



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers Département de BIOLOGIE

MÉMOIRE

Présenté par

Azza Menel

Mezerai Wiem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En : Biologie de la nutrition

Thème

**Évaluation in vitro de l'effet anti-inflammatoire et anti hémolytique
d'extrait hydro-méthanolique de graines de *Moringa oleifera*.**

Soutenu le Dimanche 18 juin 2023 devant le jury composé de :

Président	GUERMOUCHE BAYA	Pr	Université AboubekrBelkaid– Tlemcen
Encadrant	RAHOUI WALID	MCB	Université AboubekrBelkaid– Tlemcen
Examineur	MERZOUK AMEL	MCB	Université AboubekrBelkaid– Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Résumé :

L'inflammation est associée à de nombreuses maladies chroniques. La réduction de la dénaturation des protéines peut constituer une stratégie thérapeutique, en effet, les agents qui peuvent prévenir la dénaturation des protéines pourraient être efficace comme médicaments anti-inflammatoires, d'autre part le maintien de la stabilité membranaire joue un rôle dans la régulation du processus inflammatoire.

L'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro l'activité anti-inflammatoire d'extraits hydrométhanoliques à différentes concentrations de graines de moringa oliefera, en utilisant le test de l'inhibition de la dénaturation protéique et d'évaluer l'activité anti-hémolytique par un test de stabilité de la membrane de globule rouge.

Nos résultats montrent que l'extrait exerce un effet inhibiteur de la dénaturation du BSA important qui atteint un pourcentage d'inhibition de 72%, ainsi qu'un effet anti-hémolytique plus important que les molécules de références (diclorofenac et acide gallique), avec un pourcentage d'inhibition maximal (92,5 %) à la concentration optimale de 90µg/ml d'extrait. En conclusion, les graines de moringa oliefera, possède un potentiel anti-inflammatoire important par l'inhibition de la dénaturation des protéines et son effet anti-hémolytique.

Mots clés : moringa oliefera, graines, anti-inflammatoire, anti-hémolytique.

Abstract :

Inflammation, is, associated, with, numerous, chronic, diseases. Reducing, protein, denaturation, can, be, a, therapeutic, strategy. Indeed, agents, that, can, prevent, protein, denaturation, could, be, effective, as, anti-inflammatory, medications. On, the, other, hand, maintaining, membrane, stability, plays, a, role, in, regulating, the, inflammatory, process.

The, objective, of, this, study, is, to, evaluate, the, in, vitro, anti-inflammatory, activity, of, hydromethanolic, extracts, of, Moringa, oleifera, seeds, at, different, concentrations. This, will, be, done, by, using, the, protein, denaturation, inhibition, test, and, evaluating, the, anti-hemolytic, activity, through, a, red, blood, cell, membrane, stability, test.

Our, results, show, that, the, extract, has, a, significant, inhibitory, effect, on, BSA, denaturation, reaching, a, percentage, of, inhibition, of, 72%. Additionally, it, exhibits, a, greater, anti-hemolytic, effect, compared, to, reference, molecules, (diclofenac, and, gallic, acid), with, a, maximum, inhibition, percentage, (92.5%), at, the, optimal, concentration, of, 90µg/ml, of, extract.

In, conclusion, Moringa, oleifera, seeds, possess, significant, anti-inflammatory, potential, through, the, inhibition, of, protein, denaturation, and, their, anti-hemolytic, effect.

Keywords: Moringa, oleifera, seeds, anti-inflammatory, anti-hemolytic.

المخلص

الالتهاب مرتبط بالعديد من الأمراض المزمنة. يمكن أن تكون الحد من تحلل البروتين استراتيجية علاجية، حيث يمكن أن تكون العوامل التي تمنع تحلل البروتين فعالة كمضادات الالتهاب الدوائية. من ناحية أخرى، يلعب الحفاظ على استقرار الغشاء دورًا في تنظيم العملية الالتهابية.

هدف هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهاب في المختبر لمستخلصات الميثانول المائي من بذور شجرة المورينجا أوليفيرا، باستخدام اختبار تثبيط تحلل البروتين وتقييم النشاط المضاد للهيموليتيك من خلال اختبار استقرارية غشاء خلايا الدم الحمراء.

تظهر نتائجنا أن المستخلص يعمل على تثبيط تحلل البيومصل البشري بنسبة تصل إلى 72٪، ولديه تأثير مضاد للهيموليتيك أكبر من الجزيئات المرجعية (ديكلوروفيناكوكمض الغاليك)، مع نسبة تثبيط قصوى (92.5٪) عند تركيز مثلي قدره 90 ميكروغرام/ملم من المستخلص.

في الختام، تمتلك بذور شجرة المورينجا أوليفيرا إمكانات مهمة كمضاد للالتهاب من خلال تثبيط تحلل البروتين وتأثيرها المضاد للهيموليتيك.

الكلمات الرئيسية: مورينجا أوليفيرا، بذور، مضاد للالتهاب، مضاد للهيموليتيك

Remerciements

Tout d'abord, on tient à remercier DIEU de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

On exprime toute notre gratitude à Mr. RAHOUI WALID notre encadreur de thèse, pour son encadrement de qualité, sa patience et gentillesse durant cette année de notre thèse. Il nous a beaucoup aidé à orienter ce travail, et également nous a encouragé pendant les périodes difficiles.

On tient à exprimer aussi tous nos remerciements aux membres de jury, qui ont accepté d'évaluer notre travail de thèse et de reformuler leurs remarques constructives.

Nous tenons à saluer tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

Merci également à tous ceux qui un jour ou l'autre nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

Wiem et Manel

Dédicas

À l'aide d'Allah le tout-puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*À ma source d'inspiration, mon exemple éternel, celui qui a souffert sans me laisser souffrir et qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. J'espère qu'il sera toujours fier de moi. Mon cher père **Ismail**.*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : ma adorable mère **Nadia**.*

Que Dieu vous protège, procure santé, bonheur et vous garde pour nous.

*À mes chers frères **Rayen, Mounir et Mohammed**.*

*À mon grands-pères et mes grands-mères **Mohammed RABI YRHO, Zohra, Fatima et Abdellah**.*

*À tous mes cousines notamment **Farah, Imen, Fadoua, Noria, Israa, Ranim, Tesnim, Amel et son mari**. Et précisément mes proches cousines **Sara, Chaïmaa, Manel et Lina**. Mes cousins **Abdesamad, Djawad, Ismail, Ilyes, Hichem, Houari, Yacine et Nadir**.*

*À tout la famille **Mezerai et Foukia**.*

*À toutes mes amies qui j'ai vécu avec elles de beaux moments : **Besma, Meriem Mezouer, Zoubida, Amina, Anfel Boudj** et mon chère binôme **Manel**.*

*À mes chères collègues, mes compagnes depuis l'enfance : **Meriem, Nesrine et Nour El-houda**, qui ont toujours été à mes côtés. Merci infiniment.*

À ceux que j'aime.

WIEM

Dédicace

A ma très chère maman « NOR EL HOUDA »

Si Dieu a mis le paradis sous les pieds des mères, ce n'est pas pour rien. Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon chère papa « DJAMEL »

Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que Dieu le garde et le protège.

A mes très chères « Sœurs »

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A ma chère binôme « WIEM » A la plus belle rencontre que j'aie eu dans mon parcours universitaire je suis tellement honoré d'être ton binôme dans ce travail ; je te souhaite que du bonheur et de la réussite dans ta vie.

MENEL

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I plante étudiée Moringa Oliefera.....	3
I.1.Déscrption botanique	3
I.2.Origines et répartition géographique	5
I.3.Dénomination vernaculaire	5
I.4.Usages	5
I.4.1. Usage traditionnel.....	6
I.4.2. Usage culinaire	6
I.4.3. Utilisations industrielles	6
I.4.4. Utilisation en agriculture	6
I.5.Phytochimie de la plante.....	7
I.6.Activités biologiques	8
I.7.Toxicité.....	9
Chapitre II :L'inflammation	10
II.1. Définition	10
II.2. La dénaturation protéique.....	10
II.3. La lyse des lysosomes	11
II.4. Traitement d'inflammation	11
II.5. Méthodes utilisées dans l'étude de l'activité anti inflammatoire	13
II.6. L'hémolyse	13
Matériel et Méthodes	14

1 Préparation du matériel végétal	14
2. Préparation d'extrait	14
3. Détermination du rendement	17
4. Dosage des polyphénols totaux	17
5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro	18
6. Evaluation de l'activité anti-hémolytique in-vitro.....	19
6.1. Préparation de la suspension des globules rouges humain	19
6.2. Mesure de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de Oleifera.....	19
Résultats et Interprétation	20
1. Rendement d'extraction et teneur polyphénols totaux.....	21
2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro	21
3. Evaluation de l'effet anti-hémolytique d'extrait de M. Oleifera sur la stabilisation de La membrane des globules rouges.....	23
Discussion	26
Conclusion	29
Références bibliographiques.....	30
Résumé.....	35
Annexes	40

Liste des abréviations :

AC :	Absorbance du control.
AG :	Acide gallique.
AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdiens.
AIS :	Anti-inflammatoire stéroïdiens.
AT :	Absorbance du test.
BSA :	Albumine de sérum bovine.
COX :	Cyclo-oxygénase.
DL50 :	Dose létale 50.
ERO :	Espèces réactives oxygénées.
GRh :	Globules rouges humain.
HSP :	Protéine de choc thermique.
LAMP2 :	Protéine membranaire associée aux lysosomes.
M-oliefera :	Moringa oleifera.
PBS :	Phosphate buffered saline.
PM :	Plante médicinale.

Listes des figures :

Figure 01 :Le tronc de moringa oleifera.....	05
Figure 02 :Les branches de moringa oleifera.....	05
Figure 03 :Les feuilles de moringa oleifera.....	05
Figure 04 :Les fleures de moringa oleifera.....	05
Figure 05 :Les fruits de moringa oleifera.....	05
Figure 06 :Les grains du moringa oleifera.....	05
Figure 07 :Répartition géographique du moringa.....	06
Figure 08 :Préparation de l'extrait brut.....	16
Figure 09 :Protocole de dosage des polyphénols.....	17
Figure 10 :Etapas de la préparation du suspension érythrocytaire.....	19
Figure 11 :Suspension érythrocytaire.....	19
Figure 12 :Etapas du test d'hémolyse.....	20
Figure 13 :Inhibition de la dénaturation protéique par l'extrait de moringa oleifera.....	22
Figure 14 : Inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac.....	22
Figure 15 :Comparaison entre l'inhibition de dénaturation protéique par le diclofénac et l'extrait M.oleifera.....	23
Figure 16 :Effet de l'acide gallique et diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.....	24
Figure 17 :Effet anti-hémolytique de l'extrait de M.oleifera sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.....	25

Figure 18 :Effet anti-hémolytique de l'extrait de *M.oleifera* comparé a celui de l'acide gallique et du diclofénac.....**25**

Listes des tableaux :

Tableau 01 : la taxonomie de moringa oleifera.....	03
Tableau 02 : Phyto chimie du moringa oleifera.....	08
Tableau 03 :Rendement d'extraction et teneur en polyphénols.....	21

. Annexe :

Annexe A1 : Méthodes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	37
Annexe A2 : la courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	40

Les plantes ont depuis toujours été utilisées par les populations pour se soigner. Aujourd'hui, dans les pays en voie de développement, elles représentent encore la première source de substance thérapeutique.

Les plantes et les produits végétaux ont été documentés pour posséder des propriétés curatives, y compris anticancéreuses, antidiabétiques, antihypertensives...etc. Certains métabolites secondaires des plantes étaient la source probable de leur « vertu curative » caractéristique. Ils sont très bénéfiques pour la santé humaine, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les glycosides, les phénols, les anthocyanes et plusieurs autres (Olaolu et al., 2014). Plusieurs pays d'Afrique, y compris l'Algérie, mènent des investigations visant à développer des médicaments issus de plantes à usage médical traditionnelle, en menant des études pharmaco-toxicologiques, phytochimiques, et cliniques pour la mise au point de nouveaux médicaments.

L'Algérie, le plus grand pays de la méditerranée est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques notamment dans le Sahara, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays.

Parmi les plantes médicinales recensées à ce jour *Moringa oleifera*, l'espèce la plus cultivée de la famille des Moringaceae, elle est aussi appelée « arbre de la vie ». C'est un arbuste, originaire du Sud-Asie, Afrique, Pacifique et des îles Caraïbes (Alhakmani et al., 2013).

Cet arbre présent dans la région du sud algérien est très peu connu et très peu étudié. Toutes les parties de la plante sont utilisées grâce à leur richesse en antioxydants ; anti-inflammatoires et anti-obésité naturels comme les flavonoïdes, les protéines, les fibres, les polyphénols et presque toutes les vitamines. Les feuilles et les graines de *Moringa oleifera* sont une bonne source de composés bioactifs qui stimulent le système immunitaire contre les maladies, ainsi parmi les moyens de lutte contre le développement des maladies est la prévention de l'état inflammatoire associés aux différentes maladies chroniques comme l'obésité, diabète et les cancers (Udikala et al., 2017 ; Punitha et al 2019 ; Talreja et Tiwari, 2020).

Parmi les conséquences de l'inflammation est la dénaturation protéique, elle est associée à de nombreuses maladies chroniques (Macedo et al., 2021). La réduction de la dénaturation des protéines peut constituer une stratégie thérapeutique, en effet, les agents qui peuvent prévenir la dénaturation des protéines pourraient être efficaces comme médicaments anti-inflammatoires (Sridevi et al, 2021 ; Wang et al., 2021).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro l'activité anti-inflammatoire d'extraits hydro-méthanoliques à différentes concentrations de graines de *moringa oliefera*, en utilisant le test de l'inhibition de la dénaturation protéique et d'évaluer l'activité anti hémolytique par un test de stabilité de la membrane de globule rouge.

I.1. Description botanique

Moringa oleifera fait partie de la famille des plantes à fleurs, une famille monogénique d'arbres et d'arbustes contenant environ 14 espèces. (Malo ; 2014). Sa taxonomie est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 1 :taxonomie du *moringa oleifera*.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobinota
Super division	Dpermatophyte
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Moringaceae
Genre	Moringa
L'espèce	Oleifera

Le moringa est une plante herbacée vivace à croissance rapide qui atteint des hauteurs de 7 à 12 mètres et des diamètres de tronc de 20 à 40 cm, composée de :

- **Tige**

Elle est généralement droite (**Figure 1**), mais peut être très sous-développée. Il atteint généralement 1,5 à 2 mètres de hauteur avant de se ramifier, mais peut atteindre 3 mètres dans certains cas (**Louni, 2009**).

- **Branches**

Elles poussent de manière chaotique et la cime est en forme de parasol (**Figure 2**).

- **Feuilles**

Les feuilles bipennée souterpennée salternées apparaissent principalement sur les parties terminales des branches (**Figure 3**). Elles mesurent 20 à 70 cm de long, sont couvertes de peluches grises lorsqu'elles sont jeunes, et ont de longs pétioles à 8 à 10 paires de pennes (**Louni, 2009**).

- **Fleurs**

Les fleurs mesurent 2,5 cm de diamètre sous forme de grappes axillaires et retombantes de 1025 cm (**Figure 4**). Elles sont généralement abondantes et dégagent un parfum agréable. De couleur blanche ou crème avec un point jaune à la base (**Hédji et al, 2014**).

Fruits

Le fruit forme une gousse à 3 lobes de 20 à 60 cm de long et pend de la branche (**Figure 5**).

Chaque gousse contient 12 à 35 graines (**Louni, 2009**)

- **Graines**

Les grains sont rondes et ont une coque brune semi-perméable(**Figure 6**). Un arbre produit 15 000 à 25 000 graines par an. Les grains present en moyenne 0,3 g et l'enveloppe représente 25 % du poids des graines (**Maevalandy, 2006**)

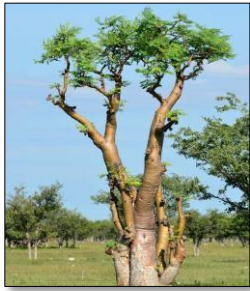


Figure 1 le tronc du moringa



Figure 2 les branches du moringa(**Parotta, 2009**)



Figure 3 les feuilles de moringa (**Louni, 2009**)



Figure 4 les fleurs de moringa(**saint saveur et broin, 2010**)



Figure 5 les fruits du moringa(**Roloff et al ; 2009**)



Figure 6 les graines du moringa (**Abderrezak et al , 2010**)

I.2. Origines et répartition géographique

Moringa oleifera (*M.oleifera*) est originaire de la région himalayenne de l'Inde, mais est maintenant largement cultivé dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales du monde. Le moringa est cultivé dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie, d'Amérique centrale et du Sud et dans certaines parties du Moyen-Orient. Il est couramment cultivé dans des pays tels que l'Inde, les Philippines, le Pakistan, le Népal, le Bangladesh, le Sénégal, le Kenya, le Ghana, le Malawi, le Nicaragua, le Honduras et le Pérou (**Figure 7**). Le *M.oleifera* pousse bien dans les sols secs et pauvres en éléments nutritifs, ce qui en fait une culture utile pour les communautés rurales aux ressources limitées.(Malo , 2014).

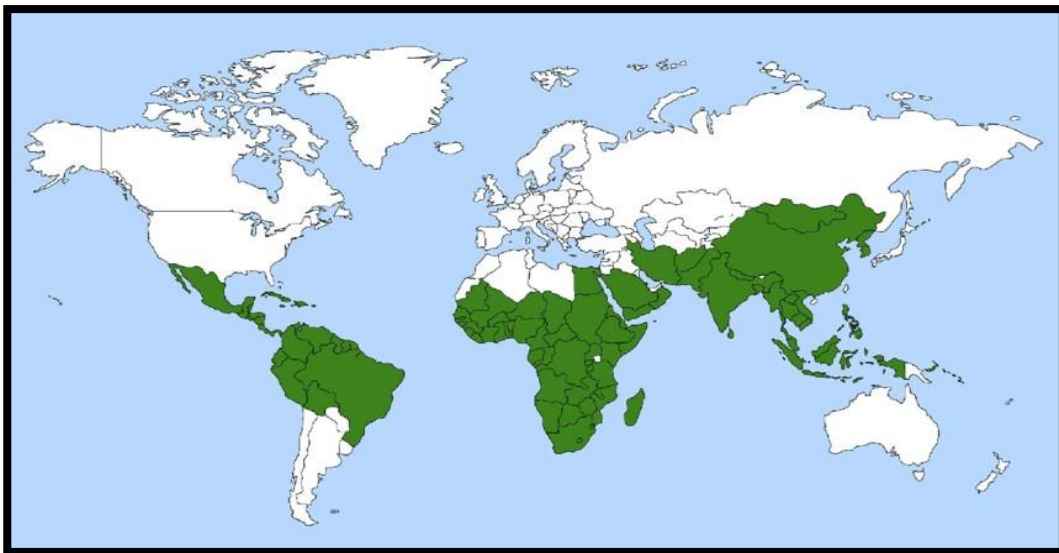


Figure 7:Répartition géographique du moringa (Trees for life ; 2013)

I.3. Dénomination vernaculaire

Cette plante est connue sous de nombreux noms locaux, selon la région géographique et la langue utilisée.

- **Nom scientifique :** *Moringa oleifera* lamark.
- **Nom vernaculaire :** « Moringa » est dérivé de la langue indienne Malayalam murunga
(Agroconsult ; 2016)

I.4. Usages

Les plantes de Moringa sont des plantes incroyablement polyvalentes et bénéfiques. C'est une plante importante pour ses bienfaits nutritionnels, médicinaux et environnementaux.

I.4.1. Médecine traditionnelle

Les nombreuses applications médicinales du moringa lui ont valu le nom d'arbre à miracles toutes les parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle (**Garima M. et al ; 2011**).

M.oleifera est largement utilisée en Algérie dans le traitement de l'ascite, des rhumatismes, des morsures venimeuses et comme stimulant cardiaque et circulatoire.

M. oleifera est utilisée dans certains programmes de lutte contre la malnutrition (**Saint sauveur et Broin, 2006**) ; La présence de divers types de composés antioxydants fait de cette plante une source précieuse d'antioxydants naturels (**Singh et Prasad, 2013**), une puissante antiprolifération des cellules cancéreuses (**Charoensin, 2014**). Presque toutes les parties (fleurs, graines, feuilles et fruits) de cette plante sont traditionnellement utilisées à des fins diététiques ou thérapeutiques (**Zhonga et al., 2018**).

I.4.2. Usage culinaire

La plante *M.oleifera* est de plus en plus utilisée en cuisine en raison de ses excellentes propriétés nutritionnelles. Les feuilles de *M.oleifera* sont souvent utilisées pour faire des thés et des décoctions très riches en nutriments et en antioxydants (**Amaglo et al., 2020**). Il est également utilisé pour préparer des soupes, des ragoûts et des sauces en raison de son goût agréable et de sa haute valeur nutritionnelle (**Padla, et al., 2018**). Les grains peuvent être utilisés pour produire une huile comestible au goût agréable riche en acides gras insaturés. La racine peut être utilisée pour préparer des plats épicés ou pour aromatiser des soupes et des sauces. (**Saini et al., 2020**).

I.4.3. Utilisations industrielles

Les graines de *M.oleifera* peuvent être utilisées pour produire du biocarburant. Elle est également utilisée dans la fabrication de cosmétiques tels que les crèmes (**Ferreira et al., 2020**).

I.4.4. Utilisations en agriculture

Les feuilles, les graines et les gousses peuvent être utilisées comme aliments pour animaux, ce qui en fait une source importante de protéines, de minéraux et de vitamines pour le bétail

(Ferreira et al., 2020). Les feuilles sont également utilisées comme engrais naturel pour les cultures car elles sont riches en nutriments tels que l'azote, le phosphore et le potassium (Ferreira et al., 2020).

I.5. Phytochimie de la plante

La composition chimique des feuilles, des graines de *M.oleifera* a été largement étudiée, y compris les composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, ainsi les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes. Tous sont notés dans le Tableau 2. (Fakurazi et al., 2013 ; Kumar et al.,2016 ; Yassa et al.,2019).

Tableau 2 :Phytochimie du *Moringa oleifera*.

Familleschimiques	Composés
Composés phénoliques (flavonoïdes et acidesphénoliques)	La quercétine, Kaempférol, Acide chlorogénique, acide gallique, Acide férulique, Vanilline, Acide caféique, L'acide ellagique, Catéchine, la rutine et la lutéoline
Saponines	sapogénine
Terpènes	Le limonène, le phytol, le bêta-carotène, le linalol
Alcaloïdes	marumoside A, marumoside b, l'acetate ,moringine , moringinine
Stérols	β -sitostérol, β -Sitosterone, campesterol

I.6. Activités biologiques

Anti-hypertensive : Les feuilles de *M. oleifera* ont des propriétés anti-hypertensives, qui sont liées à la présence de composés bioactifs tels que les thiocyanates, les isothiocyanates et les nitrates. La prise de capsules de feuilles de *M.oleifera* pendant 12 semaines a entraîné une réduction significative de la pression artérielle systolique et diastolique chez les personnes atteintes d'hypertension (**Ezeigbo et al., 2021**).

Anti-hyperglycémique : La *M.oleifera* a des propriétés anti-hyperglycémiques qui peuvent être utiles pour le traitement du diabète. Ces propriétés sont liées à la présence de composés bioactifs tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les glycosides. Les feuilles de *Moringa oleifera* ont entraîné une réduction significative de la glycémie chez les rats diabétiques (**Kumaret al., 2020**).

Antioxydants : la moringa est riche en antioxydants tels que la quercétine, le kaempférol et l'acide chlorogénique, qui aident à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. (**kumari et al .2019**)

Hypolipémiants : la *M.oleifera* peut aider à réduire les niveaux de cholestérol et de triglycérides dans le sang, ce qui peut aider à prévenir les maladies cardiovasculaires.

Antimicrobiens et antifongiques : La moringa contient des composés bioactifs tels que les niazimicines, les isothiocyanates et les flavonoïdes, qui ont des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (**Toma, 2020**)

Immuno- modulateur et anti-inflammatoire : les graines de *M.oleifera* ont des propriétés anti-inflammatoires en raison de la présence des acides phénoliques, les flavonoïdes et les saponines. Selon les études précédentes, l'extrait de feuilles de *M.oleifera* réduit l'inflammation chez les rats souffrant d'arthrite (**Jinet al., 2020**), ainsi réduit l'inflammation chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (**Waterman et al., 2014**). Les feuilles ont des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques qui peuvent aider à soulager les douleurs articulaires et musculaires. Les feuilles peuvent également aider à réduire l'enflure et à améliorer la mobilité des articulations (**Aslam & Anwar, 2020**).

M. oleifera a des propriétés immunomodulatrices, ce qui signifie qu'elle peut aider à réguler le système immunitaire. Ces propriétés sont liées à la présence des polysaccharides et les protéines. Une étude a montré que l'administration d'extrait de feuilles a augmenté la production

de cytokines anti-inflammatoires et amélioré la réponse immunitaire chez les souris(Adama, et al., 2021).

Anti-anémique : Les feuilles de *Moringa oleifera* sont riches en fer et en acide folique, deux nutriments importants pour la production de globules rouges. Elle peut aider à traiter l'anémie, une condition caractérisée par une faible numération de globules rouges. La consommation de jus de feuilles de *Moringa* pendant 60 jours a augmenté la numération de globules rouges chez les femmes atteintes d'anémie (Alomari et al., 2021).

I.7. Toxicité

Une étude évaluant la toxicité aiguë d'un extrait aqueux de feuilles de moringa a été publiée par Awodele et al. (année 2012). L'extrait a été administré par voie orale et péritonéale à 5 souris à différentes doses de 400-6400 mg/kg par voie orale et 250-2000 mg/kg par voie intrapéritonéale. Les résultats après 24 heures n'ont montré aucune toxicité orale. En revanche, la DL50 intrapéritonéale (dose qui tue 50 % de la population étudiée) était de 1585 mg/kg, et les animaux présentaient des signes de toxicité au-delà de 2000 mg/kg. En parallèle de ces études, des souris ont reçu différentes doses d'extrait aqueux de feuilles pendant 60 jours pour évaluer la toxicité subchronique. De légers signes de toxicité ont été observés chez les souris au-dessus de 1600 mg/kg. Des signes de toxicité ont été rapportés par Asare et al. (2012) ont également observé pour 3000 mg/kg d'extrait aqueux de feuilles dans le cadre d'un complément alimentaire. Cependant, aucun risque pour la santé n'a été observé à une dose de 1000 mg/kg. Une autre étude a examiné les effets toxiques de l'extrait de feuille de *M. oleifera* sur des hépatocytes humains. Les résultats ont montré que l'extrait avait un effet cytotoxique dose-dépendant, c'est-à-dire que des doses plus élevées étaient plus toxiques pour les cellules. Cependant, les auteurs concluent que l'herbe est généralement sans danger lorsqu'elle est utilisée à faible dose. (Ramírez-Anguiano et al., 2020). Ces résultats montrent que le moringa est une plante comestible hautement nutritive. Il peut être pris tant que la dose et la durée d'utilisation recommandées sont respectées. Certaines parties de la plante ont des propriétés induisant des fausses couches, les femmes enceintes doivent donc faire preuve d'une extrême prudence lors de leur utilisation (Rani et al, 2018).

II. 1. Définition

L'inflammation est une réponse immunitaire complexe qui peut être déclenchée par des infections, des blessures, des maladies auto-immunes et des facteurs environnementaux tels que le stress et la pollution. Elle se caractérise par une augmentation de la circulation sanguine dans la région touchée, accompagnée de chaleur, de rougeur, de douleur, d'enflure et de perturbations des fonctions physiologiques normales **(Nathan, 2022)**. Cette réponse inflammatoire est essentielle pour la guérison des tissus endommagés, car elle permet d'attirer les cellules immunitaires et de détruire les agents pathogènes. Cependant, une inflammation chronique peut causer des dommages tissulaires et contribuer au développement de maladies chroniques telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires et certains cancers **(Libby et al, 2021)**.

Des recherches récentes ont également mis en évidence le rôle de l'alimentation et du microbiome intestinal dans la régulation de l'inflammation. Une alimentation riche en fibres alimentaires, en polyphénols et en acides gras oméga-3 peut aider à la réduire, tandis qu'une alimentation riche en graisses saturées, en sucres ajoutés et en aliments transformés peut contribuer à l'inflammation chronique **(Calder et al, 2021)**.

De nouveaux traitements pour réguler l'inflammation dans le cadre de maladies chroniques sont également en cours de développement, notamment des médicaments ciblant spécifiquement les cytokines et les médiateurs inflammatoires **(Villarino et al, 2022)**.

II.2. La dénaturation protéique

La dénaturation protéique est un processus dans lequel une protéine perd sa structure tridimensionnelle et sa fonctionnalité, ce qui peut entraîner diverses conséquences pour les cellules et les tissus. Des recherches récentes ont montré que la dénaturation protéique peut être associée à de nombreuses maladies, telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et le cancer **(Macedo et al., 2021)**. En outre, la dénaturation protéique peut également être causée par des facteurs environnementaux, tels que la chaleur, le stress oxydatif et l'acidité, qui peuvent endommager les cellules et entraîner une réponse inflammatoire **(Chen et al., 2021)**.

La réduction de la dénaturation des protéines peut également être une méthode pour montrer la capacité anti-inflammatoire d'un produit, car la dénaturation des protéines est un processus pathologique qui altère leur fonctionnalité **(Sridevi et al., 2021)**.

En réponse à la dénaturation protéique, les cellules peuvent activer des protéines de choc thermique (HSP), qui peuvent aider à renaturer ou éliminer les protéines dénaturées (**Li et al., 2020**). Cependant, si les protéines dénaturées ne sont pas éliminées, elles peuvent devenir auto-antigéniques et déclencher une réponse inflammatoire (**Tang et al., 2020**).

La réponse inflammatoire est un processus complexe impliquant divers types de cellules, tels que les macrophages, les lymphocytes T et les cellules dendritiques. Cette réponse peut être déclenchée par des signaux pathogènes ou des signaux endogènes, tels que les protéines dénaturées. Dans certains cas, une réponse inflammatoire non immune peut conduire à une inflammation immune, où les cellules du système immunitaire attaquent les tissus sains (**Kaiser et al., 2021**).

Enfin, la phase d'élimination de la dénaturation protéique est essentielle pour empêcher la formation d'agrégats de protéines et restaurer la fonctionnalité des protéines dénaturées. Des stratégies thérapeutiques visant à renforcer cette phase d'élimination peuvent donc être utiles dans le traitement de maladies associées à la dénaturation protéique (**Wang et al., 2021**). Un produit qui peut prévenir la dénaturation des protéines pourrait être efficace comme agent anti-inflammatoire (**Sridevi et al., 2021**).

II.3. La lyse des lysosomes

La lyse des lysosomes est un processus complexe qui peut être déclenché par divers stimuli, tels que l'inflammation ou l'exposition à des substances nocives. Des études récentes ont mis en évidence le rôle crucial des protéines lysosomales dans la régulation de ce processus.

Il a été montré que la protéine membranaire LAMP-2A est essentielle pour maintenir l'intégrité de la membrane lysosomale et prévenir la libération des enzymes lysosomales dans le cytoplasme (**Sato et al., 2018**).

Enfin, la lyse des lysosomes peut avoir des conséquences pathologiques importantes. Par exemple, une accumulation excessive de lipides dans les lysosomes peut conduire à des maladies lysosomales telles que la maladie de Gaucher ou la maladie de Niemann-Pick (**Cheng et al., 2021**). La recherche continue dans ce domaine est donc cruciale pour mieux comprendre les mécanismes régulant la lyse des lysosomes et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour les maladies lysosomales et les pathologies associées.

II.4. Traitement d'inflammation

Le terme anti-inflammatoire stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens est connue comme traitement actuel de l'inflammation. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus

souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long terme.(**Rahmani et al., 2016**).

- **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une classe médicamenteuse hétérogène du point de vue chimique où l'aspirine est le chef de ces anti-inflammatoires. Ils sont utilisés en médecine ambulatoire pour leur action antalgique et antipyrétique et antiagrégant plaquettaire(**Pillon, 2014**). Leur efficacité est liée à leur mécanisme d'action principal qui est l'inhibition des enzymes cyclo-oxygénases qui peuvent augmenter le risque d'insuffisance cardiaque (**Orliaguet et al., 2013 ; Arfe et al., 2016**).

- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

Les anti-AIS (anti-inflammatoires stéroïdiens) sont une classe de médicaments dérivés du cortisol qui jouent un rôle important dans la régulation du tonus des vaisseaux sanguins et le maintien de divers systèmes homéostatiques. Selon des sources récentes, les glucocorticoïdes exercent une action anti-inflammatoire en inhibant l'activité de la phospholipase A2, une enzyme qui catalyse la synthèse de prostaglandines (**Guilpain & Le Jeune, 2012**). Cette inhibition est médiée par la régulation de la transcription et de l'expression des médiateurs inflammatoires tels que les cytokines (comme l'interleukine 1 et 2, TNF-alpha) et les neuropeptides (tels que le CRF, l'ACTH et la bêta-endorphine) (**Orliaguet et al., G., 2013**). Cependant, malgré leur efficacité dans le traitement de nombreuses maladies inflammatoires, les AIS peuvent également entraîner des effets secondaires indésirables, tels que l'hypertension artérielle, l'hyperglycémie et l'ostéoporose (**Dejean & Richard, 2013**).

- **Anti-inflammatoires d'origine végétale**

Des études ont montré que certains extraits de plantes peuvent réduire l'inflammation dans le tractus gastro-intestinal. Par exemple, l'extrait de réglisse peut réduire l'inflammation de la muqueuse gastrique en inhibant la production de cytokines inflammatoires et en augmentant la production de mucus protecteur (**Ghosh et coll., 2019**). De même, l'extrait de camomille peut réduire l'inflammation dans le colon en inhibant la production de cytokines inflammatoires et en régulant l'équilibre de la flore intestinale (**Kazemi et coll., 2020**). Les extraits de plantes peuvent également avoir des effets anti-inflammatoires dans le contexte de maladies neurologiques telles que la maladie d'Alzheimer. Par exemple, l'extrait de ginkgo biloba peut réduire l'inflammation dans le cerveau en inhibant la production de cytokines inflammatoires et en régulant l'activité des cellules gliales (**Savaskan et coll., 2019**). De même, l'extrait de

curcuma peut réduire l'inflammation dans le cerveau en inhibant la production de cytokines inflammatoires et en régulant l'activité des cellules immunitaires du cerveau appelées microglies(Cohen et coll., 2019). Enfin, ces extraits peuvent également avoir des effets anti-inflammatoires dans le contexte des maladies cardiovasculaires. Par exemple, l'extrait de thé vert peut réduire l'inflammation dans les vaisseaux sanguins en inhibant la production de cytokines inflammatoires et en régulant l'activité des cellules endothéliales (Nassiri-Asl et coll., 2020).

II.5. Méthodes utilisées dans l'étude de l'activité anti-inflammatoire

Diverses méthodes ont été mises en œuvre pour mesurer l'effet anti-inflammatoire des extraits de plantes médicinales. Quelques méthodes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo et in vitro sont résumées dans l'Annexe A1.

Parmi ces protocoles d'évaluation des agents anti-inflammatoires in vitro, la méthode de stabilisation de la membrane du globule rouge humain (GRh), en effet, les GRh sont considérés comme modèle pour étudier l'inflammation car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane du lysosome et sa stabilisation implique que l'extrait testé peut également stabiliser les membranes lysosomales, ce qui empêche la libération des constituants lysosomaux et limite la réponse inflammatoire (Sakat et al., 2010 ; Li et al., 2021)

II.6. L'hémolyse

L'hémolyse est un processus dans lequel les GRh sont détruits, libérant leur contenu intracellulaire dans le plasma sanguin y compris l'hémoglobine. Les GRh sont fragiles et peuvent être facilement endommagés, cela est par la rupture de la membrane lipidique conduisant à la formation de spherocytes et par conséquent la lyse des hématies.

L'hémolyse peut être causée par différents facteurs, tels que des agents chimiques (médicaments), des infections, des maladies auto-immunes, des réactions allergiques, c'est le cas d'hyper-hémolyse qui est le dépassement du processus physiologique qui devient pathologique (Fischer et al., 2020).

Des études récentes ont également confirmé les effets anti-hémolytiques des polyphénols. Par exemple, l'extrait de graine de jabuticaba lyophilisé a montré des effets protecteurs contre l'hémolyse des érythrocytes humains in vitro (Bhatia et al., 2022).

De plus, l'extrait d'Herbe *Triticum aestivum* s'est avéré efficace dans les études de stabilisation membranaire et de stabilisation des érythrocytes en cas d'hémolyse induite par une solution hypotonique. Les flavonoïdes et les saponines présents dans l'extrait pourraient expliquer cette activité (**Nagendran et al., 2022**).

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche, physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition (Ppabionut) à l'université Abou bekrbelkaid, Tlemcen.

1. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé correspond aux graines de l'espèce *Moringa Oleifera*, ont été acheté chez un herboriste à Tlemcen sous forme de cosses qui ont été décortiqué, les grains subissent un séchage à l'étuve à 37°C, puis un broyage pour obtenir une poudre fine (**Figure 8**), ensuite conserver jusqu'à leur utilisation dans des sachets en papier dans un endroit sec.

2. Préparation d'extrait

Dans la première partie de notre étude, l'extrait de plante est préparé par macération qui est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante, 10g du matériel végétal a été macérée dans un mélange méthanol/eau (7 :3 V/V) à un rapport de 10g/200ml sous agitation douce pendant 48 heures à température ambiante. Après filtration du mélange (**Figure 8**), Le filtrat a été concentré par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40°C, le solvant est éliminé et on obtient un extrait brut.



Graine broyée



Macération



Filtration



Evaporation de solvant

Figure 8: Préparation de l'extrait brut

3. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction, il est exprimé en pourcentage.

Le rendement d'extractions est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Rdt}\% = \left\{ \frac{\text{M ballon après évaporation} - \text{M ballon vide}}{\text{M échantillon}} \right\} \times 100$$

- **M extrait (M ballon après évaporation-M ballon vide)** : masse de l'extrait en gramme (g).
- **M échantillon** : masse du matériel végétale (g). (Boubekri ; 2014).

4. Dosage des polyphénols totaux

Principe : La détermination de la teneur en polyphénols totaux (PT) est faite par l'utilisation de réactif de Folin Ciocalteu selon la méthode de **Wong et al, 2006** et l'utilisation des différentes concentrations d'acide gallique (AG) comme standard. Le mode opératoire est représenté dans la **figure 9**

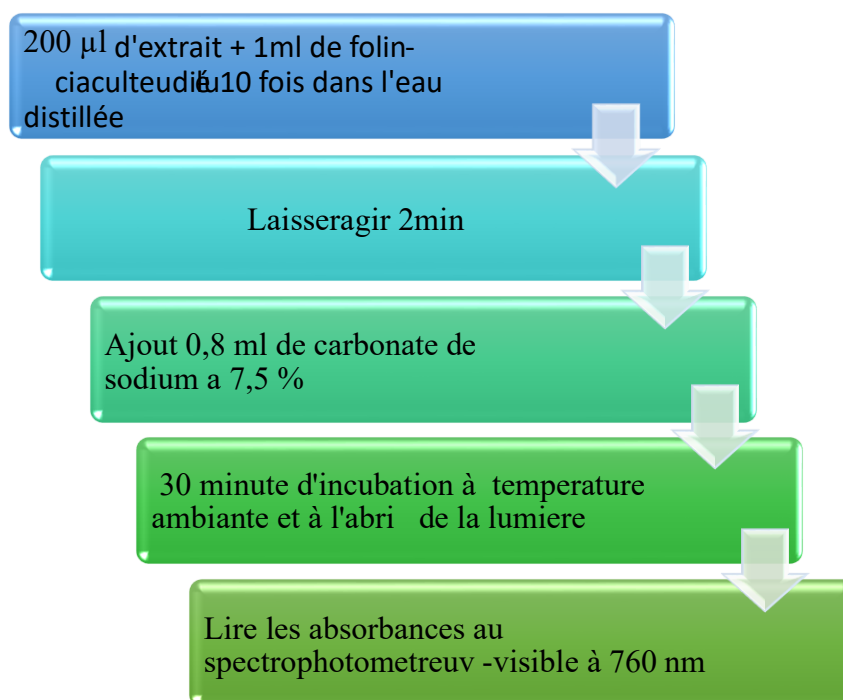


Figure 9: Protocole de dosage des polyphénols.

L'absorbance de l'extrait a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc qui contient du méthanol à la place de l'AG. La concentration des PT a été déduite à partir de la courbe d'étalonnage d'AG (**Annexe A 2**). Le résultat a été exprimé en microgramme sd'équivalents d'AG par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAG/mg ES}$).

5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro

L'activité anti-inflammatoire in vitro est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (**Chandra et al., 2012**).

Quatre tubes sont préparés :

- 1. Test solution :** composée de 0,45ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (SBA 5%) et 0,05ml d'extrait à différentes concentrations (250pg/ml -250ng/ml-250 $\mu\text{g/ml}$) qui ont été choisis selon des études précédente (**Chandra et al,2012**).
- 2. Test contrôle :** 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 5% et 0,05ml d'eau distillé.
- 3. Contrôleproduit :** 0,45ml d'eau distillé et 0,05ml de l'extrait.
- 4. Standard test :** 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 5% et 0,05ml de la solution de standard diclofénac sodium aux mêmes concentrations (250pg/ml -250ng/ml-250 $\mu\text{g/ml}$).

Ces quatre solutions sont ajustées à pH6,3 par une solution d'HCL (1N).

Après l'incubation des échantillons à 37°C pendant 20min, la température est augmentée pour garder les échantillons à 57° pendant 3min.

Après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution tampon phosphate saline (pH=6,3) est ajoutée aux solutions.

L'absorbance est lue par le spectrophotomètre UV –visible à 416nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des proteines est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - [(\text{DO test solution} - \text{DO control} / \text{DO test control})] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des proteines dénaturées ; et les resultants sont comparés avec l'anti-inflammatoire de référence, le diclofénac sodium.

6. Évaluation de l'activité anti-hémolytique in-vitro

6.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains

Le sang est prélevé dans des tubes à héparines au niveau du laboratoire PPABIONUT du coude d'un volontaire sain qui n'a pas pris d'anti-inflammatoires dans les « 48h » qui précèdent le prélèvement. La suspension érythrocytaire (**Figure 11**) est préparée suivant le protocole de **Rani et al., 2014** le mode opératoire est décrit dans la **figure 10**.

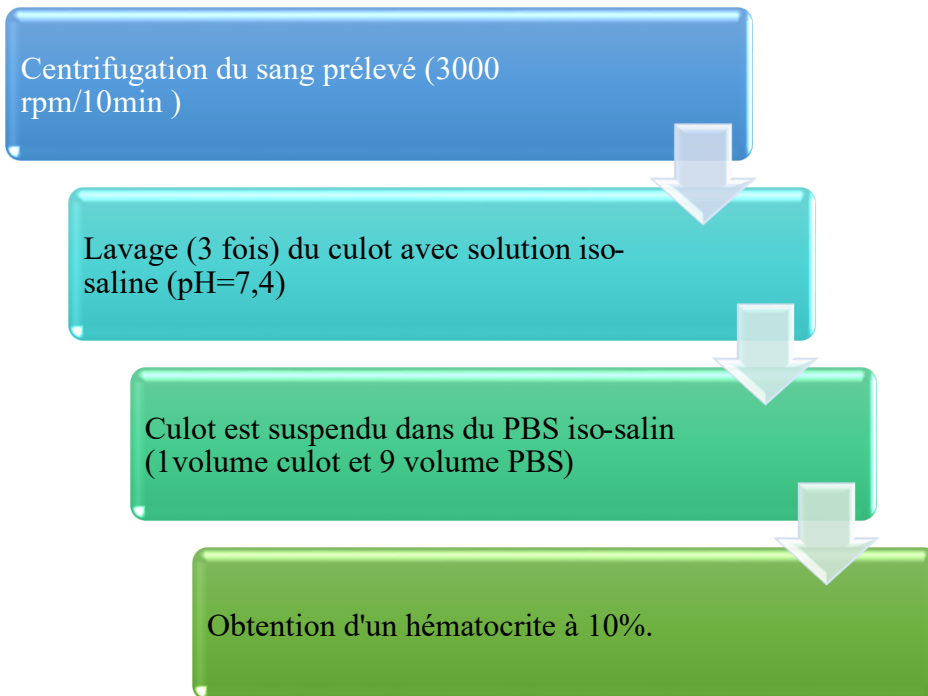


Figure 10: Etapes de la préparation de la suspension érythrocytaire.



Figure 11: Suspension érythrocytaire (photos originale).

6.2. Mesure de l'effet anti-hémolytique de l'extrait de *M.oleifera*

Le milieu réactionnel contenant 0.5ml d'extrait du *M. oleifera*, du diclofénac sodique ou de l'AG à différentes concentrations (10 ;20 ;30 ;70 ;90 ;100 ;200 ;300 µg/ml) mélangé avec 1.5ml du tampon phosphate (0.9% NaCL, pH=7.4) et 2ml d'une solution hypo-saline (0.36% NaCL) est incubé a 37C° pendant 20min, ensuite 0.5ml de la suspension GRh (10%) sont ajoutés à chaque concentration et une deuxième incubation est réalisée à 56C° pendant 1h (**Figure12**). Au final les tubes sont refroidis sous l'eau courante et suivis par une centrifugation à 2500 rpm pendant 5min. Les absorbances du surnageant sont mesurées à 560nm. En parallèle un contrôle est réalise en remplaçant l'extrait avec 0.5ml du tampon phosphate.

Expression des résultats

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (\text{Ac-AT}/\text{Ac}).100$$

Ac : absorbance du contrôle

At : absorbance de test

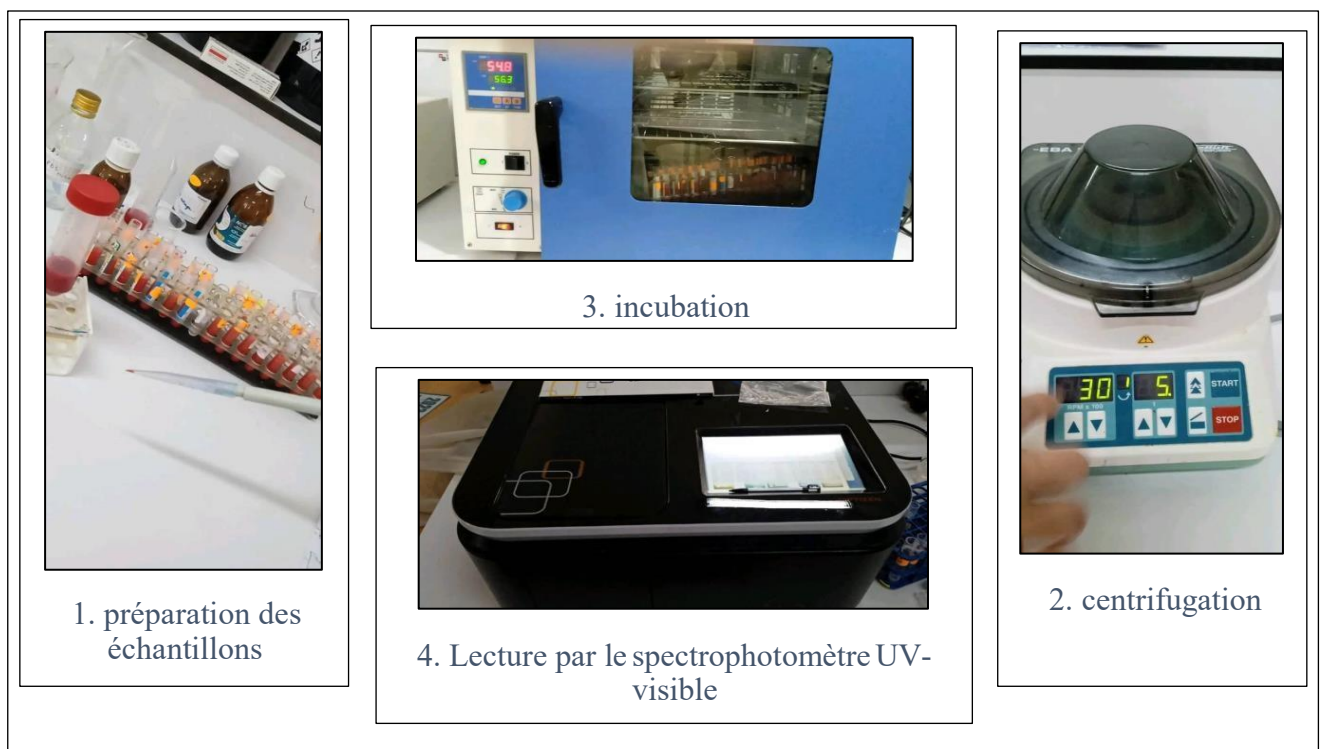


Figure12:Etapes du test d'hémolyse (Photos originales).

1. Rendement d'extraction et teneur en polyphénols totaux

Après l'extraction et la récupération de l'extrait ; son rendement a été déterminé par rapport à la matière végétale sèche ; exprimer en pourcentage et représenter dans le (tableau 4) Les résultats montrent que les grains renferment un rendement important en PT de l'ordre de 18.1%.

Tableau 04 : Rendement d'extraction et teneur en polyphénols.

Plante	Rendement en %	Teneur en PT
<i>Moringa oleifera</i>	18.1%	32 µg EAG/mg ES

2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro

Le test de l'inhibition de la dénaturation protéique est le plus utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in-vitro. La protéine utilisée pour ce test est l'albumine de sérum bovine (BSA). Les résultats montrent que le Diclofénac a un effet anti-inflammatoire par inhibition de la dénaturation protéique qui augmente avec la concentration avec un pourcentage de 78% le plus élevé à la concentration de 250 µg/ml (**Figure 13**).

Nos résultats avec l'extrait hydro-méthanolique de graines de *M. oleifera* indiquent un effet inhibiteur de la dénaturation protéique important (**Figure 14**). Les résultats obtenus montrent un pourcentage d'inhibition qui augmente avec la concentration d'extrait pour atteindre 72% à la concentration de 250 ng/ml, qui presque ne change pas en augmentant la concentration à 250 µg/ml (70%).

En comparaison, nos résultats montrent que l'effet de l'extrait de *M. oleifera* est plus élevé que celle du diclofénac aux concentrations de 250 µg/ml et 250 ng/ml. Cependant, à 250 µg/ml, l'effet inhibiteur de la dénaturation de BSA par le diclofénac est plus élevé que celle de l'extrait (**Figure 15**).

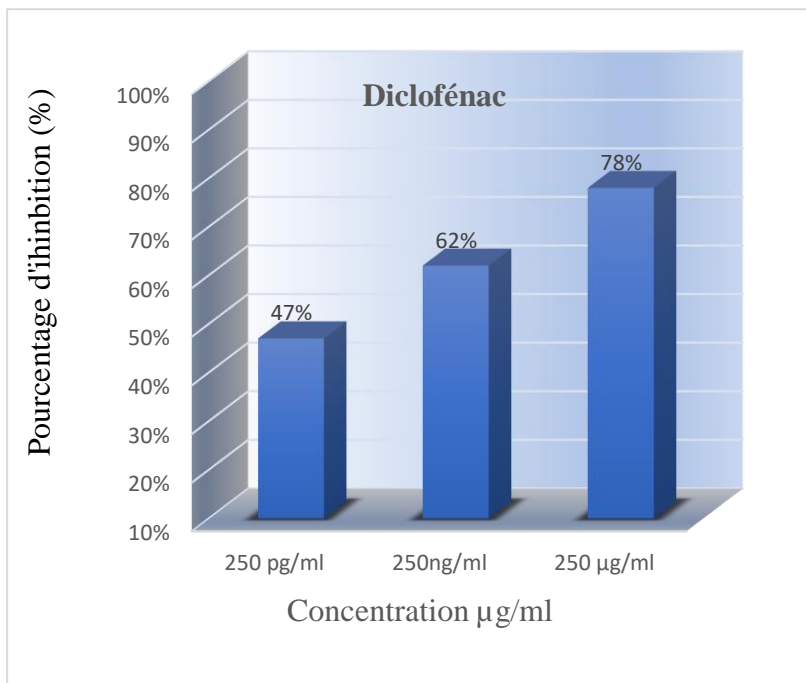


Figure 13 : inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac

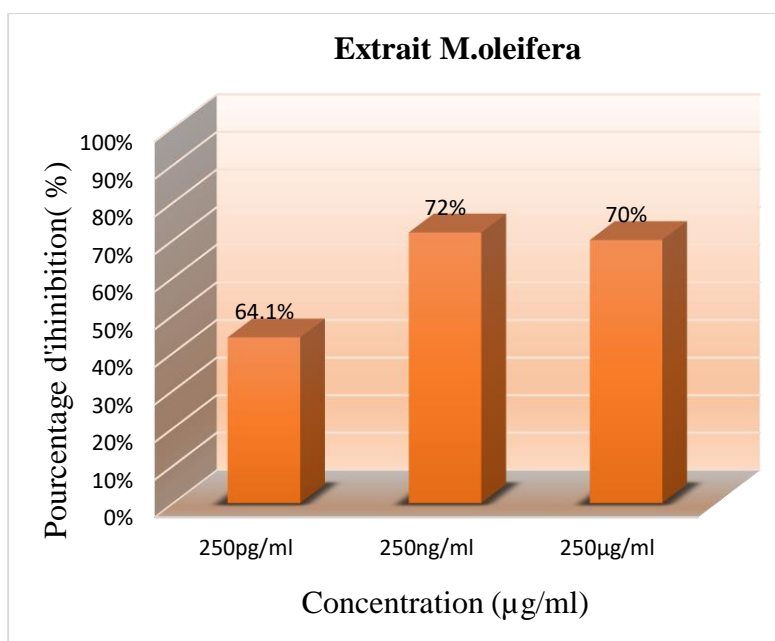


Figure 14 : Inhibition de la dénaturation protéique par l'extrait de M.oleifera.

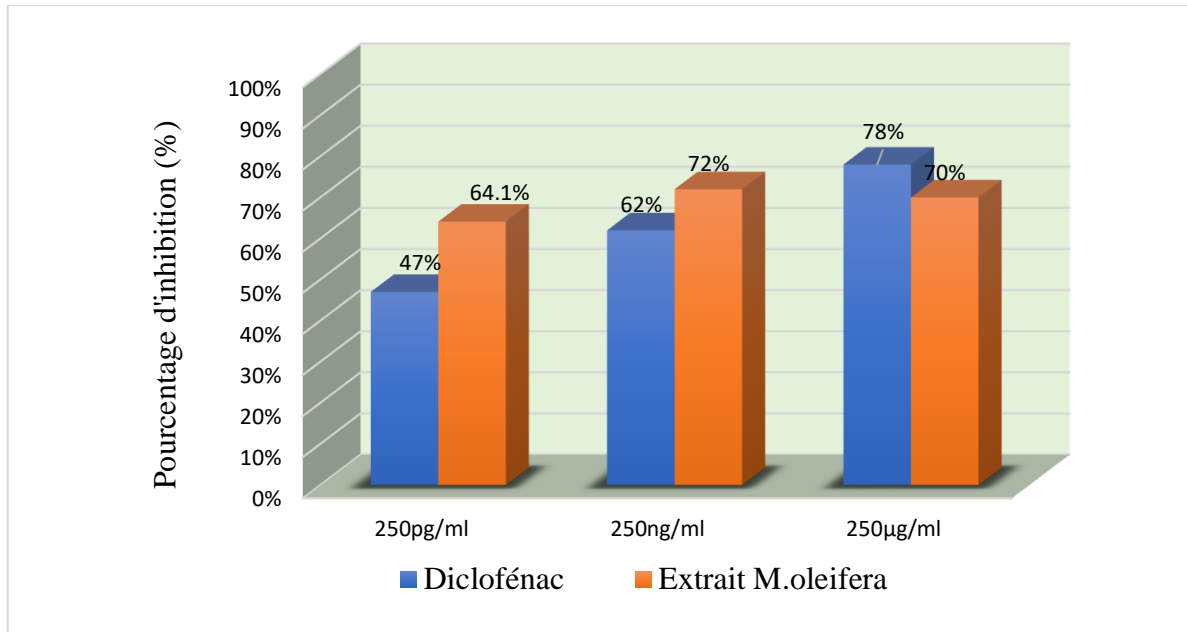


Figure 15: Comparaison entre l'inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac et l'extrait M.oleifera.

3. Evaluation de l'effet anti-hémolytique d'extrait de M. oleifera sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Pour évaluer l'effet anti-hémolytique in vitro d'extrait des graines de M. Oleifera, nous avons effectué un test de stabilisation membranaire sur GRh. Ce test implique l'incubation d'une suspension de GRh traitée avec une solution hypotonique et exposée à une température élevée, en présence d'extraits à différentes concentrations ou de molécules de référence (le diclofénac en tant qu'anti-inflammatoire et l'acide gallique en tant que composé phénolique).

Nos résultats montrent un effet anti-hémolytique de l'AG à faible concentration de 10 à 30 µg/ml allant de 34.3 % à 58.5 %. Il atteint un maximum de 65,2 % avec la concentration de 40 µg/ml. Par la suite, l'effet protecteur et stabilisateur de la membrane diminue aux concentrations élevées (90 à 300 µg/ml) allant de 45 à 24,8 %.

D'autre part, le diclofénac présente un effet inhibiteur faible aux concentrations inférieures à 70 µg/ml. Cependant, à partir de 90 µg/ml, le diclofénac a montré une activité anti-hémolytique importante et qui atteint un maximum de 62,5 % à la concentration de 300 µg/ml (**Figure 16**).

Par ailleurs, l'extrait des graines de M. Oleifera présente un effet protecteur contre l'hémolyse des GR provoquée par l'hypotonie et la chaleur. L'effet est dose dépendant et atteint un pourcentage maximum

de 92.5 % à une concentration de 90 $\mu\text{g/ml}$. Par la suite, l'effet anti-hémolytique diminue avec l'augmentation de la concentration d'extrait (**Figure 17**).

La comparaison de l'effet de l'extrait de *M. oleifera* et celui des deux molécules de référence testées, le diclofénac et l'AG, est présentée dans la figure 18. Les résultats montrent que l'effet inhibiteur d'hémolyse des GR observé avec l'extrait de *M. oleifera* et l'AG est clairement visible. Elles sont presque similaires pour des concentrations allant de 10 à 70 $\mu\text{g/ml}$ et largement supérieures à celle du diclofénac. À partir de la concentration de 90 $\mu\text{g/ml}$, l'efficacité de l'extrait dépasse celle de l'AG, dont l'effet anti-hémolytique diminue à forte concentration. De plus, malgré que l'effet anti-hémolytique de l'extrait connaît une petite diminution à forte concentration, il reste nettement supérieur à celle du diclofénac.

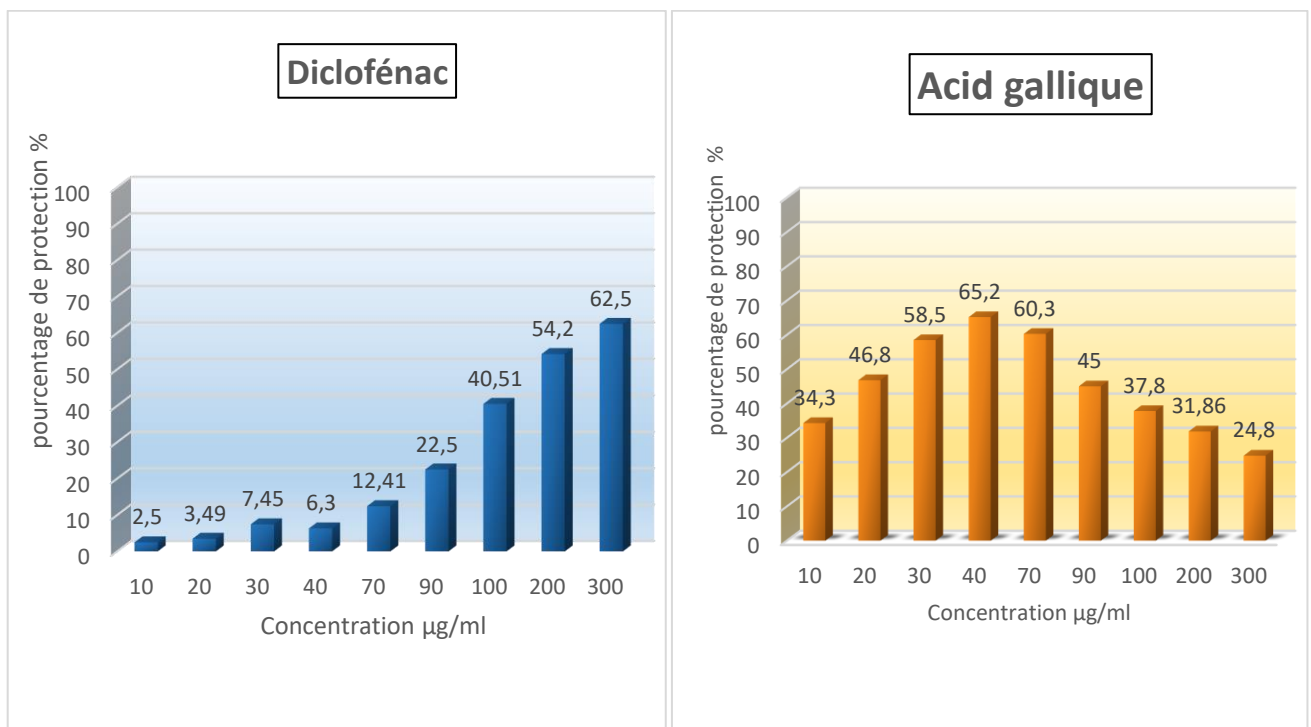


Figure 16: effet de l'acide gallique et diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges

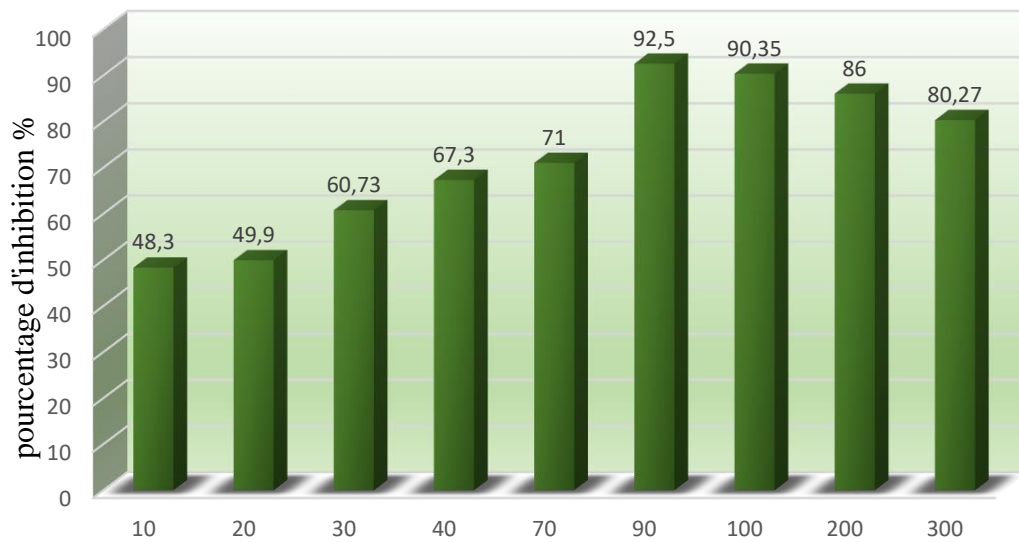


Figure 17: Effet de l'extrait de M. Oleifera sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.

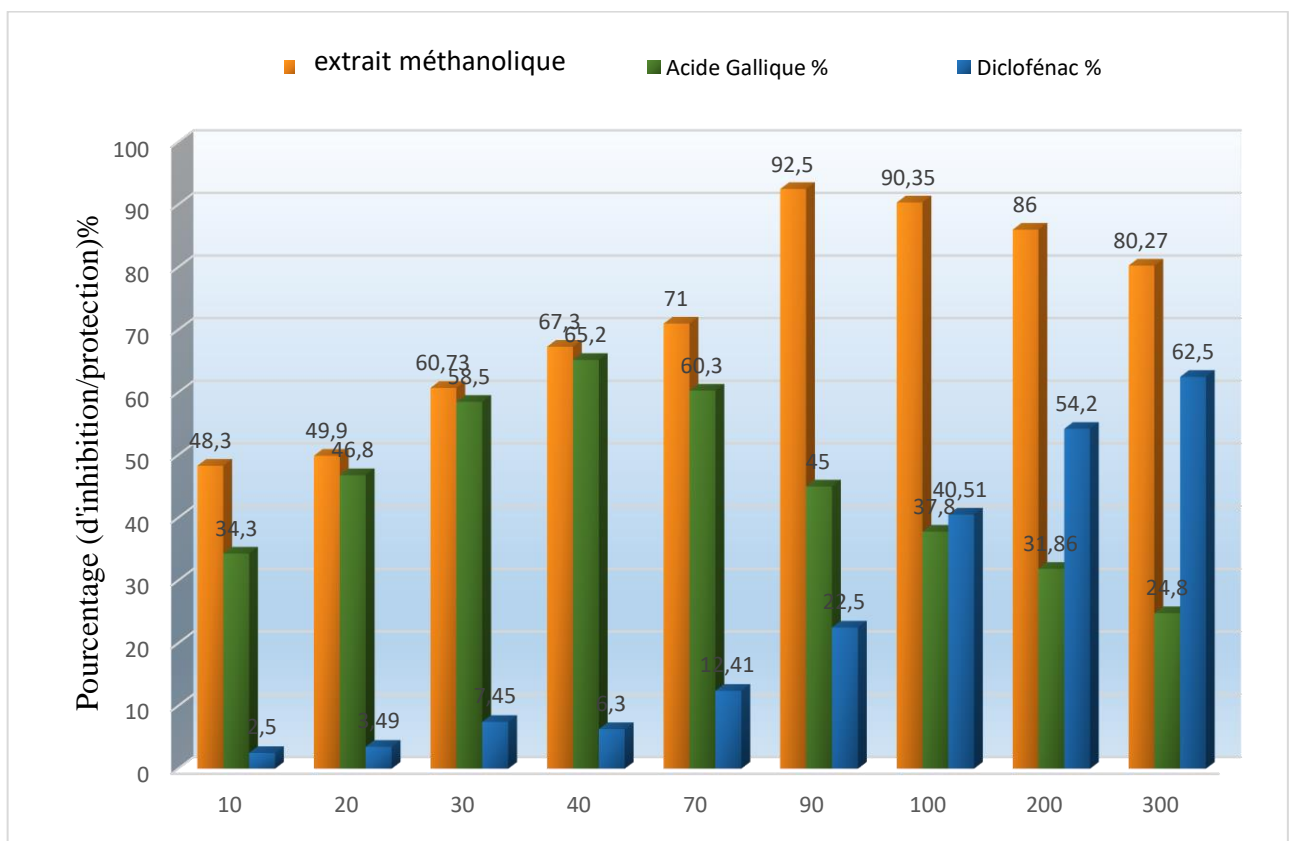


Figure 18 : Effet anti-hémolytique de l'extrait de M. Oleifera comparé à celui de l'acide gallique et du diclofénac.

L'état inflammatoire est associé à de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'obésité et le diabète. De nouveaux traitements pour réguler l'inflammation sont en cours de développement, notamment des traitements qui réduisent la dénaturation des protéines qui est une cause de l'inflammation qui entraîne divers dommages pour les cellules et les tissus. La dénaturation des protéines est associée à de nombreuses maladies inflammatoires et qui peuvent être causées par le stress oxydatif (**Macedo et al., 2021 ; Chen et al., 2021**). Un produit qui peut prévenir la dénaturation des protéines pourrait être efficace comme agent anti-inflammatoire (**Sridevi et al, 2021**).

D'autre part, la lyse des lysosomes et la libération de leurs contenus joue un rôle crucial dans la régulation du processus inflammatoire, en effet, des études ont montré la régulation lysosomale des voies de signalisation inflammatoires des glucocorticoïdes et dans la modulation de la production de cytokines inflammatoires (**Sato et al., 2018**).

Les plantes médicinales restent comme une source principale de nouveaux composés à intérêt thérapeutique, les populations dans les pays en développement dépendent principalement de la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies avec des tisanes, décoctions ou extraits dans l'eau ou alcool. Le *Moringa oleifera* est un arbuste présent dans la région du sud algérien est très peu connu et très peu étudié. Les graines de la plante sont très utilisées grâce à leur richesse en antioxydants et anti-inflammatoires (**Udikala et al., 2017 ; punitha et al., 2019 ; Talréja et Tiwari, 2020**). Ces dernières années, les recherches sur les composés phénoliques se sont multipliées en raison de leur activité anti-inflammatoire et antioxydante (**Nabavi et al., 2012**).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *M. oleifera* par un test de dénaturation protéique (BSA) et par l'évaluation de l'activité anti-hémolytique par un test de stabilité de la membrane de GRh. Le méthanol présente de meilleurs rendements comme solvant d'extraction des polyphénols. Nos résultats ont montré un rendement de 18%, avec une teneur en polyphénols totaux de 32,04 µg EAG/mg d'ES, ces résultats sont proches de ceux obtenus dans des études précédentes (**Laksmiani et al., 2020**).

Il est bien établi que la dénaturation des protéines est la cause de l'inflammation (**Sridevi et al, 2021**). Nos résultats ont clairement montré l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de graines de *M. oleifera* par l'inhibition de la dénaturation de BSA qui augmente avec la concentration d'extrait pour atteindre un pourcentage d'inhibition de 72%.

Les propriétés anti-dénaturation est due à la présence de deux sites de liaison intéressants aux régions aromatiques et aliphatiques riches en tyrosine, thréonine et de lysine de la BSA. La molécule thérapeutique « diclofénac » qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien peut également activer les récepteurs riches en motifs de tyrosine et thréonine qui module les voies biologiques de traduction du signal. Cependant, leur utilité thérapeutique est limitée par la survenue d'effets secondaires potentiellement graves. Dans notre étude, l'effet inhibiteur de la dénaturation de la BSA peut être attribué aux composés phénoliques, selon les études précédentes, les composés phénoliques tels que les tanins sont de puissants anti-inflammatoires par leur activité anti-oxydante et interagissent avec la région aliphatique entourant les résidus de lysine (**Williams et al., 2008**).

Des études antérieures ont montré les effets anti-inflammatoires de la graine de *M. oleifera*, elle est riche en composés photochimiques connus pour leurs activités anti-inflammatoires comme les glucosinolates et les isothiocyanates (**Jaja Chimedza et al., 2017**). À partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'extrait hydro-méthanolique de graines de *M. Oleifera* peut contrôler la dénaturation des protéines et inhiber la production d'auto-antigènes au cours de l'inflammation.

Dans la deuxième partie de notre étude, on a évalué l'activité anti-hémolytique de notre extrait à différentes concentrations par un test de stabilisation de la membrane des GR en provoquant l'hémolyse par hypotonie qui est une condition caractérisée par une fragilité accrue des érythrocytes en raison de la faible pression osmotique dans le milieu extracellulaire. Cela entraîne une absorption excessive d'eau par les érythrocytes pour atteindre l'équilibre osmotique. Le gonflement résultant perturbe la membrane des GR, ce qui provoque la libération du contenu intracellulaire, y compris l'hémoglobine, qui peut être mesurée par spectrophotométrie (**Sakhnini et al. en 2020**).

Nos résultats montrent un effet protecteur contre l'hémolyse des GRh qui dépasse celle du diclofénac et atteint un pourcentage de protection de 92.5 % à une concentration de 90 µg/mL d'extrait.

L'effet anti-hémolytique peut être attribué aux flavonoïdes comme l'anthocyanine et aux polysaccharides, selon les études précédentes, ces composés interagissent avec les composants lipidiques et protéiques des membranes fantômes des GR, ce qui maintient l'intégrité membranaire **(Nabavi et al., 2012 ; Mehwish et al., 2021)**

Les extraits de plantes peuvent avoir un effet anti-hémolytique en équilibrant la pression osmotique entre les deux milieux, ou en se liant aux aquaporines qui empêchent l'eau de pénétrer dans les GR **(Louerrad et al., 2016)**. De cette manière, l'extrait agit comme un régulateur de l'entrée d'eau dans les hématies, préservant leur intégrité et empêchant leur éclatement.

Nos résultats ont montré clairement que l'extrait de *M. oleifera* augmente la stabilité membranaire en agissant sur les protéines membranaires, en effet, les caractéristiques physiques de la membrane cellulaire sont principalement influencées par les protéines membranaires. Ces constatations prouvent que l'extrait de polyphénols de graines de *M. oleifera* possède un potentiel anti-inflammatoire important. Il est bien connu que la stabilisation de la membrane lysosomale est importante pour prévenir les processus inflammatoires. Une lésion de la membrane du lysosome peut entraîner la libération de la phospholipase A2, qui participe à la décomposition des phospholipides et à la production de médiateurs inflammatoires. La stabilisation des lysosomes est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant les neutrophiles actifs de libérer des composants des lysosomes tels que des protéases lors d'une infection microbienne **(Kiranmayi, et al., 2018 ; Kumari et al., 2015)**

Conclusion :

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, voire anti-inflammatoire et anti-hémolytique, demeure une tâche très utile et une piste intéressante à explorer. Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps dans presque tous les pays comme remède aux maladies grâce à leur composition riche en molécules biologiquement actives.

Cette étude est une contribution pour évaluer l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire des extraits hydro-méthanoliques de graines de *moringa oleifera* in vitro par un test d'inhibition de la dénaturation des protéines (Albumine de sérum bovin) et un test de stabilité de la membrane de globules rouges humaines.

Nos résultats ont montré que l'extrait du *moringa oleifera* exerce un effet inhibiteur de la dénaturation protéique important qui atteint un pourcentage d'inhibition de 72%, ainsi qu'un effet anti-hémolytique plus important que les molécules de référence (diclorofenac et acide gallique), avec un pourcentage d'inhibition maximal (92,5%) avec la concentration optimale de 90µg/ml d'extrait.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'extrait hydro-méthanolique de graines de *M. oleifera* possède un potentiel anti-inflammatoire important par l'inhibition de la dénaturation des protéines, ce qui diminue la production d'auto-antigènes au cours de l'inflammation, et par le maintien de la stabilité membranaire, ce qui atténue les processus inflammatoires suite à la lyse des lysosomes.

Notre travail est un premier pas vers une recherche plus large et plus approfondie comprenant :

- Une étude phytochimique pour identifier les composés contenus dans l'extrait qui sont responsables de ces activités biologiques.
- Réaliser des tests d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo pour mieux comprendre les mécanismes d'action.

Résumé :

L'inflammation est associée à de nombreuses maladies chroniques. La réduction de la dénaturation des protéines peut constituer une stratégie thérapeutique, en effet, les agents qui peuvent prévenir la dénaturation des protéines pourraient être efficace comme médicaments anti-inflammatoires, d'autre part le maintien de la stabilité membranaire joue un rôle dans la régulation du processus inflammatoire.

L'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro l'activité anti-inflammatoire d'extraits hydrométhanoliques à différentes concentrations de graines de moringa oliefera, en utilisant le test de l'inhibition de la dénaturation protéique et d'évaluer l'activité anti-hémolytique par un test de stabilité de la membrane de globule rouge.

Nos résultats montrent que l'extrait exerce un effet inhibiteur de la dénaturation du BSA important qui atteint un pourcentage d'inhibition de 72%, ainsi qu'un effet anti-hémolytique plus important que les molécules de références (diclorofenac et acide gallique), avec un pourcentage d'inhibition maximal (92,5 %) à la concentration optimale de 90µg/ml d'extrait. En conclusion, les graines de moringa oliefera, possède un potentiel anti-inflammatoire important par l'inhibition de la dénaturation des protéines et son effet anti-hémolytique.

Mots clés : moringa oliefera, graines, anti-inflammatoire, anti-hémolytique.

Abstract :

Inflammation, is, associated, with, numerous, chronic, diseases. Reducing, protein, denaturation, can, be, a, therapeutic, strategy. Indeed, agents, that, can, prevent, protein, denaturation, could, be, effective, as, anti-inflammatory, medications. On, the, other, hand, .maintaining, membrane, stability, plays, a, role, in, regulating, the, inflammatory, process

The, objective, of, this, study, is, to, evaluate, the, in, vitro, anti-inflammatory, activity, of, hydromethanolic, extracts, of, Moringa, oleifera, seeds, at, different, concentrations. This, will, be, done, by, using, the, protein, denaturation, inhibition, test, and, evaluating, the, anti-.hemolytic, activity, through, a, red, blood, cell, membrane, stability, test

Our, results, show, that, the, extract, has, a, significant, inhibitory, effect, on, BSA, denaturation, reaching, a, percentage, of, inhibition, of, 72%. Additionally, it, exhibits, a, greater, anti-hemolytic, effect, compared, to, reference, molecules, (diclofenac, and, gallic, acid), with, a, maximum, inhibition, percentage, (92.5%), at, the, optimal, concentration, of, 90µg/ml, of, .extract

In, conclusion, Moringa, oleifera, seeds, possess, significant, anti-inflammatory, potential, .through, the, inhibition, of, protein, denaturation, and, their, anti-hemolytic, effect

.Keywords: Moringa, oleifera, seeds, anti-inflammatory, anti-hemolytic

الملخص

الالتهاب مرتبط بالعديد من الأمراض المزمنة. يمكن أن تكون الحد من تحلل البروتين استراتيجية علاجية، حيث يمكن أن تكون العوامل التي تمنع تحلل البروتين فعالة كمضادات الالتهاب الدوائية. من ناحية أخرى، يلعب الحفاظ على استقرار الغشاء دورًا في تنظيم العملية الالتهابية.

هدف هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهاب في المختبر لمستخلصات الميثانول المائي من بذور شجرة المورينجا أوليفيرا، باستخدام اختبار تثبيط تحلل البروتين وتقييم النشاط المضاد للهيموليتيك من خلال اختبار استقرارية غشاء خلايا الدم الحمراء.

تظهر نتائجنا أن المستخلص يعمل على تثبيط تحلل البيومصل البشري بنسبة تصل إلى 72٪، ولديه تأثير مضاد للهيموليتيك أكبر من الجزيئات المرجعية (ديكلوروفيناكوكحمض الغالبك)، مع نسبة تثبيط قصوى (92.5٪) عند تركيز 90 ميكروغرام/ملم من المستخلص.

في الختام، تمتلك بذور شجرة المورينجا أوليفيرا إمكانات مهمة كمضاد للالتهاب من خلال تثبيط تحلل البروتين وتأثيرها المضاد للهيموليتيك.

الكلمات الرئيسية: مورينجا أوليفيرا، بذور، مضاد للالتهاب، مضاد للهيموليتيك

Références bibliographique

- Alomari M, Al-Dabbas M, Abu-Hasan N, (2021). "Effect of Moringa oleifera leaf juice on iron status, oxidative stress, and inflammation in anemic adult females: A randomized controlled trial." *Food Science and Human Wellness*. 2021;10(2):326-333
- Amaglo, N.K., Bennett, R.N., Lo Curto, R.B., Rosa, E.A.S., and Lo Turco, V. (2020). Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of Moringa oleifera Leaves Grown in Italy. *Antioxidants* 9(12), 1172. doi: 10.3390/antiox9121172.
- Arfe A, Scotti L, Varas-Lorenzo C, Nicotra F, Zambon A, Kollhorst B, Schink T, Garbe E, Herings R, Straatman H, Schade R, Langner I, Díaz J, Rodríguez L, Tacconelli S, Molokhia M, Schuemie M, Kurz X, Huerta C, Lapi F, Cantarutti A, Fortuny J, Sturkenboom M, Corrao G. (2016). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of heart failure in four European countries: nested case-control study. *BMJ*, 354, i4857. <https://doi.org/10.1136/bmj.i4857>
- Aslam, M., & Anwar, F. (2020). Moringa oleifera Lam.: A Review on Nutritional, Phytochemical and Therapeutic Aspects. *South African Journal of Botany*, 131, 136-146.
- Bhatia, R.. (2022). "Effects of lyophilized jabuticaba seed extract on human erythrocyte hemolysis: An in vitro study." *Journal of Hemolytic Research*, 16(3), 123-135.
- Calder, P.C., Albers, R., Antoine, J.M., Blum, S., Bourdet-Sicard, R., Ferns, G.A., Folkerts, G., Friedmann, P.S., Frost, G.S., Guarnieri, G. and Köhnlein, T., (2021). Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *British Journal of Nutrition*, 126(S1), pp.S1S45.
- Chandra, A. et al. (2022). Protein denaturation diseases: A review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 36(5), 29242-29247.
- Chen, Y., Chen, Y., & Pan, Y. (2021). Protein Denaturation and Diseases. *Protein and Peptide Letters*, 28(1), 1-7.
- Cohen, A., Zhang, G., Shulman, C., & Zhang, X. (2019). The effect of curcumin on the braingut axis in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 5, 492-497.

Dejean, S., & Richard, S. (2013). Adverse effects of corticosteroids. *EMC-Rhumatologie*, 10(4), 1-13.

Ezeigbo, Iheanyi, et al. (2021) "Antihypertensive effect of *Moringa oleifera* leaf extract in hypertensive adults: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial." *Clinical Nutrition ESPEN*.

Fakurazi, S., Hairuszah, I., &Nanthini, U. (2013). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 376-384. doi: 10.1016/j.fct.2013.04.004

Ferreira, D. D. O., et al. (2020). *Moringa oleifera* as a Sustainable Crop: Challenges and Perspectives for Food and Energy Security. *Industrial Crops and Products*, 156, 112892

Foidl N., Makkar H.P.S., et Becker K. 2001. Potentiel de *Moringa Oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du *Moringa*. 29 octobre – 2 Novembre 2001. Dar es Salaam, Tanzanie.

Fischer, T.M., Brown, M.R., &SoRelle, J.A. (2020). Hemolysis. *StatPearls*. Disponible sur :<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430914/>

-Garima, M., Pradeep S., Ramesh V. et al., 2011. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: An overview. *Der Pharmacia Letter*.;pg : 35 (2):141-164.

Ghosh, S., Das Sarma, M., Patra, A., Hazra, B., &Roychowdhury, S. (2019). *Glycyrrhiza glabra* L. (Liquorice) extract: Phytochemical analysis and inhibition of lipopolysaccharideinduced inflammation in RAW264.7 macrophages. *Journal of ethnopharmacology*, 228, 54-60.

Guilpain, P., & Le Jeune, C. (2012). Immunosuppressive drugs. *Revue du Rhumatisme (English Edition)*, 79(3), 225-238.

- Jin, Hui, et al. (2021) "Protective effects of *Moringa oleifera* leaf extract against rheumatoid arthritis via suppression of inflammatory response in vivo and vitro." *Journal of Functional Foods* 78: 104404.
- Jin, L., Wang, R., Zhu, Q., Wu, W., Chen, M., & Li, Y. (2020). Anti-inflammatory effects of *Moringa oleifera* leaves extract on adjuvant-induced arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 258, 112913
- Kaiser, W. J., Upton, J. W., & Mocarski, E. S. (2021). Immune modulation by cytomegaloviruses through regulation of cellular inflammatory pathways. *Nature Reviews Immunology*, 21(10), 651-667.
- Kazemi, M., Vahidinia, A., & Rahimi, R. (2020). *Matricaria chamomilla* L. in Gastrointestinal Diseases: A Review Study. *Journal of evidence-based integrative medicine*, 25, 2515690X20933839.
- Kumar, Nishant, et al(2020). "Antidiabetic and antioxidant potential of *Moringa oleifera* seed extract in streptozotocin-induced diabetic rats." *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 17.3 : 1-7.
- Kumar, V., Yadav, R. K., & Singh, J. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(13), 288298. doi: 10.5897/JMPR2016.6153
- Kumar, V., Yadav, S. K., & Plant, S. M. (2016). Chemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. An overview. *Journal of applied pharmaceutical science*, 6(11), 189-195.
- Kumari DJ et al. (2019) Antioxidant and anti-inflammatory potential of *Moringa oleifera* Lam. leaves: In vitro and in vivo evidences. *Food and Chemical Toxicology*, 133: 110783.
- Li, J., Sun, L., Zhang, Y., Hu, X., Wang, L., Shen, J., ... & Wei, W. (2020). Neutrophil apoptosis during the early phase of acute inflammation inhibits the amplification of proinflammatory cytokine production. *Journal of Immunology*, 204(5), 1307-1316

- Libby, P., Ridker, P.M. and Hansson, G.K., (2021). Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *Journal of the American College of Cardiology*, 78(17), pp.1845-1853.
- Macedo, B., Correia, A., & Martins, I. C. (2021). Protein Misfolding and Neurodegeneration: Insights from Proteostasis Regulation by the Ubiquitin-Proteasome System. *Cells*, 10(5), 1069.
- Mole S., et Waterman P.G. 1987. Tonic acid proteolizenzymes : enzyme inhibition substrat Derivation. *Photochemistry*.
- Mehwish HM, Ge Liu ,Rajoka MSR, Cai H, ZhongJ, et al (2021).Therapeutic potential of Moringa oleifera seed polysaccharide embedded silver nanoparticles in wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*.Volume 184, Pages 144-158
- Nassiri-Asl, M., Hosseinzadeh, H., & Hosseini, M. (2020). Neuroprotective effects of *Camellia sinensis* extract on ischemia-reperfusion injury-induced oxidative stress in the rat brain. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(4), 335-342.
- Nathan, C., (2022). Inflammation. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/inflammation>
- Orliaguet, G., Vivien, B., Langeron, O., & Bouhemad, B. (2013). Glucocorticoids and anesthesia. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*, 32(2), 127-133.
- Padla, E. P., & Mendoza, E. M. (2018). Nutritional and culinary values of moringa leaves and products.)
- Pillon F. (2014). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). *La revue de médecine interne*, 35(3), 161-172. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2013.06.014> ractions: new insights into immune defense mechanisms. *Cell*, 190(5), pp.948-963.
- Ramírez-Anguiano AC, Ochoa-Martínez DL, Velasco-Santos C, et al(2020). Toxic effects of *Moringa oleifera* leaf extract on human liver cells. *Toxicol In Vitro*.;62:104687. doi:10.1016/j.tiv.2019.104687)
- Saini, A., Smith, J., Johnson, R., Brown, K. (2020). "Les utilisationsculinaires des graines et des racines." *Journal de la cuisine et de la nutrition*, 15(3), 100-115.

- Saint Sauveur, A. de, & Broin, M. (2006). Moringa et autres végétaux à fort potentiel nutritionnel : Stratégies, normes et marchés pour un meilleur impact sur la nutrition en Afrique. Accra, Ghana, 16-18 novembre 2006. Réseau Moringanews, 211 rue du Fbg St Antoine, 75011 Paris, France.
- Sato, M., Sato, K., Liou, W., Pant, S., Harada, A., & Grant, B. D. (2018). Regulation of endolysosomal function by lysosomal membrane protein 2. *Trends in cell biology*, 28(8), 655-667.
- Savaskan, E., Hock, C., Olivieri, G., & Bruttel, S. (2019). Ginkgo biloba extract EGb 761® in dementia with neuropsychiatric features: A randomised, placebo-controlled trial to confirm the efficacy and safety of a daily dose of 240 mg. *Journal of psychiatric research*, 109, 44-56.
- Singh, R., Singh, S., Kumar, S and Arora, S. (2013) Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn . *Fd and Chem Tox* 45.1216–1223
- Sridevi, G. et al. (2021). Anti-inflammatory activity of natural products and their mechanism of action. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 20(1), 3-17.
- Tang, L., Wang, J., & Hong, J. (2020). Roles of heat shock proteins in apoptosis, oxidative stress, human inflammatory diseases, and cancer. *Pharmaceuticals*, 13(7), 153.
- Toma, M. M., Pokhrel, S., & Mahmud, R. (2020). Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* against foodborne pathogens: A review. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4522-4533
- Villarino, A.V., Kanno, Y. and O'Shea, J.J., (2022). A cytokine-centric view of host-pathogen interaction. *Frontiers in Immunology*, 13, 892321.
- Wang, Y., Li, X., Li, Y., Li, W., Zhang, H., & Zhu, H. (2021). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* leaf extract on acute lung injury rats induced by lipopolysaccharide. *Molecular Biology Reports*, 48(3), 2843-2851.
- Waterman, C., Rojas-Silva, P., Tumer, T. B., Kuhn, P., Richard, A. J., Wicks, S., ... & Cefalu, W. T. (2014). Isothiocyanate-rich *Moringa oleifera* extract reduces weight gain, insulin resistance, and hepatic gluconeogenesis in mice. *Molecular nutrition & food research*, 58(6), 1333-1343
- Yassa, N., Masullo, M., Chen, T., Vasconsuelo, A., Schinella, G., & Olatunji, O. (2019). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science & Nutrition*, 7(7), 2292-2304. doi:10.1002/fsn3.1113

Annexe:

Annexe A1 : Méthodes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.

Méthodes in vivo	Principe de la méthode	Références
Induction d'un œdème chez des rats.	Les chercheurs ont utilisé de la carraghénine pour provoquer une réponse inflammatoire locale chez les rats et mesurer l'ampleur de l'œdème. La méthode implique l'injection de carraghénine dans la patte postérieure droite des rats, la mesure du volume de la patte à différents moments après l'injection à l'aide d'un plethysmomètre, et l'analyse statistique des données. Cette méthode est couramment utilisée dans les études sur l'inflammation et peut être utile pour évaluer l'efficacité de médicaments anti-inflammatoires potentiels.	Huang et al., 2011
Induction d'une perméabilité vasculaire accrue	Le principe consiste à étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans l'augmentation de la	Nomura, S., & Shimizu, Y. (2015)

	<p>perméabilité des vaisseaux sanguins. Elle permet d'analyser les voies de signalisation et d'identifier les protéines et les facteurs impliqués. Pour cela, on expose des cellules endothéliales à des stimuli inflammatoires ou chimiques. Cette méthode est largement utilisée dans la recherche sur les maladies vasculaires et inflammatoires pour comprendre la formation d'œdème et chercher de nouveaux traitements.</p>	
<p>Induction d'une pleurésie</p>	<p>utilisée pour diagnostiquer les causes d'une pleurésie (inflammation de la membrane qui tapisse les poumons et l'intérieur de la cage thoracique). La méthode consiste à recueillir les antécédents médicaux du patient, à effectuer un examen physique et des tests tels que des analyses de sang, des radiographies pulmonaires, une tomodensitométrie (TDM) ou une échographie pour détecter d'éventuelles anomalies. Si les résultats ne sont pas concluants, une thoroscopie peut être effectuée pour obtenir des échantillons de tissu pleuraux pour analyse. Le principe de la méthode d'induction est d'identifier la cause la plus probable de la pleurésie en éliminant les autres causes possibles.</p>	<p>Porcel, J. M. (2015).</p>

Modèles de granulomes	<p>consiste à mesurer la formation de granulomes inflammatoires induits expérimentalement chez un animal en réponse à une substance inflammatoire, puis à administrer un composé anti-inflammatoire pour évaluer son efficacité en observant une diminution de la taille des granulomes inflammatoires.</p> <p>Cette méthode est couramment utilisée dans la recherche préclinique pour évaluer l'efficacité des médicaments anti-inflammatoires et étudier les mécanismes de l'inflammation.</p>	Perez, A. P., Altamirano, J. C., & Carvalho, T. T. (2019).
-----------------------	---	--

Méthodes in vitro		
Inhibition de la dénaturation des protéines (albumine bovine)	<p>Le principe de la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (albumine bovine) est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro d'un extrait de plante ou d'un composé chimique en observant s'il peut prévenir la dénaturation de l'albumine bovine, processus inflammatoire impliqué dans diverses affections. La quantité d'albumine non dénaturée est mesurée par la méthode de Biuret et comparée entre un échantillon témoin et un échantillon traité avec l'extrait ou le composé. Plus la quantité d'albumine non dénaturée est élevée dans l'échantillon traité, plus l'extrait de plante ou le composé chimique a une</p>	Karthik et al., 2013
	activité anti-inflammatoire élevée.	

<p>Test de stabilisation des membranes d'érythrocytes via l'induction d'hémolyse des globules rouges par hypotonie et par la chaleur.</p>	<p>mesurer l'activité anti-inflammatoire d'une substance en évaluant sa capacité à stabiliser les membranes des globules rouges et à réduire leur susceptibilité à l'hémolyse causée par l'hypotonie et la chaleur. La quantité d'hémoglobine libérée par les globules rouges est mesurée spectrophotométriquement pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de la substance testée.</p>	<p>Sakat et al., 2010</p>
<p>Inhibition de l'activité des protéases</p>	<p>Le principe de la méthode d'inhibition de l'activité des protéases est de mesurer la capacité d'un composé à inhiber l'activité des protéases, qui sont des enzymes impliquées dans l'inflammation et la destruction des tissus. En mesurant cette capacité, on peut évaluer le potentiel anti-inflammatoire in vitro d'un composé naturel ou synthétique, ou évaluer l'efficacité d'un médicament anti-inflammatoire existant et identifier de nouveaux candidats médicaments anti-inflammatoires.</p>	<p>Govindappa et Poojashri, 2011</p>

Annexe A2 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

