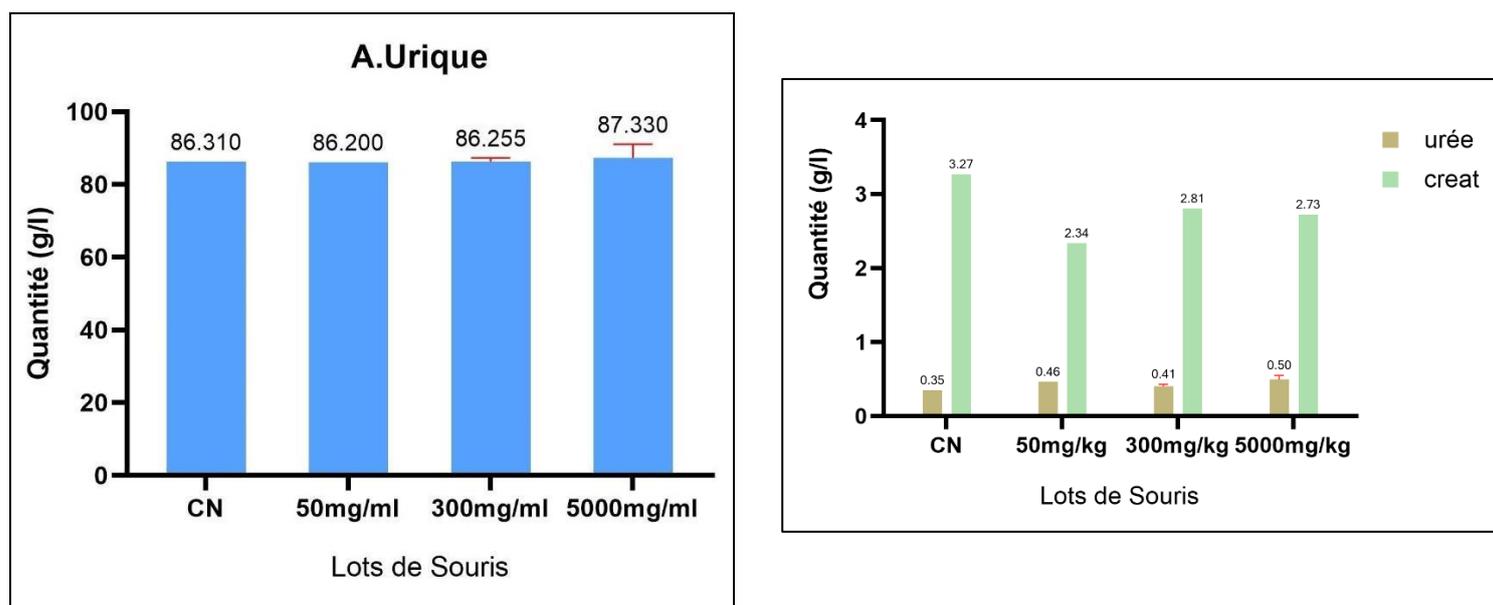
### 5.2.1. Bilan rénal

Les résultats des analyses sont illustrés dans la Figure 20, montrant que l'administration de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* a entraîné à une légère variation des niveaux d'urée et de créatinine par rapport au groupe témoin. L'urée a augmenté de manière dose-dépendante, passant de 0.35 g/L dans le groupe témoin à 0.49 g/L dans le groupe ayant reçu la dose de 5000 mg/kg, mais cette différence reste non significative ( $p < 0.05$ ).

De même, la créatinine a montré une légère variation, avec une diminution non significative à la dose de 50 mg/kg (2.34 g/L) par rapport au groupe témoin (3.27 g/L) et atteignant 2.80 g/L pour la dose de 300 mg/kg et 2.72 g/L pour la dose de 5000 mg/kg.

L'acide urique a montré des variations minimales entre les groupes, avec une légère augmentation dans le groupe recevant la plus forte dose (87.33 g/L) par rapport au groupe témoin (86.31 g/L).

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de *M. oleifera* n'a pas provoqué de changements significatifs ( $p < 0.05$ ) des niveaux d'urée, de créatinine et d'acide urique chez toutes les souris traitées. Ces variations n'affectent pas le fonctionnement des reins, car les valeurs obtenues sont proches de celles du groupe témoin.



**Figure 20.** Les paramètres biochimiques du bilan rénal (urée, créatinine et acide urique) du groupe témoin et des groupes ayant reçu une dose d'extrait de feuilles de *M. Oleifera*.

Les résultats de la présente étude diffèrent de ceux de **Feki et al. (2021)**, qui ont étudié le profil biochimique de rats traités avec des doses croissantes de thiaméthoxame. Ils ont observé qu'un taux plasmatique élevé de créatinine, associé à un taux élevé d'urée, indique une diminution de la filtration glomérulaire (filtration glomérulaire : c'est la filtration du sang par le glomérule du rein, menant à la formation d'urine primitive). Et généralement une insuffisance rénale, ainsi qu'un taux élevé d'acide urique dans le plasma, reflétant un désordre métabolique ou une atteinte rénale. Par conséquent, l'administration à dose unique de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*, même à la dose la plus élevée de 5000 mg/kg de poids corporel, ne présente aucun risque de dysfonctionnement rénal.

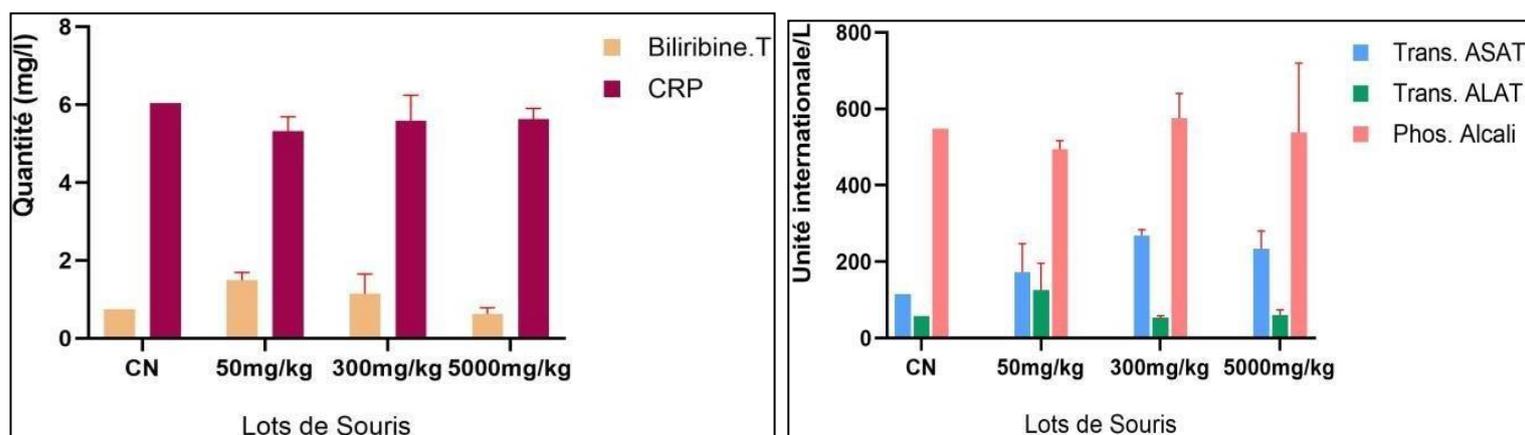
### 5.2.2. Bilan hépatique

Les résultats des analyses (Figure 21) montrent une augmentation dose-dépendante des niveaux des transaminases ASAT, passant de 114.05 U/L dans le groupe témoin à 172.24 U/L dans le groupe recevant la dose de 50 mg/kg, et atteignant 269.28 U/L pour la dose de 300 mg/kg. A la dose de 5000 mg/kg, une réduction non significative ( $p < 0.05$ ) des niveaux des transaminases par rapport au groupe témoin et aux doses de 50 et de 300 mg/kg a été observée.

La phosphatase alcaline a montré des variations mineures entre les groupes, avec une

légère augmentation à 575.87 U/L, qui reste non significative, pour le groupe recevant la dose de 50 mg/kg. Cependant, à la dose la plus élevée (5000 mg/kg), les paramètres sont revenus aux niveaux du groupe témoin, ce qui peut indiquer une réponse adaptative ou une absence de toxicité significative à cette dose élevée.

La bilirubine totale a augmenté à 1.49 mg/L dans le groupe ayant reçu la dose de 50 mg/kg et à 1.145 mg/L dans le groupe ayant reçu la dose de 300 mg/kg. Les niveaux de CRP ont légèrement varié par rapport au groupe témoin (6.04 mg/L), la variation reste non significative ( $p < 0.05$ ).



**Figure 21.** Les paramètres biochimiques du bilan hépatique du groupe témoin et des groupes ayant reçu une dose d'extrait de feuilles de *M. Oleifera* par voie orale.

Il est bien connu que le foie joue un rôle crucial dans le processus de détoxification. Toute atteinte ou dysfonctionnement de cet organe peut entraîner une hépato-toxicité et provoquer des complications pouvant nuire à la santé (Feki et al., 2021). Les niveaux élevés d'ALAT et d'ASAT sont des indicateurs de toxicité hépatique, signalant une altération des hépatocytes (Kumar et al., 2004).

Après l'administration des extraits, une légère variation des taux sériques de transaminases par rapport au contrôle négatif est observée. À la dose la plus élevée, les taux de transaminases sont presque identiques à ceux du groupe témoin, suggérant ainsi que l'extrait de feuilles de *M. oleiferae* ne provoque pas de toxicité hépatique. Quant à la phosphatase alcaline, elle présente des variations mineures entre les groupes comparés au témoin, avec une légère augmentation à 575.87 U/L pour le groupe à 300 mg/kg, indiquant l'absence de lésion hépatique. De plus, des niveaux élevés de phosphatase alcaline sérique sont associés au risque de maladie coronarienne et de mortalité globale (Fan et al., 2017).

Les niveaux de bilirubine et de CRP montrent une légère augmentation dans les groupes à 300 mg/kg et à 50 mg/kg, respectivement, avant de revenir aux niveaux du groupe témoin à la dose de 5000 mg/kg. Des niveaux élevés de bilirubine sont indicatifs de perturbations hépatiques, tandis que des taux élevés de CRP signalent une inflammation.

D'après les résultats obtenus, on suppose que l'extrait de feuilles de *M. oleifera* pourrait exprimer des effets hépatoprotecteurs et anti-inflammatoires, probablement grâce à sa composition phytochimique. **Ngoumtsop et al., (2021)** indiquent que l'activité hépatoprotectrice est due aux composés phénoliques et aux flavonoïdes présents dans l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Persea americana*, tandis que **Yoon et al., (2005)** ont également démontré la capacité anti-inflammatoire des composés phénoliques. Les feuilles de *M. oleifera* sont une excellente source de composés polyphénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Wang et al., 2017**), ce qui pourrait contribuer à leurs effets anti-inflammatoires et hépatoprotecteurs.

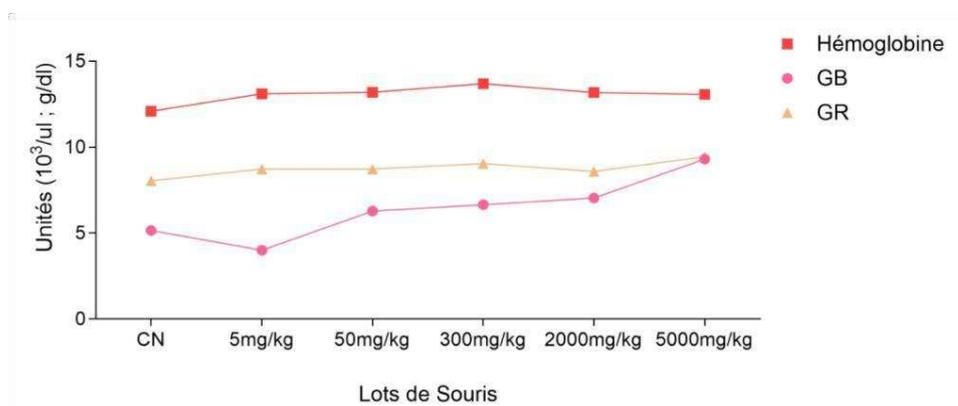
### 5.2.3. Bilan hématologique

Les résultats de cette analyse illustrés dans la Figure 22 montrent que l'administration de l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* a influencé les paramètres hématologiques de manière dose-dépendante.

- **Hémoglobine (Hb)** : les niveaux d'hémoglobine augmentent progressivement avec l'augmentation de la dose administrée, atteignant 14.7 g/dL à la dose de 5000 mg/kg, comparé à 12.1 g/dL dans le groupe témoin.
- **Globules blancs (GB)** : les niveaux de globules blancs montrent une tendance à la hausse avec des doses plus élevées. Le groupe recevant la dose de 5000 mg/kg a enregistré la valeur la plus élevée de GB ( $9.31 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) tandis que le groupe recevant la dose de 5 mg/kg a montré une diminution par rapport au groupe témoin ( $4.01 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) contre  $5.15 \times 10^3/\mu\text{L}$ .

- **Globules rouges (GR)** : les niveaux de globules rouges augmentent également avec des doses croissantes, le lot de 5000 mg/kg présentant le niveau le plus élevé ( $9.45 \times 10^3/ \mu\text{L}$ ) comparé au groupe témoin ( $8.04 \times 10^3/ \mu\text{L}$ ).

L'extrait de feuilles de *M. oleifera* n'a provoqué aucune mortalité lorsqu'il a été administré par voie orale à des doses allant de 5 mg/kg à 5000 mg/kg. Les résultats de l'évaluation de la toxicité sur l'état physique ne montrent aucun changement significatif, ce qui suggère une bonne tolérance de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* aux doses administrées.



**Figure 22.** Les paramètres du bilan hématologique du groupe témoin et des groupes de souris ayant reçu une dose d'extrait de feuilles de *M. Oleifera* voie orale.

L'analyse des résultats des paramètres hématologiques après 14 jours de traitement des souris n'a montré aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) dans le taux de globules rouges et d'hémoglobine comparativement aux témoins. De plus, les résultats obtenus Santos et al. (2016), comparé au groupe témoin, une légère augmentation du taux de globules blancs des souris traitées a été observée ; cette augmentation serait due à la stimulation du système immunitaire par l'extrait, favorisant ainsi la production de cellules immunitaires (Fahim et al., 2012).

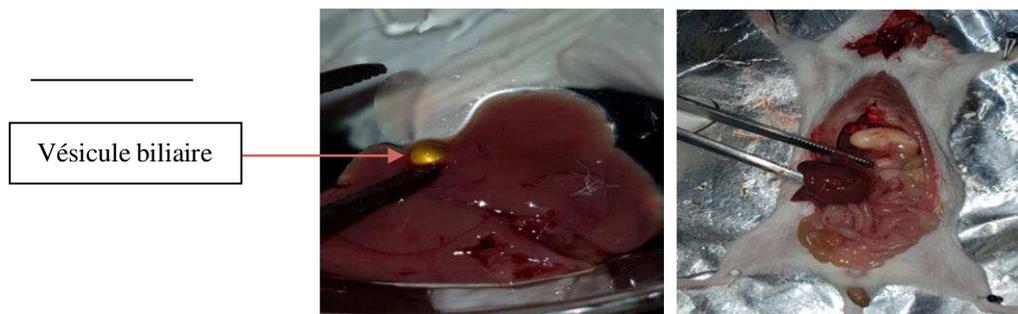
Des études antérieures sur la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait aqueux de feuilles chez des rats mâles n'ont révélé aucune toxicité jusqu'à une dose de 5 000 mg/kg de poids corporel. L'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* n'a provoqué aucune mortalité lorsqu'il était administré par voie orale à des doses allant de 400 mg/kg à 6400 g/kg. Les résultats

suggèrent que les extraits de feuilles de *M. oleifera* peuvent renforcer l'immunité et avoir des propriétés hépatoprotectrices.

On peut conclure que *M. oleifera* est relativement sûr pour la consommation humaine (Weil et al., 2019 ; Xiao et al., 2020). Gupta et al., (2012) estiment qu'il existe une opportunité de développer des médicaments à base de *M. oleifera*. L'extrait aqueux total de *M. oleifera* peut être classé dans la catégorie 5 et considéré comme une substance non toxique par voie orale (Lebri et al., 2015).

#### 5.4. Etude macroscopique du foie

Après gavage des souris avec un extrait de plante, celles-ci ont été suivies pendant 14 jours. Au quinzième jour, elles ont été disséquées pour observer l'aspect de leur foie. Il a été constaté que l'état général du foie de toutes les souris ne montrait aucune anomalie. Plus spécifiquement, chez le lot de souris ayant reçu une dose de 5000 mg/kg, le foie ne présentait aucune altération également, avec une vésicule biliaire apparente (**Figure 23**). Ces observations suggèrent que l'extrait de plante, même à des doses élevées, n'a pas induit de toxicité hépatique notable.



**Figure 23.** Aspect macroscopique du foie d'une souris (lot 5000 mg/kg) accompagné de la vésicule biliaire apparente.

Lors de l'étude macroscopique du foie des souris sacrifiées, nous n'avons observé aucune altération, ni diminution de poids, ni rétrécissement de taille. Ces observations confirment l'absence de toxicité. Selon Friedman et al. (2004), en cas de toxicité, une diminution significative de la masse relative du foie serait attendue, potentiellement associée à une augmentation de la pression veineuse systémique, se manifestant par une hypertension veineuse hépatique. Une telle condition pourrait entraîner une atrophie des cellules hépatiques en raison de congestions sinusoidales.

# Conclusion

## Conclusion

Dans cette étude, *Moringa oleifera* a été sélectionné pour explorer de nouvelles applications potentielles dans les domaines médical et pharmaceutique, afin d'apporter une alternative aux médicaments synthétiques et d'améliorer la santé humaine.

L'analyse phytochimique a révélé que l'extrait éthanol/eau des feuilles de *M. oleifera* est riche en composés phénoliques, notamment en polyphénols, avec une teneur de  $215.09 \pm 0.6$  mg EAG/g d'extrait. Parallèlement, la quantification des flavonoïdes a montré une teneur de  $18.45 \pm 0.3$  mg EQ/g d'extrait, alors que la teneur en tanins est relativement faible (TC =  $7.98 \pm 0.0$  mg ECAT/g d'extrait et TH =  $10.67 \pm 0.6$  mg EAT/g d'extrait). De nombreuses études ont rapporté que ces composés sont responsables de nombreuses propriétés biologiques bénéfiques.

Diverses études scientifiques ont montré que les extraits de feuilles de *M. oleifera* présentent un intérêt significatif et un potentiel prometteur pour le traitement de l'inflammation aiguë et chronique. De plus, ils présentent de puissantes propriétés antioxydantes. Ils agissent en piégeant les radicaux libres, comme en témoigne leur capacité à inhiber les radicaux libres du DPPH et de l'ABTS, avec des pourcentages respectifs de 88.09 % à une concentration de 200 µg/ml et de 99.11 % à une concentration de 400 µg/ml. En outre, ils chélatent les métaux et protègent les macromolécules contre l'oxydation. Ils présentent également une capacité importante à inhiber la dénaturation des protéines. Nous avons observé des pourcentages d'anti-dénaturation significatifs de 76.71 % et 58.81 % respectivement pour la BSA et l'ovalbumine (EGG), ce qui appuie l'idée que *Moringa* pourrait représenter un véritable alternatif aux anti-inflammatoires synthétiques.

L'étude *in-vivo* sur la toxicité de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* n'a pas montré de différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les paramètres hématologiques et biochimiques des animaux testés. De plus, aucune altération du foie ni de l'état clinique des sujets n'a été observée. Ces résultats permettent de conclure que l'extrait ne présente aucune toxicité par voie orale.

*Moringa oleifera* pourrait représenter une alternative prometteuse aux anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS), permettant ainsi d'éviter leurs nombreux effets secondaires indésirables.

Nos résultats soulignent le potentiel thérapeutique de *M. oleifera* et suggèrent la nécessité de mener des recherches plus approfondies sur ses composés bioactifs afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action sur différentes maladies. Une intégration d'analyses histologiques dans les études de toxicité assure une évaluation plus complète et précise de la sécurité et des risques potentiels associés à l'utilisation de plantes médicinales. Ces études permettent d'examiner les effets au niveau tissulaire et cellulaire, offrant ainsi une compréhension détaillée des mécanismes d'action et des éventuels dommages causés aux organes.

# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

1. Abd Rani, N. Z., Husain, K., & Kumolosasi, E. (2018). Moringa Genus : A Review of Phytochemistry and Pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00108>
2. Abiodun, O. A., Adegbite, J. A., & Omolola, A. O. (2012). Chemical and Physicochemical Properties of Moringa Flours and Oil. *Global Journal of Science Frontier Research Biological Sciences, Volume 12*.
3. Adebayo-Oyetoro, A. O., Ogundipe, O. O., Adeyeye, S. A. O., Akande, E. A., & Akinyele, A. B. (2019). Production and Evaluation of Tiger nut (*Cyperus esculentus*) Milk Flavoured with Moringa oleifera Leaf Extract. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 7(1), 265-271.
4. Adeyanju, S. O., Daramola, J. O., Olanite, J. A., & Awokola, O. S. (2018). Effect of sunflower lecithin on Kalahari Red goat semen during cryopreservation. *Agricultura Tropica et Subtropica*, 51(1), 21-28. <https://doi.org/10.2478/ats-2018-0003>
5. Adisakwattana, S., & Chanathong, B. (2011). Alpha-glucosidase inhibitory activity and lipid-lowering mechanisms of *Moringa oleifera* leaf extract. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(7): 803-8.
6. Aghasafari, P., George, U., & Pidaparti, R. (2019). A review of inflammatory mechanism in airway diseases. *Inflammation Research*, 68(1), 59-74. <https://doi.org/10.1007/s00011-018-1191-2>
7. Aja, P. M., Nwachukwu, N., Ibiam, U. A., Igwenyi, I. O., Offor, C. E., & Orji, U. O. (2014). Chemical Constituents of *Moringa oleifera* Leaves and Seeds from Abakaliki, Nigeria. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2(3):310-321.
8. Allouni, R. (2018). *Étude de la toxicité des alcaloïdes totaux des graines de datura stramonium L. sur les animaux de laboratoire* [Thesis]. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2269>
9. Anigboro, A., Avwioroko, O., Ohwokevw, O., & Pessu, B. (2019). *Bioactive components of Ficus exasperata, Moringa oleifera and Jatropha tanjorensis leaf extracts and evaluation of their antioxidant properties*. 13, 1763-1769.
10. Anwar, F., Ashraf, M., & Bhangar, M. I. (2005). Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(1), 45-51. <https://doi.org/10.1007/s11746-005-1041-1>

11. Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., and Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera* : a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy research*, 21, 17-25.
12. Anzano, A., Ammar, M., Papaiani, M., Grauso, L., Sabbah, M., Capparelli, R., & Lanzotti, V. (2021). *Moringa oleifera* Lam. : A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Horticulturae*, 7(10), 409. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100409>
13. Asif, M., Saleem, M., Saadullah, M., Yaseen, H. S., & Al Zarzour, R. (2020). COVID-19 and therapy with essential oils having antiviral, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. *Inflammopharmacology*, 28(5), 1153-1161. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00744-0>
14. Assessment, U. E. N. C. for E. (2009, mars 15). *Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Mollugo nudicaulis by Invitro Assays* [WEB SITE]. [https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference\\_id/1564052](https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/1564052)
15. Barnes, P. J. (2010). Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 120(2), 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.02.018>
16. Bossu, C. M., Ferreira, E. C., Chaves, F. S., Menezes, E. A., & Nogueira, A. R. A. (2006). Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchemical Journal*, 84(1), 88-92. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.04.022>
17. Boulanger, T. (2017). *Pharmacologie : Anti inflammatoire*. IFSI.
18. Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788-794. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740290908>
19. Chaudhary, K., et Chaurasia, S. (2017). Neutraceutical Properties of *Moringa oleifera* : A Review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4, 646-655.
20. Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>
21. Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204-7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
22. Clara dos Reis Nunes, Arantes, Pereira, da Cruz, Passos, de Moraes, Vieira, & de Oliveira. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Academic Editors: Thea Magrone, Rodrigo Valenzuela and Karel Šmejkal*.

23. Cui, H., Li, H., Li, C., Abdel-Samie, M. A., & Lin, L. (2020). Inhibition effect of moringa oil on the cheese preservation and its impact on the viability, virulence and genes expression of *Listeria monocytogenes*. *LWT*, *134*, 110163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110163>
24. Dejean, C., & Richard, D. (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de Médecine Interne*, *34*(5), 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2013.02.021>
25. Ding, H., Wang, Y., Gao, Y., Han, X., Liu, S., Tang, G., Li, J., & Zhao, D. (2017). Purification of wedelolactone from *Eclipta alba* and evaluation of antioxidant activity. *Separation Science and Technology*, *52*. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1374973>
26. Djemoui, D., Saidi, M., Rahmani, Z., & Djemoui, A. (2019). Influence of phenolic compounds on antioxidant capacity of leaves extracts of *Moringa oleifera* from Tamanrasset region. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *11*(1), Article 1.
27. Dufour, C., Loonis, M., & Dangles, O. (2007). Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. *Free Radical Biology and Medicine*, *43*(2), 241-252. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.009>
28. El-Hadary, A. E., & Ramadan, M. F. (2019). Antioxidant traits and protective impact of *Moringa oleifera* leaf extract against diclofenac sodium-induced liver toxicity in rats : *Journal of Food Biochemistry*, *43*(2), e12704. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12704>
29. Eugenia Nonye, O. (2019). *Phytochemical Analysis and Antimicrobial Screening Of Moringa Oleifera Leaves Extract*. *3*, 32-35.
30. Ezekwe, C. I., Chidinma, R. U., & Okechukwu, P. C. U. (2013). *The Effect of Methanol Extract of Talinum Triangulare (Water Leaf) on the Hematology and Some Liver Parameters of Experimental Rats*.
31. Fachriyah, E., Kusriani, D., Haryanto, I. B., Wulandari, S. M. B., Lestari, W. I., & Sumariyah, S. (2020). Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, *23*(8), 290-294. <https://doi.org/10.14710/jksa.23.8.290-294>
32. Fahim, M., Millar, A. A., Wood, C. C., & Larkin, P. J. (2012). Resistance to Wheat streak mosaic virus generated by expression of an artificial polycistronic microRNA in

- wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 10(2), 150-163. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00647.x>
33. Fan, Y., Jin, X., Jiang, M., & Fang, N. (2017). Elevated serum alkaline phosphatase and cardiovascular or all-cause mortality risk in dialysis patients: A meta-analysis. *Scientific Reports*, 7(1), 13224. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13387-z>
  34. Faure, S. (2009). Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 48(487), 51-56. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(09\)70493-8](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(09)70493-8)
  35. Feki A., Kammoun, I., Naifar, M., Makni Ayadi, F., Hakim, A., & Ben Amara, I. (2021). Etude du profil biochimique chez des rats traités avec des doses croissantes en thiaméthoxame. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*. 37, 55 - 63
  36. Fioranelli, M., Rocchia, M. G., Flavin, D., & Cota, L. (2021). Regulation of Inflammatory Reaction in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5277. <https://doi.org/10.3390/ijms22105277>
  37. Fitriana, W. D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. (2018). Antioxidant Activity of Moringa oleifera Extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(3), Article 3. <https://doi.org/10.22146/ijc.21145>
  38. Foild, N., Makkar H.P.S. et Becker K. (2001). Potentiel de développement des produits du Moringa 29 octobre - 2 novembre 2001, Dar es Salaam, Tanzanie.
  39. Gafar, M., Adams, I., Atiku, F., Hassan, A. M., & Peni, I. J. (2011). Proximate and Mineral Composition of the Leaves of Hairy Indigo (*Indigofera astragalina*). *Pakistan Journal of Nutrition. Asian Network for Scientific Information*, 10, 168-175. <https://doi.org/10.3923/pjn.2011.168.175>
  40. Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakai, R. L. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137. <https://doi.org/10.4314/acsj.v26i1.10>
  41. Gbadamosi, I., Omotoso, O., Arogundade, T., Alabi, A., Balogun, R., & Yawson, E. (2019). Moringa Regimen Corrects Nicotine-induced Deficits in Behaviour, Altered Energy Metabolism and Neurotransmitter Processing in Rat Brain 1 1 2\*. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*, 8, 1-13.
  42. Govindan, S., Prabakaran, K., & George, B. (2018). *evaluation of phytochemical constituents of moringa oleifera (lam.) leaves collected from puducherry region, south india.*
  43. Granella, S. J., Bechlin, T. R., Christ, D., Coelho, S. R. M., & Paz, C. H. De O. (2021). An approach to recent applications of *Moringa oleifera* in the agricultural and

- biofuel industries. *South African Journal of Botany*, 137, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.006>
44. Gu, X., Yang, Y., & Wang, Z. (2020). Nutritional, phytochemical, antioxidant,  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory properties of *Moringa oleifera* seeds. *South African Journal of Botany*, 133, 151-160. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.021>
45. Guevara, A. P., Vargas, C., Sakurai, H., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., Maoka, T., Kozuka, M., Ito, Y., Tokuda, H., & Nishino, H. (1999). An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 440(2), 181-188. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00025-X)
46. Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
47. Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Bilsel, M., Gören, A. C., & Erdogan, U. (2011). Pomological Features, Nutritional Quality, Polyphenol Content Analysis, and Antioxidant Properties of Domesticated and 3 Wild Ecotype Forms of Raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food Science*, 76(4), C585-C593. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02142.x>
48. Gülçin, L., Topal, F., Beyza, S., Öztürk Sarıkaya, S. B., Bursal, E., Bilsel, G., & Gören, A. (2011). Polyphenol Contents and Antioxidant Properties of Medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products*, 5:3 (2011) 158-175
49. Gupta, R., Mathur, M., Bajaj, V. K., Katariya, P., Yadav, S., Kamal, R., & Gupta, R. S. (2012). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. *Journal of Diabetes*, 4(2), 164-171. <https://doi.org/10.1111/j.1753-0407.2011.00173.x>
50. Habtemariam, L. T., Abate Kassa, G., & Gandorfer, M. (2017). Impact of climate change on farms in smallholder farming systems: Yield impacts, economic implications and distributional effects. *Agricultural Systems*, 152, 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2016.12.006>
51. Habtemariam, S. (2018). Iridoids and Other Monoterpenes in the Alzheimer's Brain: Recent Development and Future Prospects. *Molecules*, 23(1), 117. <https://doi.org/10.3390/molecules23010117>
52. Han, S.-B., Lee, C. W., Yoon, L. D., Lee, J.-H., Kang, J. S., Lee, K. H., Yoon, W. K., Lee, K., Park, S.-K., & Kim, H. M. (2005). Prevention of arthritic inflammation using an oriental herbal combination BDX-1 isolated from *Achyranthes bidentata*

- and *Atractylodes japonica*. *Archives of Pharmacal Research*, 28(8), 902-908.  
<https://doi.org/10.1007/BF02973875>
53. Hawash, M., Jaradat, N., Shekfeh, S., Abualhasan, M., Eid, A. M., & Issa, L. (2021). Molecular docking, chemo-informatic properties, alpha-amylase, and lipase inhibition studies of benzodioxol derivatives. *BMC Chemistry*, 15(1), 40.  
<https://doi.org/10.1186/s13065-021-00766-x>
54. Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J.-Y. (2001). Les mediateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6).  
<https://orbi.uliege.be/handle/2268/118957>
55. Herbert, J.-M., Bono, F., & Savi, P. (1996). The mitogenic effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for vascular smooth muscle cells is mediated by an increase of the affinity of basic fibroblast growth factor for its receptor. *FEBS Letters*, 395(1), 43-47.  
[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00998-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00998-2)
56. Ijarotimi, O. S., Adeoti, O. A., & Ariyo, O. (2013). Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. *Food Science & Nutrition*, 1(6), 452-463.  
<https://doi.org/10.1002/fsn3.70>
57. Kefalas, P., Kallithraka, S., Parejo, I., & Makris, D. P. (2003). Note : A Comparative Study on the in Vitro Antiradical Activity and Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity in Aged Red Wines. *Food Science and Technology International*, 9(6), 383-387. <https://doi.org/10.1177/1082013203040080>
58. Klein, B. P., & Perry, A. K. (1982). Ascorbic Acid and Vitamin A Activity in Selected Vegetables from Different Geographical Areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47(3), 941-945. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12750.x>
59. Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., & Opletal, L. (2008). Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(5), 436-447.  
<https://doi.org/10.2174/138955708784223486>
60. Koul, B., & Chase, N. (2015). *Moringa oleifera* Lam. : Panacea to several maladies.
61. Kumar, G., Banu, G. S., Pappa, P. V., Sundararajan, M., & Pandian, M. R. (2004). Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum* L. against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(1), 37-40. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.009>

62. Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007). Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, *100*(1), 356-361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.051>
63. Kumbhare, M., Guleha, V., & Sivakumar, T. (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *2*(2), 144-150. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60033-4](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60033-4)
64. Lamaison, J. L., Petitjen-Freytet, C., & Carnat, A. (1990). Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les apiacées, les borraginacées et les laminacées médicinales. *Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les apiacées, les borraginacées et les laminacées médicinales*, *48*(2), 103-108.
65. Leбри, M., Bahi, C., Fofie, N. B. Y., Gnahoue, G., Lagou, S. M., Achibat, H., Yapi, A., Zirihi, G. N., Coulibaly, A., Hafid, A., & Khouili, M. (2015). Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *9*(3), Article 3. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.29>
66. Leone, A., Bertoli, S., Di Lello, S., Bassoli, A., Ravasenghi, S., Borgonovo, G., Forlani, F., & Battezzati, A. (2018). Effect of *Moringa oleifera* Leaf Powder on Postprandial Blood Glucose Response : In Vivo Study on Saharawi People Living in Refugee Camps. *Nutrients*, *10*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/nu10101494>
67. Leone, A., Fiorillo, G., Criscuoli, F., Ravasenghi, S., Santagostini, L., Fico, G., Spadafranca, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Pozzi, F., Di Lello, S., Filippini, S., & Bertoli, S. (2015). Nutritional Characterization and Phenolic Profiling of *Moringa oleifera* Leaves Grown in Chad, Sahrawi Refugee Camps, and Haiti. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(8), 18923-18937. <https://doi.org/10.3390/ijms160818923>
68. Létard, J.-C., Canard, J.-M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., Lapuelle, J., & Commissions nutrition et thérapies complémentaires du CREGG. (2015). Phytothérapie – Principes généraux. *Hegel*, *1*(1), 29-35. <https://doi.org/10.3917/heg.051.0029>

69. Lin, W.-W., & Karin, M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 117(5), 1175-1183. <https://doi.org/10.1172/JCI31537>
70. Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., & Kardono, L. B. S. (2006). Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa). *Indonesian Bulletin of Health Research*, 34(3), 65120.
71. Luqman, S., Srivastava, S., Kumar, R., Maurya, A. K., & Chanda, D. (2012). Experimental Assessment of *Moringa oleifera* Leaf and Fruit for Its Antistress, Antioxidant, and Scavenging Potential Using *In Vitro* and *In Vivo* Assays. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2012/519084>
72. Magaji, U. F., Sacan, O., & Yanardag, R. (2020). Alpha amylase, alpha glucosidase and glycation inhibitory activity of *Moringa oleifera* extracts. *South African Journal of Botany*, 128, 225-230. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.024>
73. Mahato, D. K., Kargwal, R., Kamle, M., Sharma, B., Pandhi, S., Mishra, S., Gupta, A., Mahmud, M. M. C., Gupta, M. K., Singha, L. B., & Kumar, P. (2022). Ethnopharmacological properties and Nutraceutical potential of *Moringa oleifera*. *Phytomedicine Plus*, 2(1), 100168. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100168>
74. Marcocci, L., Maguire, J. J., Droylefaix, M. T., & Packer, L. (1994). The Nitric Oxide-Scavenging Properties of Ginkgo Biloba Extract EGb 761. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201(2), 748-755. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1764>
75. Mayol, K. (2024, février 16). Les médiateurs de l'inflammation-Site des ressources d'accès pour enseigner les Sciences de la Vie et de la Terre. <https://aces.ens-lyon.fr/aces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/immunité-innée-barrières-naturelles-et-réaction-inflammatoire/les-médiateurs-de-l2019inflammation>
76. Mbikay, M. (2012). Therapeutic Potential of *Moringa oleifera* Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00024>
77. Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
78. Mohammed, M. S., Osman, W. J. A., Garelnabi, E. A. E., Osman, Z., Osman, B., Khalid, H. S., & Mohamed, M. A. (2014). Secondary metabolites as anti-inflammatory

- agents. *The Journal of Phytopharmacology*, 3(4), 275-285.  
<https://doi.org/10.31254/phyto.2014.3409>
79. Mohlala, K., Offor, U., Monageng, E., Takalani, N. B., & Opuwari, C. S. (2023). Overview of the Effects of *Moringa oleifera* Leaf Extract on Oxidative Stress and Male Infertility: A Review. *Applied Sciences*, 13(7), 4387.  
<https://doi.org/10.3390/app13074387>
80. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 26(2), 211-219
81. Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91(4), 441-447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>
82. Mukhopadhyay, D., Dasgupta, P., Roy, D. S., Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S., & Dastidar, S. G. (2016). A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.5530/fra.2016.1.15>
83. Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC - Stomatologie*, 1(1), 21-29.  
<https://doi.org/10.1016/j.emcsto.2005.01.005>
84. Mutwedu, V. B., Nyongesa, A. W., Azine, P. C., Chiregereza, D. K., Ngoumtsop, V. H., Mugumaarhahama, Y., & Ayagirwe, R. B. B. (2021). Growth performance and reproductive function impairment of glyphosate-based herbicide in male guinea pig (*Cavia porcellus*). *Veterinary Medicine and Science*, 7(3), 1047-1055.  
<https://doi.org/10.1002/vms3.443>
85. Mwatope, B., Tembo, D., Chikowe, I., Kampira, E., & Nyirenda, C. (2020). Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. *Scientific African*, 9, e00481.  
<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00481>
86. Napoleão, T., Santos, A., Luz, L., Pontual, E., Paiva, P., & Coelho, L. C. (2019). *Moringa oleifera*: A Powerful Source of Environmentally, Medicinally and Biotechnologically Relevant Compounds (p. 1-18).
87. Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving Inflammation. *Cell*, 140(6), 871-882.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>

88. Nnanga, J., Gilbert, T., Konsala, S., & Priso, R. (2022). Étude ethnobotanique de la pharmacopée traditionnelle dans l'arrondissement de Dargala, Extrême-Nord Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 178, 2022. <https://doi.org/10.35759/JABs.178.1>
89. Noack, M., & Kolopp-Sarda, M.-N. (2018). Cytokines et inflammation : Physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(499), 28-37. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30052-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30052-2)
90. Nouman, W., Anwar, F., Gull, T., Newton, A., Rosa, E., & Domínguez-Perles, R. (2016). Profiling of polyphenolics, nutrients and antioxidant potential of germplasm's leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* Lam. *Industrial Crops and Products*, 83, 166-176. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.032>
91. Nouman, W., Basra, S. M. A., Yasmeen, A., Gull, T., Hussain, S. B., Zubair, M., & Gul, R. (2014). Seed priming improves the emergence potential, growth and antioxidant system of *Moringa oleifera* under saline conditions. *Plant Growth Regulation*, 73(3), 267-278. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9887-y>
92. OECD/OCDE (2022). OECD guideline for the testing of chemicals. Test guideline N°425. Acute oral toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP). Section 4 Health effects.
93. Ogundipe, A., Adetuyi, B., Iheagwam, F., Adefoyeke, K., Olugbuyiro, J., Ogunlana, O., & Ogunlana, O. (2022). In Vitro Experimental Assessment of Ethanolic Extract of *Moringa oleifera* Leaves as an  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Lipase Inhibitor. *Biochemistry Research International*, 2022, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2022/4613109>
94. Olaoye, A. B., Ologunde, C. A., Molehin, O. R., & Nwankwo, I. (2021). Comparative Antioxidant Analysis of *Moringa oleifera* Leaf Extracts from South Western States in Nigeria. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00204-8>
95. Olson, M. E. (2009). Combining Data from DNA Sequences and Morphology for a Phylogeny of Moringaceae (Brassicales). *Systematic Botany* 27, 55-73. DOI:[10.1043/0363-6445-27.1.55](https://doi.org/10.1043/0363-6445-27.1.55)
96. Olson, M. E., & Fahey, J. W. (2011). *Moringa oleifera* : A multipurpose tree for the dry tropics. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4), 1071-1082.
97. Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa*

- L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), 343-349. <https://doi.org/10.5455/jice.20160731025522>
98. Ossibi A.W, E., Miamb, L.R., M., & Abena, A.A., A. (2020). Evaluation des toxicités aigue et subaiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Tetracera potatoria* Ex. G. Don chez les rongeurs de laboratoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 45(3), 7980-7991. <https://doi.org/10.35759/JAnmPlSci.v45-3.3>
99. Özcan, M. M., Ghafoor, K., Al Juhaimi, F., Ahmed, I. A. M., & Babiker, E. E. (2019). Effect of cold-press and soxhlet extraction on fatty acids, tocopherols and sterol contents of the *Moringa* seed oils. *South African Journal of Botany*, 124, 333-337. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.010>
100. Padayachee, B., & Baijnath, H. (2020). An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. *South African Journal of Botany*, 129, 304-316. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.021>
101. Pareek, A., Pant, M., Gupta, M. M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., Pareek, A., & Chuturgoon, A. A. (2023). *Moringa oleifera* : An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2098. <https://doi.org/10.3390/ijms24032098>
102. Pereira, K. T. O., Benedito, C. P., Lopes, E. G., & Aquino, G. S. M. (2015). GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE *Moringa oleifera* Lam. EM. *Revista Caatinga*, 28(2).
103. Perveen, A., et Qaiser, M. (2009). Pollen flora of Pakistan—LXIII. Moringaceae. *Pakistan Journal of Botany* 41(3), 987-989.
104. Poggi, M.-P. (2018). Gestes de contextualisation et inégalités d'accès aux savoirs en éducation physique et sportive en milieu difficile. *Contextes et didactiques. Revue semestrielle en sciences de l'éducation*, 12, Article 12. <https://doi.org/10.4000/ced.1112>
105. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

106. Reis Mansur, M. C. P. P., Leitão, S. G., Cerqueira-Coutinho, C., Vermelho, A. B., Silva, R. S., Presgrave, O. A. F., Leitão, Á. A. C., Leitão, G. G., Ricci-Júnior, E., & Santos, E. P. (2016). In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(2), 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.006>
107. Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. (No Title). Consulté 26 juin 2024, à l'adresse <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130282271006259968>
108. Ruch, R. J., Cheng, S., & Klaunig, J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10(6), 1003-1008. <https://doi.org/10.1093/carcin/10.6.1003>
109. Ruiz-Ruiz, J. C., Matus-Basto, A. J., Acereto-Escoffié, P., & Segura-Campos, M. R. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6), 1424-1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>
110. Sakat, S., Tupe, P., Hule, A., & Juvekar, A. (2010). Anti-inflammatory potential of flavonoid fraction of *Tamarindus indica* Linn (seeds). *Planta Medica*, 76, SL\_20. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1264258>
111. Sankhyan, N., Sharma, A., Seth, C. A., Chauhan, A., & Kulshrestha, S. (2013). Determination and comparison of vitamin C content from moringa oleifera by different methods. *International Journal of Agricultural Science*, 3(2):67-70.
112. Shahzad, M. M., Hussain, S. M., Jabeen, F., Hussain, I., Ahmad, S., Ashraf, A., & Arsalan, M. Z.-H. (s. d.). *Effect of phytase supplementation on mineral digestibility to *Catla catla* fingerlings fed Moringa oleifera leaf meal based test diets.*
113. Shantabi, L., Jagetia, G., M, A., & Thaodem, T. S. (2014). Antioxidant properties of croton caudatus leaf extract in vitro. *Translational Medicine and Biotechnology*.
114. Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., & Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*, 112(4), 885-888. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.064>
115. Shivanna, R., Parizadeh, H., & Garampalli, R. H. (2017). in vitro anti-obesity effect of macrolichens heterodermia leucomelos and ramalina celastri by pancreatic lipase inhibitory assay. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(5), 137. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i5.13560>

116. Shon, M.-Y., Lee, J., Choi, J.-H., Choi, S.-Y., Nam, S.-H., Seo, K.-I., Lee, S.-W., Sung, N.-J., & Park, S.-K. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of *chungkukjang*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.08.003>
117. Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2144-2155. <https://doi.org/10.1021/jf020444+>
118. Singh, B. N., Singh, B. R., Singh, R. L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., & Singh, H. B. (2009). Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1109-1116. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.034>
119. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, p. 152-178). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
120. Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents : Mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579(1), 200-213. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.023>
121. Sreelatha, S., & Padma, P. R. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 303-311. <https://doi.org/10.1007/s11130-009-0141-0>
122. Su, B., & Chen, X. (2020). Current Status and Potential of *Moringa oleifera* Leaf as an Alternative Protein Source for Animal Feeds. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 53. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00053>
123. Sultana, B., & Anwar, F. (2008). Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*, 108(3), 879-884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.053>
124. Sultana, N. (2015). The Feeding Value of *Moringa* (*Moringa Oleifera*) Foliage as Replacement to Conventional Concentrate Diet in Bengal Goats. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(3), 164-173. <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.3.164.173>

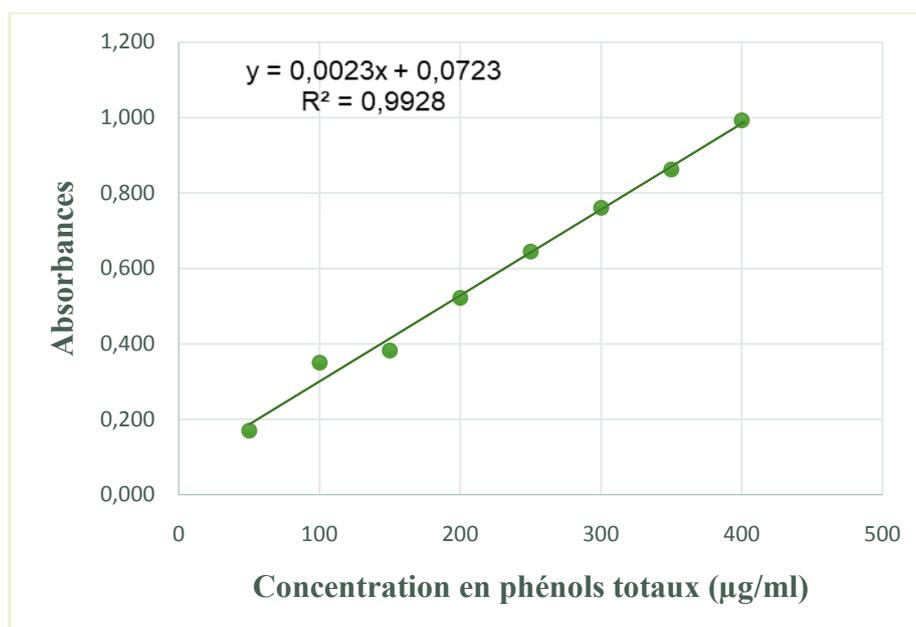
125. Suphachai, C. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7), 318-325. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5353>
126. Sy, A. N., Diorfall, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), Article 4. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i4.23>
127. Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4), 1111-1117.
128. Tijani, A. A. (2018). In-vitro and in-vivo determination of hydroxyl radical scavenging activity (hrsa) of fractions of aqueous extract of moringa oleifera leaves (aemol). *Eurasian Journal of Medicine and Oncology*. <https://doi.org/10.14744/ejmo.2018.46330>
129. Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998). Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research*, 47(2), 78-87. <https://doi.org/10.1007/s000110050284>
130. Verhaegen, D., & Plomion, C. (1996). Genetic mapping in *Eucalyptus urophylla* and *Eucalyptus grandis* using RAPD markers. *Genome*, 39(6), 1051-1061. <https://doi.org/10.1139/g96-132>
131. Viladomiu, M., Hontecillas, R., & Bassaganya-Riera, J. (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European Journal of Pharmacology*, 785, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.095>
132. Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>
133. Vongsak, B., Sithisarn, P., & Gritsanapan, W. (2013). Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions. *Industrial Crops and Products*, 49, 419-421. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.018>

134. Wang, Y., Gao, Y., Ding, H., Liu, S., Han, X., Gui, J., & Liu, D. (2017). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 218, 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.058>
135. Weil, A. A., Becker, R. L., & Harris, J. B. (2019). *Vibrio cholerae* at the Intersection of Immunity and the Microbiome. *mSphere*, 4(6), e00597-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00597-19>
136. Weill, B., & Batteux, F. (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur.
137. Xiao, X., Wang, J., Meng, C., Liang, W., Wang, T., Zhou, B., Wang, Y., Luo, X., Gao, L., & Zhang, L. (2020). *Moringa oleifera* Lam and its Therapeutic Effects in Immune Disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.56678>
138. Yadava, U. L. (1996). *Exotic Horticultural Plants with Commercial Potential in the United States Market : Introduction to the Workshop*. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.31.5.764>
139. Yala, J.-F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103, 9886-9893.
140. Yekhlif S. (2020). Physiologie de l'infection et inflammation. Service de pathologie et chirurgie buccales. <https://facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2023/11/PHYSIOLOGIE-DE-LINFLAMMATION-ET-LIFECTION.pdf>
141. Yunis Aguinaga, J., Claudiano, G. S., Marcusso, P. F., Ikefuti, C., Ortega, G. G., Eto, S. F., da Cruz, C., Moraes, J. R. E., Moraes, F. R., & Fernandes, J. B. K. (2014). Acute Toxicity and Determination of the Active Constituents of Aqueous Extract of Uncaria tomentosa Bark in Hyphessobrycon eques. *Journal of Toxicology*, 2014(1), 412437. <https://doi.org/10.1155/2014/412437>

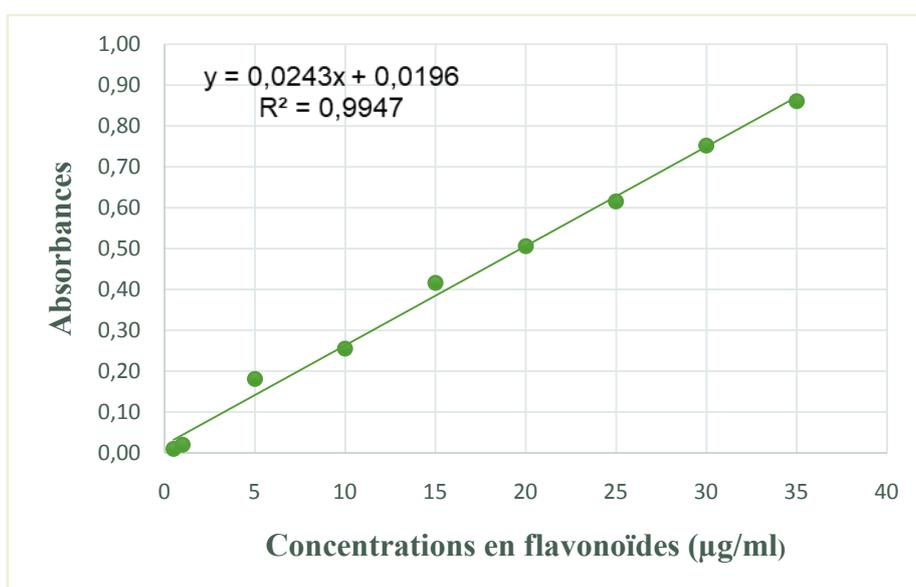
#### Site web consulté :

1. *Moringa drumsticks pods moringa-oleifera pod beans hanging on the...* (2023, avril 23). iStock. <https://www.istockphoto.com/photo/moringa-drumsticks-pods-moringa-oleifera-pod-beans-hanging-on-the-tree-suhanjna-gm1483904284-510390881>

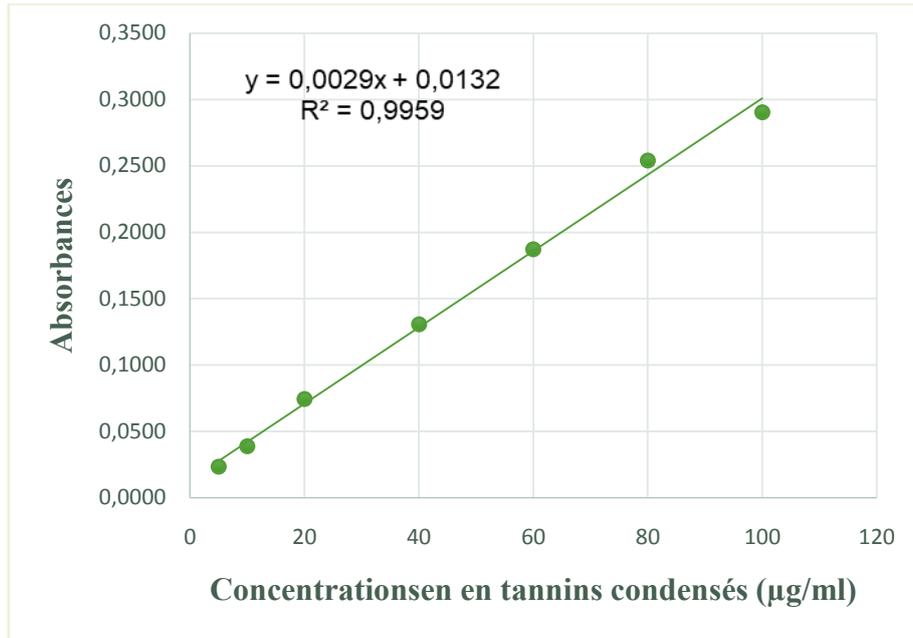
# Annexes



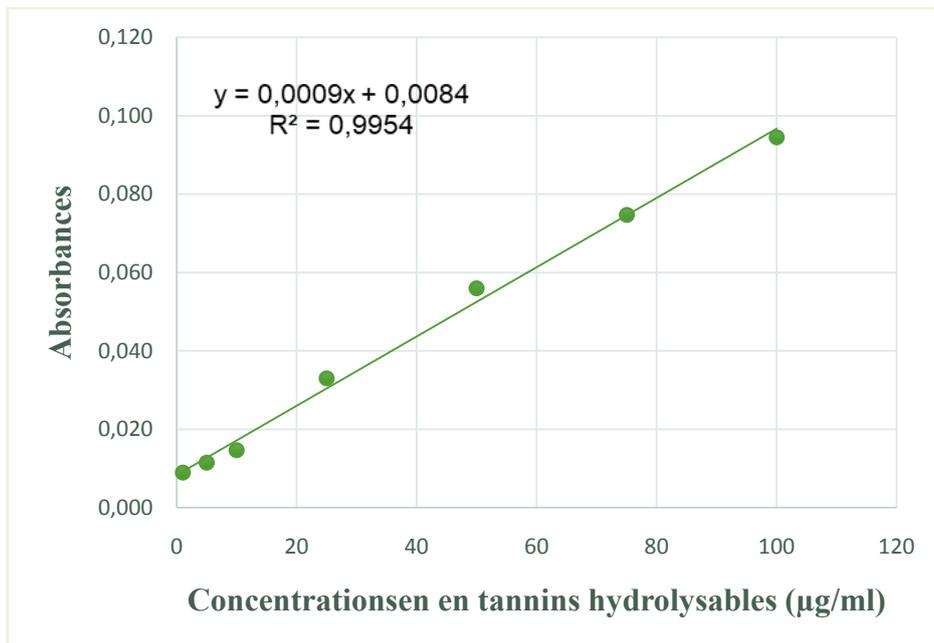
**Figure 01 :** Courbe d'étalonnage pour la détermination des teneurs en Phénols Totaux.



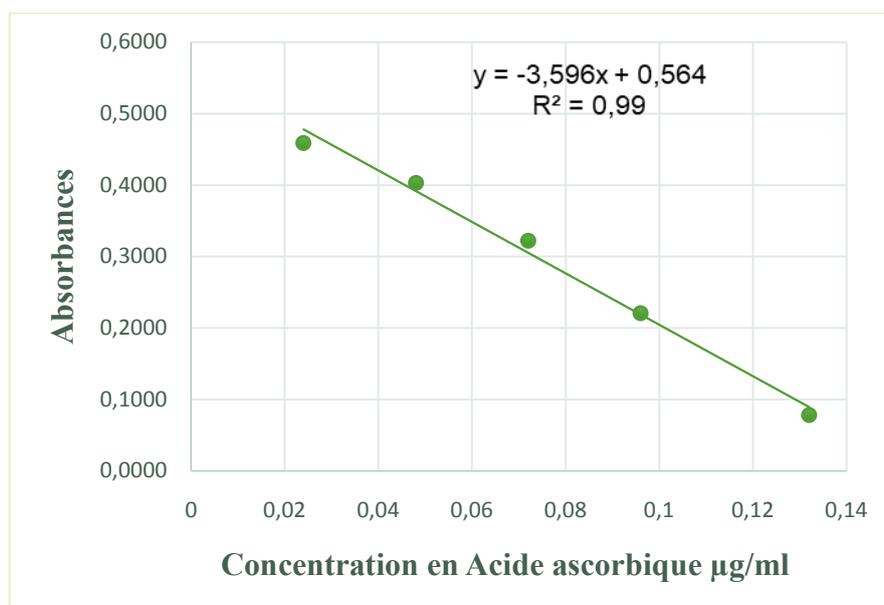
**Figure 02 :** Courbe d'étalonnage pour la détermination des teneurs en Flavonoïdes.



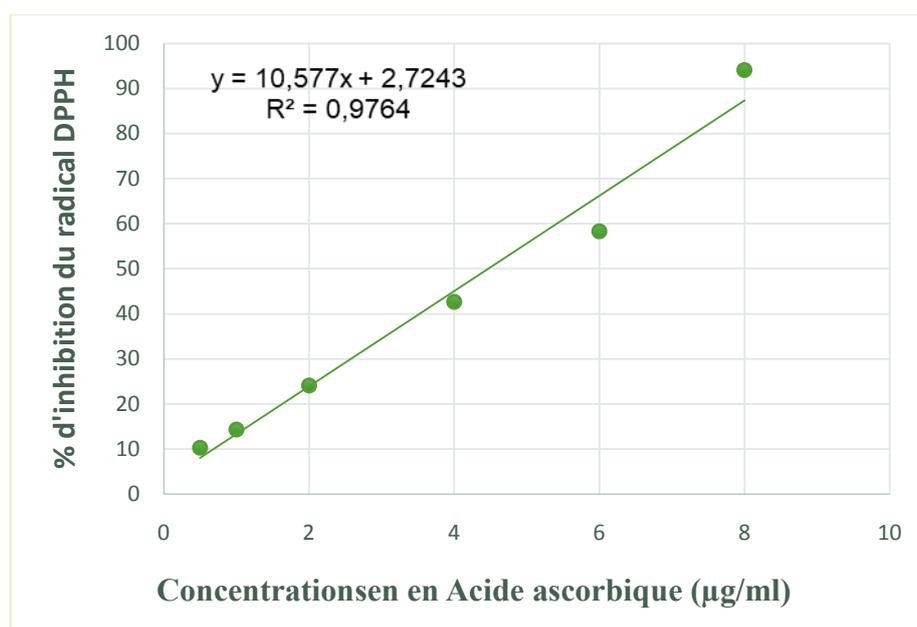
**Figure 03 :** Courbe d'étalonnage pour la détermination des teneurs en Tanins condensés.



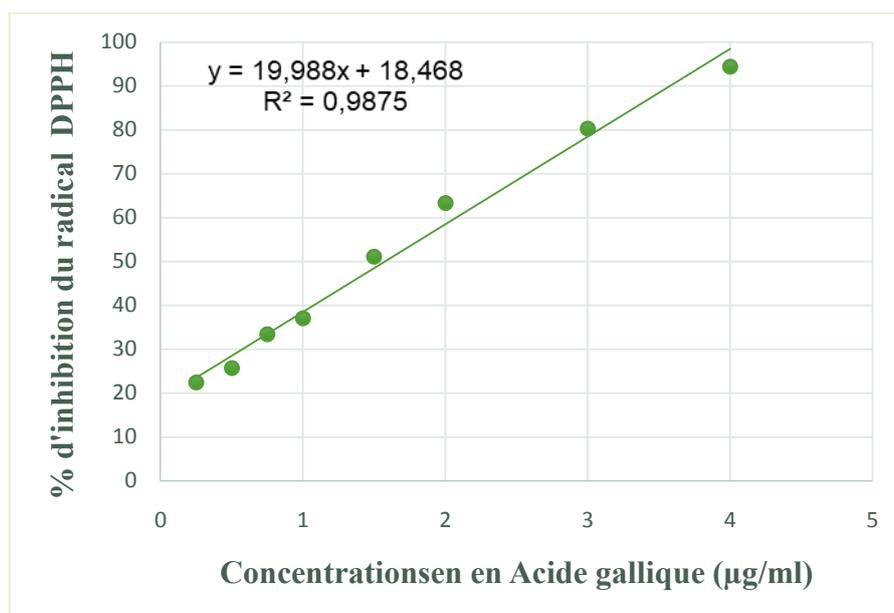
**Figure 04 :** Courbe d'étalonnage pour la détermination des teneurs en Tanins hydrolysables.



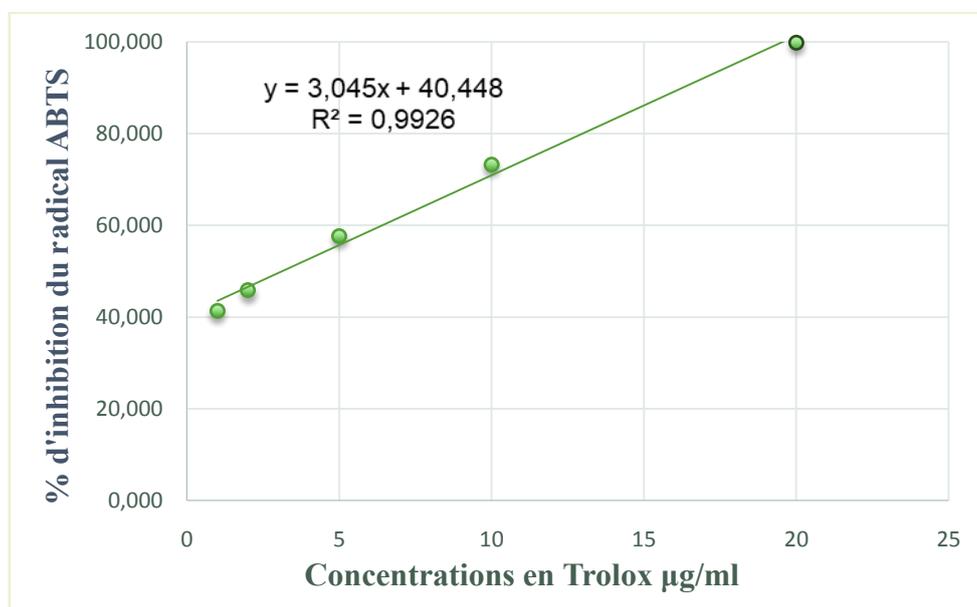
**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage pour la détermination des teneurs en Vitamine C.



**Figure 06:** Courbe d'étalonnage pour la détermination des % d'inhibitions du radical DPPH par l'Acide ascorbique



**Figure 07:** Courbe d'étalonnage pour la détermination des % d'inhibitions du radical DPPH par l'Acide gallique.



**Figure 08:** Courbe d'étalonnage pour la détermination des % d'inhibitions du radical ABTS par le Trolox



## Résumé

L'inflammation chronique et le stress oxydatif jouent un rôle crucial dans le développement de nombreuses maladies, tels que dans la pathogenèse d'une multitude de conditions handicapantes, allant des affections cardiovasculaires et des troubles neurodégénératifs aux maladies auto-immunes et au cancer. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont émergé comme des acteurs clés de ces processus inflammatoires, capables de déclencher une cascade d'événements cellulaires néfastes. Des niveaux élevés de ROS peuvent conduire à la modification oxydative des lipides, des protéines et de l'ADN, contribuant ainsi à la progression des maladies chroniques. Les substances phytochimiques présents dans les plantes, avec leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ont montré leur efficacité prometteuse dans l'atténuation des effets délétères du stress oxydatif et pourraient se révéler précieux dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydantes et anti-inflammatoires de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* dans un environnement *in-vitro*, ainsi que d'évaluer leur toxicité *in-vivo*. L'activité antioxydante a été évaluée par les tests de piégeage de : DPPH, ABTS, NO, OH et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Quant à l'activité anti-inflammatoire, elle a été évaluée par les tests de dénaturation de la BSA et de l'ovalbumine. Un test d'inhibition de l'alpha-amylase a également été utilisé pour évaluer l'activité enzymatique de *M. Oleifera*.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en lumière que l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *M. oleifera* est riche en composés phénoliques, notamment en polyphénols et flavonoïdes. Malgré des niveaux de tannins bas typiques de la plante, ces composés contribuent à ses nombreux bienfaits biologiques. Les études indiquent le potentiel de l'extrait pour traiter l'inflammation et ses fortes propriétés antioxydantes, capable de neutraliser efficacement les radicaux libres et d'inhiber la dénaturation des protéines. Des études *in vivo* montrent que l'extrait n'a aucun effet indésirable sur les paramètres hématologiques, biochimiques ou la fonction hépatique, confirmant sa sécurité pour une consommation par voie orale. L'activité anti-inflammatoire et antioxydante de *M. oleifera* pourrait être explorée davantage pour la gestion de la maladie parodontale, en tant que système de délivrance de médicaments local à développer avec l'extrait.

**Mots-clés :** Anti-inflammatoire, Antioxydant, *M. oleifera*, Activité enzymatique,

## Abstract

Chronic inflammation and oxidative stress play a crucial role in the development of many diseases; a pivotal role in the pathogenesis of a plethora of debilitating conditions, ranging from cardiovascular ailments and neurodegenerative disorders to autoimmune diseases and cancer. Reactive oxygen species (ROS) have emerged as key drivers of these inflammatory processes, capable of triggering a cascade of detrimental cellular events. Elevated levels of ROS can lead to the oxidative modification of lipids, proteins, and DNA, ultimately contributing to the progression of chronic diseases. Phytochemicals present in plants with antioxidant and anti-inflammatory properties have shown promise in mitigating the damaging effects of oxidative stress and may prove invaluable in the development of novel therapeutic strategies.

The aim of this study is to assess the antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts of *Moringa oleifera* leaves in an *in-vitro* environment, as well as to evaluate its toxicity *in-vivo*. Extract of *M. oleifera* leaves were prepared by maceration. Antioxidant activity was assessed by DPPH radical scavenging assay, ABTS assay, NO assay, OH assay and the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> assay. As for the anti-inflammatory activity, it was assessed by BSA Denaturation Assay, and Ovalbumin.  $\alpha$ -Amylase inhibition assay was used to evaluate *M. Oleifera* enzymatic activity.

The results obtained allowed us to highlight that The hydroalcoholic extract from *Moringa oleifera* leaves is rich in phenolic compounds, particularly polyphenols and flavonoids. Despite low tannin levels typical of the plant, these compounds contribute to its numerous biological benefits. Studies indicate the extract's potential for treating inflammation and its strong antioxidant properties, effectively scavenging free radicals and inhibiting protein denaturation. *In vivo* studies show the extract has no adverse effects on hematological, biochemical parameters, or liver function, confirming its safety for oral consumption. The anti-inflammatory and antioxidant activity of *M. oleifera* Lam. could be further explored for the management of periodontal disease as a local drug delivery system with the extract could be developed.

**Keywords:** Anti-inflammatory, Antioxydant, *M. oleifera*, Enzymatic activity,