



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Azzouz Boussalem Aicha et Haridi Boutheina

Le: samedi 3 juillet 2021

Activités antioxydants et antidiabétique des différents extraits de Moringa oleifera

Jury :

Dr.	Deghima Amirouche	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	Ben Abdallah Fatima Zohra	MCB	Université de Biskra	Président
Dr.	Achour Hanane	MCB	Université	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

La réalisation de ce modeste mémoire a été possible grâce à plusieurs personnes, à qui nous voudrions témoigner toute nos gratitude.

Nous tenons remercies Allah le tout puissant, le tout miséricordieux de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire

*D'abord nous remercions notre encadreur le docteur **AMIROUCH DEGHIMA**, pour ses efforts et surtout ses conseils précieux et aussi pour sa guidance et sa patience pendant la durée de ce travail modeste.*

Nous remercions les membres du jury pour accepter de juger et d'évaluer notre travail.

Nos remerciements les plus sincères aux professeurs et à l'équipe pédagogique de la faculté pour la qualité de l'enseignement durant ces 5 ans à l'université,

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de la présente étude.

Dédicace

Maman

Tu étais mon médecin qui est resté debout toute la nuit pour mon confort, Tu étais celle qui a tant souffert dans mon enfance.

C'est toi qui m'as protégé de moi-même et de tous les malheurs, C'est toi qui t'es battu pour mon succès.

Tout cela restera une dette envers moi, et je ne pourrai pas remplir un quart de votre droit avec mes paroles ou la moitié avec mes actions ;
À cette occasion je vous dédiais ce travail.

Papa

Mon protecteur, qui a travaillé et a fatigué, afin que je puisse réussir et atteindre les rangs supérieurs.

Tu es qui resté éveillé de dures nuits au travail pour que je puisse me reposer ;
Votre dette ne sera jamais payée ;

Mais comme un petit cadeau je vous dédie ce travail.

« Qu'Allah vous accorde longue vie dans la santé et le bonheur »

Aussi, Je dédie ce modeste travail

À mes adorables sœurs *Akila, Naima, Leila, Hanane, Afef, et Rahma*, d'étaient mon modèle de courage et de persévérance ; aussi à leur mari et leurs enfants.

À mes chers frères *Boualam Mouloud Abd Essalam* et surtout *Tarek et Mohamed*.

À mes belles-sœurs *Khouloud et Rawia*.

À tous mes amis proches *Aicha, Hadile, Razika, Ilham, Zina, Amina et Wahida Aymen et Marouane Abd Elhakim*.

En souvenirs de nos bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble,
J'espère que notre amitié durera éternellement.

« Merci à tous d'être dans ma vie »

Boutheina

Dédicace

À ma chère mère

À mon cher père

Mes bougies qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard

Qui m'ont soutenu pour que je puisse atteindre mes rêves

Grâce à vous je suis aujourd'hui ici

Merci pour le soutien moral, les conseils précieux, l'amour infini, l'encouragement et les sacrifices que vous m'avez accordé

Vous êtes mon bien le plus précieux et une bénédiction inestimable dans ma vie

Que Dieu vous bénisse toujours.

*À ma sœur **Khadidja** et mes frères, **Laroussi, Mohammed et Mostafa** et ma belle-sœur **Fatima***

Merci pour votre prévenance, votre amour et votre gentillesse.

À ma grand-mère qui je souhaite la santé

À ma tante maternelle à qui je ne souhaite que le bonheur

*À mes chères cousines spécialement : **Khouloud, Hassna, Malika et Rima***

Qui m'ont donné le courage et la sourire

*À mes amis, **Boutheina, Fatima, Nacira, Razika, Zina, Ilham, Selma, Ziad, Aymen et Marouane et Mohammed.***

Mon diplôme ne serait pas terminé sans votre présence. Merci beaucoup pour tous vos encouragements et votre aide. Vous êtes vraiment spéciaux pour moi.

J'ai la chance de vous avoir comme famille et amis, et ce diplôme vous est dédié. Merci.

Aicha

Table of Contents

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste d'abréviation	III
Introduction	1

Première partie Synthèse bibliographique

Chapitre 1 *Moringa oleifera*

1.1 Répartition géographique de <i>Moringa</i>	3
1.2 Description de la plante	3
1.2.1 Systématique et nomenclature de <i>Moringaoleifera</i>	3
1.2.2 Caractères morphologiques.....	4
1.3 Composition de <i>M. oleifera</i>	5
1.4 Utilisations et intérêts de <i>Moringaoleifera</i>	5

Chapitre 2 Stress oxydant et Activité antioxydants

2.1 Radicaux libres.....	6
2.1.1 Sources des radicaux libres.....	6
2.2 Stress oxydant	6
2.3 Activité antioxydants.....	7
2.3.1 Classification des antioxydants.....	7

Chapitre 3 : Généralités sur le diabète

3.1 Définition du diabète sucré :.....	8
3.2 Classification.....	8
3.2.1 Diabète de type I :	8
3.2.2 Diabète de type II :	8
3.3 Digestion et absorption des glucides :.....	8
3.3.1 Absorption des glucides :	8
3.4 Les enzymes hyperglycémiantes :	8
3.4.1 Alpha-amylase :	8
3.4.2 Alpha-glucosidase :	9
3.5 L'homéostasie glucidique :.....	9

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

4.1	Matériels	11
4.1.1	Matériel végétal.....	11
4.1.2	Animaux :	12
4.2	Méthodes.....	12
4.2.1	Extraction.....	12
4.2.2	Dosage des composés phénoliques	16
4.2.3	Analyse chromatographique	18
4.2.4	Détermination de l'activité antioxydants	18
4.2.5	Activités antidiabétiques :.....	21

Chapitre 5 Résultats et discussions

5.1	Teneur en polyphénols et flavonoïdes	24
5.2	Chromatographie liquide haute performance (HPLC-DAD).....	25
5.3	Activité antioxydants.....	28
5.3.1	Neutralisation du radical DPPH.....	28
5.3.2	Activité de piégeage des radicaux ABTS	29
5.3.3	Pouvoir réducteur (FRAP).....	31
5.4	Effet Hypoglycémiant	31
5.4.1	Extrait méthanolique de <i>M.oleifera</i>	31
5.4.2	Extrait aqueux de <i>M.oleifera</i>	32
5.4.3	Inhibition des enzymes digestives : α -amylase et α -glucosidase.....	34
5.4.4	Le mécanisme d'action de <i>Moringa oleifera</i>	35
	Conclusion.....	36
	Référence bibliographique.....	37

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1: Taxonomie de <i>Moringaoleifera</i> Lam. (Falowo <i>et al.</i> , 2018).....	4
Tableau 2: les différentes conditions de récolte et la préparation de la plante <i>Moringa oleifera</i> . 11	
Tableau 3: la teneur en phénols totaux et flavonoïdes totaux.	25
Tableau 4: Composés phénoliques individuels identifiés sur l'extrait hydro-alcoolique HE, les fractions et les extraits, obtenus à partir des feuilles de <i>M. oleifera</i> (Oldoni <i>et al.</i> ,2019).....	26
Tableau 5: Effets du séchage sur les constituants phénoliques de la feuille de <i>Moringa oleifera</i> (Ademiluyiet <i>al.</i> , 2018).....	26
Tableau 6: Activité antioxydants d'extraits, <i>M. oleifera</i> , évaluée par les tests FRAP, DPPH et ABTS.	29
Tableau 7: Effet de l'extrait méthanolique de <i>Moringa oleifera</i> sur la glycémie et l'insulinémie chez les rats normaux et diabétique (Gupta <i>et al.</i> , 2012).....	32
Tableau 8: Effet de l'extrait aqueux de feuilles de <i>Moringaoleifera</i> sur le niveau de glucose dans le sang de lapinsnormo-glycémique et diabétiques(Manoharet <i>al.</i> , 2012).....	33
Tableau 9: Effet de la température d'extraction et du séchage sur l'inhibition des activités de α -amylase et α -glucosidase.	35

Liste des figures

Figure 1: Pays où <i>Moringaoleifera</i> a été enregistré comme indigène ou naturalisé (Gandji <i>et al.</i> , 2018).....	3
Figure 2: Différentes parties végétatives et reproductrices de l'arbre <i>M. oleifera</i> (Saini <i>et al.</i> , 2016).....	5
Figure 3: Extraction par macération avec une solution éthanolique et fractionnement (EEtOH-F) (Oldoniet <i>al.</i> ,2019)	13
Figure 4: Extraction par Soxhlet des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> (Vongsaket <i>al.</i> , 2013)	14
figure 5: Extraction par décoction de <i>Moringa oleifera</i> (Coz-Bolaños <i>et al.</i> , 2018)	15
Figure 6: Extraction par infusion de <i>Moringa oleifera</i> (Coz-Bolaños <i>et al.</i> , 2018).....	15
Figure 7: Profil représentatif de chromatographie liquide à haute performance de feuille de <i>Moringa oleifera</i> (Ademiluyi <i>et al.</i> , 2018).	27
Figure 8: Activités antiradicalairede l'extrait <i>M. oleifera</i> contre le DPPH et l'ABTS.. (Hamed <i>et al.</i> , 2020).....	31

Liste d'abréviation

4- pNPG : 4-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside

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

CAE : Equivalents d'acide chlorogénique

DMSO : Dimethylsulfoxyde

DNS : Acide dinitrosalicylique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EF : Equivalents ferreux

EGCG : Epigallocatechine gallate

eNOS : Oxyde nitrique synthase endothéliale

FRAP : Ferric ion reducing antioxidants power

FRO : Formes réactives de l'oxygène

GA : Acide gallique

GSH: Glutathion

HPLC-DAD: High performance liquid chromatography with a diode-array detector

IQE: Equivalents isoquercétine

NIH: National Institute of Health

PBS : Phosphate de potassium

Qe : Equivalent de quercétine

RNS: Reactive nitrogen species

ROS: Reactive Oxygen Species

SOD: Superoxide dismutase

STZ : Streptozotocine

TEAC : Antioxydantes équivalents au Trolox

TPTZ : 2, 4,6-tripyridyl-s-triazine

UV-VIS : Ultraviolet visible

XO : Xanthine oxydase

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes ont toujours été vitales pour l'humanité quelle que soit l'époque et la région du monde entier depuis le début de la vie (Manikandan *et al.*, 2016). Spécialement, Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remèdes contre les maladies humaines car elles contiennent des composants à valeur thérapeutique.

Selon l'organisation mondiale de la santé, une plante médicinale est toute plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances pouvant être employées à des fins thérapeutiques ou utilisées comme précurseurs de substances utilisées à ces fins. La phytothérapie, quant à elle, est un médicament obtenu exclusivement à base de matière première végétale active et se caractérise par la connaissance de son efficacité et des risques de leur consommation ainsi que par la reproductibilité et la constance de sa qualité. Ainsi, la production des médicaments végétales obéit à des lois spécifiques de manière à conserver les attributs et propriétés de la fabrication à l'importation et la commercialisation, quels que soient l'usage (oral et topique) ou le mode de préparation (infusions, décoctions et macérations) (Ferreira *et al.*, 2014).L'extraction des matières végétales dépend de divers facteurs tels que les solvants, les méthodes et le temps d'extraction pour séparer les différents composants bioactifs de qualité et de quantité dans l'extrait brut (Vongsaket *et al.*,2013)

Le *Moringa oleifera* était utilisé par les anciens Romains, Grecs et Égyptiens, et est maintenant largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales du monde (Gandji *et al.*,2018). C'est est un arbre résineux à croissance rapide pouvant atteindre 12 m de haut, qui appartient à la famille mono-générique des Moringacées (Valdiviá-Navarro *et al.*, 2019) et est généralement considéré comme un légume, une plante médicinale et une source d'huile de cuisson dans les pays en développement (Alegbeleye, 2018). Presque chaque partie de l'arbre *Moringa* est utile à des fins médicinales (Saini *et al.*,2016), c'est un antihelminthique naturel, un antibiotique, un détoxifiant, un constructeur immunitaire exceptionnel et est utilisé dans de nombreux pays pour traiter la malnutrition et le paludisme. Il est également utilisé dans la purification de l'eau et contribue donc à réduire l'incidence des maladies d'origine hydrique (Manikandan *et al.*,2016).

Le but de notre modeste travail est de collecté les recherches scientifiques traitant le dosage et d'identification des métabolites antioxydants de la plante *Moringa oleifera* provenant de différentes sources et de mettant en évidence son effet hypoglycémiant, et son activité antidiabétique.

Ce travail comporte 2 parties :

Une partie bibliographique contenant des généralités sur la plante *Moringa oleifera* dans le premier chapitre, des notions sur le stress oxydant et les antioxydants dans le deuxième chapitre et quelques informations concernant le diabète dans le troisième chapitre.

Une partie expérimentale devisée en deux chapitres : Le premier chapitre intitulé matériel et méthodes comprend toutes les analyses et les tests effectués, du dosage de la teneur en polyphénols à l'évaluation de l'activité antioxydants et antidiabétique de la plante.

Le deuxième chapitre, résultats et discussion consiste à la comparaison et la discussion des résultats trouvés à partir des tests réalisés précédemment.

Première partie
Synthèse
bibliographique

Chapitre 1 :

Moringa oleifera

I Chapitre1 :*Moringa oleifera*

1.1 Répartition géographique de *Moringa*

Selon Alegbeleye, (2018) ; Matic *et al.* (2018) *M. oleifera* est originaire des régions subhimalayennes de l'Inde, du Pakistan, du Bangladesh et de l'Afghanistan, où elle a été décrite pour la première fois vers 2000 av. J.-C. comme plante médicinale. L'espèce a été introduite et s'est naturalisée dans d'autres parties du monde, notamment en Afrique de l'Est et de l'Ouest et subsaharienne. Elle a été signalée dans une grande partie de l'Asie du Sud et de l'Est. Elle a également été largement naturalisée en Amérique tropicale, en Amérique du Nord qu'en Amérique du Sud, mais aussi sur plusieurs îles du Pacifique (Gandji *et al.*, 2018) (Figure 1).

1.2 Description de la plante

1.2.1 Systématique et nomenclature de *Moringa oleifera*

Taxonomiquement, *M. oleifera* est attribué à la famille des *Moringaceae* du seul genre *Moringa* (tableau 1). On estime que le genre « *Moringa* » comprend 13 espèces dont 11 d'entre elles originaires d'Afrique et d'Arabie et 2 d'Inde (annexe 2) (Ferreira *et al.*, 2014 ; Leone *et al.*, 2016 ; Saini *et al.*, 2016 ; Falowo *et al.*, 2018 et Gandji *et al.*, 2018).

L'arbre a des différents noms selon les régions (Gupta *et al.*, 2017). Les Africains l'appelaient "Never Die" ou "Miracle Tree" pour sa capacité à traiter plus de 300 maladies, (Matic *et al.*, 2018) aussi s'appelle « Nebedaye », qui signifie « ne meurs jamais » (Jideani & Diedericks, 2014). Quelques noms communs pour *M. oleifera* sont détaillés dans (l'annexe 3)

Figure 1: Pays où *Moringa oleifera* a été enregistré comme indigène ou naturalisé (Gandji *et al.*, 2018).

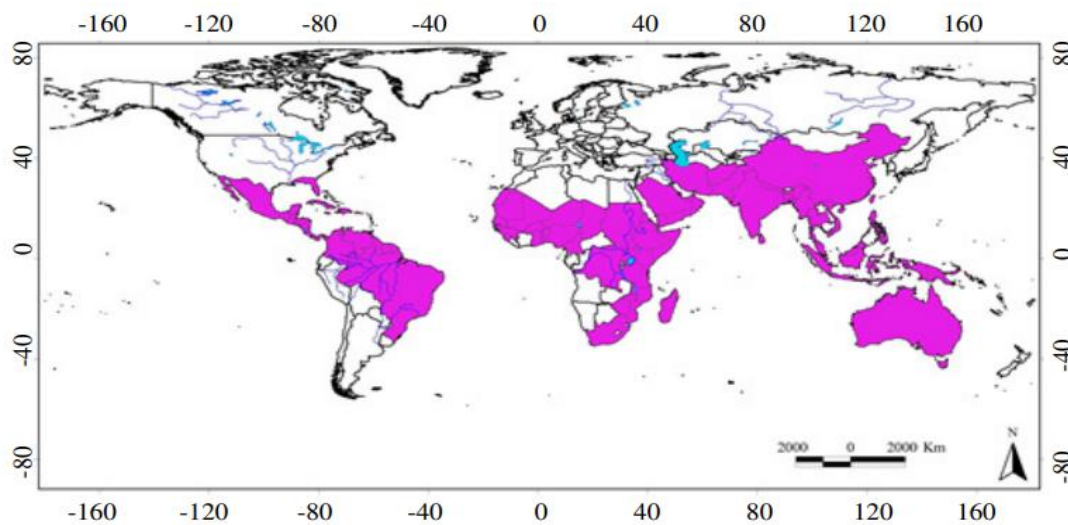


Tableau 1: Taxonomie de *Moringa oleifera* Lam. (Falowo *et al.*, 2018)

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Division	Tracheophyta
subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Brassicales
Famille	Moringaceae
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>Moringa oleifera</i> Lam

1.2.2 Caractères morphologiques

La *M. oleifera* mature atteint une hauteur de 7 m à 12 m (Falowo *et al.*, 2018 ; Prabu *et al.*, 2019). Elle est caractérisée par des feuilles alternes, composées, pennées et duveteuses grisâtres (20–70 cm de long) (Fig. 2) et de long pétiole avec 8–10 paires de pennes alternativement, chacune a deux paires de folioles elliptiques ; des glandes sont présentes à la base des pennes et des pétioles. Les fleurs (2,5 cm de large), de couleur crème ou blanche et pointillées de jaune à la base sont parfumées. Les fruits pendent des branches représentées par

des gousses trilobées (20–60 cm de long). Les graines rondes (12–35 cm de long) avec une coque semi-perméable brunâtre sont présentes dans chaque gousse (Amjad *et al.*, 2015).

Figure 2: Différentes parties végétatives et reproductrices de l'arbre *M. oleifera* (Saini *et al.*, 2016). i) arbre cultivé au champ, ii) faisceau de feuillage, iii) fleurs et iv) fruits (gousse)



1.3 Composition de *M. oleifera*

Chaque partie de *M. oleifera* est un réservoir de nutriments et d'anti-nutriments importants. Les feuilles de *M. oleifera* sont riches en minéraux comme le calcium, le potassium, le zinc, le magnésium, le fer et le cuivre. Vitamines comme le β -carotène de la vitamine A, la vitamine B comme l'acide folique, la pyridoxine et l'acide nicotinique, les vitamines C, D et E sont également présentes dans *M. oleifera* (Gopalakrishnan *et al.*, 2016).

1.4 Utilisations et intérêts de *Moringa oleifera*

M. oleifera est une plante qui a des usages multiples à cause de ses propriétés biologiques et sa composition chimique (Gopalakrishnan *et al.*, 2016). Elle a des usages médicaux tel que le traitement d'asthme, hyperglycémie, dyslipidémie, grippe, brûlures d'estomac ; et autres usages traditionnels comme produits de soins de la peau, production de lait maternel et purification de l'eau...etc.

Chapitre 2

Stress oxydant et Activité antioxydants

2 Chapitre2 : Stress oxydant et Activité antioxydants

2.1 Radicaux libres

Dans les différents domaines de la biologie et de la médecine, les radicaux libres sont plus généralement appelés espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou espèces réactives de l'azote (RNS) (Poprac *et al.*, 2017), et sont des produits du métabolisme cellulaire normal (valko *et al.*, 2007). Les radicaux libres sont des molécules/fragments moléculaires contenant un ou plusieurs électrons non appariés (valko *et al.*, 2006 ; valko *et al.*, 2007 ; Poprac *et al.*, 2017 ; Sharique & Maqbool, 2017), ils se caractérisent par la perte d'un ou plusieurs électrons et s'efforcent toujours de rattraper l'électron manquant (Kleniewska & Pawliczak, 2017).

2.1.1 Sources des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être produits à partir de sources endogènes et/ou exogènes

2.1.1.1 Sources endogènes :

Les sources endogènes les plus importantes des radicaux libres sont les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase (XO) et l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) dysfonctionnelle (Poprac *et al.*, 2017).

2.1.1.2 Sources exogènes

Les facteurs exogènes jouent un rôle important dans la production des ROS. Leur présence est principalement une conséquence de la pollution environnementale et industrielle ; en particulier la fumée de cigarette, les solvants industriels, les rayonnements (rayons X, ultraviolets) et les métaux lourds (Kleniewska & Pawliczak, 2017).

2.2 Stress oxydant

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une surproduction, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse la capacité antioxydants de l'organisme (Favier, 2006). Il a été aussi défini comme un déséquilibre prononcé entre les éléments antioxydants et oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes (DE Moffarts *et al.*, 2005 ; Ratnam *et al.*, 2006).

2.3 Activité antioxydants

Les antioxydants, également appelés « pièges à radicaux libres », sont des composés qui, soit réduisent la production des radicaux libres, soit réagissent avec eux et les neutralisent (Sharique et Maqbool, 2017), prévenant ainsi les dommages qu'ils causent. Ils sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2006). Donc les antioxydants émergent comme agents prophylactiques et thérapeutiques.

2.3.1 Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon plusieurs facteurs. On distingue deux grandes classes : Les antioxydants enzymatiques comme la catalase, Superoxyde dismutase (SOD), Glutathion réductase, glucose-6- phosphate déshydrogénase. Et les antioxydants non enzymatiques (Ratnam *et al.*, 2006) qui sont chimiquement diverses et représentés par les minéraux (Zinc, Sélénium), Vitamines (A, C, E, K), Caroténoïdes (β -carotène), Les composés organosulfurés (Indoles), Antioxydants de faibles poids moléculaires (Glutathion, acide urique), Cofacteurs antioxydants (cofacteurs Q10), et les composés phénoliques (Flavonoïde, Acides phénoliques).

Chapitre 3 : Généralités sur le diabète

3 Chapitre 3 :Généralités sur le diabète

3.1 Définition du diabète sucré :

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant de défauts dans la sécrétion d'insuline, l'action de l'insuline, ou les deux. Les anomalies métaboliques des glucides, des lipides et des protéines résultent de l'importance de l'insuline en tant qu'hormone anabolique. La gravité des symptômes dépend du type et de la durée du diabète (Kharroubi & Darwish, 2015).

3.2 Classification

3.2.1 Diabète de type I :

Résulte surtout de la destruction des cellules bêta du pancréas et prédispose à l'acidocétose. Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun mais la cause de la destruction des cellules bêta est inconnue. (Goldenberg & punthakee, 2013)

3.2.2 Diabète de type II :

Peut-être surtout attribuable à une insulino-résistance accompagnée d'une carence insulinique relative ou à une anomalie de la sécrétion accompagnée d'une insulino-résistance. (Goldenberg & punthakee, 2013)

3.3 Digestion et absorption des glucides :

3.3.1 Absorption des glucides :

Les glucides, réduits en monosaccharides par la digestion, vont être absorbé au niveau des anthérocytes selon des mécanismes différents et spécifiques. Étant des molécules très hydrophiles, les monosaccharides ne peuvent traverser seuls les phases lipidiques des membranes cellulaires. (Lecleire, 2008)

3.4 Les enzymes hyperglycémiantes :

3.4.1 Alpha-amylase :

Les endo-amylases sont capables de cliver les liaisons $\alpha,1-4$ glycosidiques présentes dans la partie interne (endo-) de la chaîne d'amylose ou d'amylopectine. L' α -amylase est une endo-

amylase bien connue. Les produits finaux de l'action de l' α -amylase sont des oligosaccharides de longueur variable de configuration α et des dextrines α -limite, qui constituent des oligosaccharides ramifiés (Tiwari *et al.*, 2015)

3.4.2 Alpha-glucosidase :

L' α -glucosidase est une exo-enzyme agissant de manière similaire à celle de la glucoamylase sur les di- et oligosaccharides et les arylglucosides. Elle produit du glucose. Cette enzyme peut être d'origine animale, végétale, bactérienne ou fongique. Elle hydrolyse les malto-oligosaccharides, le phényla-maltoside, le nigérose, l'amidon soluble, l'amylose, l'amylopectine et les dextrines β -limites. (Tomasik & Horton, 2012)

3.5 L'homéostasie glucidique :

Une élévation durable des concentrations de glucose peut entraîner la cécité, une insuffisance rénale, une maladie vasculaire, etc. C'est pourquoi les concentrations de glucose dans le sang doivent être maintenues dans des limites étroites. Le processus de maintien de la glycémie à un niveau stable est appelé "homéostasie du glucose". Ceci est accompli par la régulation finement hormonale de l'absorption périphérique de glucose, de la production hépatique de glucose et de l'absorption de glucose pendant l'ingestion d'hydrates de carbone (Szablewski, 2011).

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

4 Chapitre 4 : Matériels et méthodes

4.1 Matériels

4.1.1 Matériel végétal

La récolte de la plante d'intérêt a été réalisée dans des pays et des périodes d'années différentes. Après la récolte, tous les échantillons ont été nettoyés de toutes impuretés, légèrement rincées de la poussière, puis étalées pour le séchage et en fin broyées. Les échantillons ont été stockés jusqu'à l'utilisation. Le tableau (2) montre les parties récoltées et les différentes conditions de récolte et la préparation de la plante *Moringa oleifera*.

Tableau 2: les différentes conditions de récolte et de préparation de la plante *Moringa oleifera*.

Référence	Partie Récoltée	Date/lieux	Traitement
(Gupta <i>et al.</i> , 2012)	Gousses	Inde La date n.i	Séchées à l'ombre, puis réduites en poudre dans un broyeur électrique
(Manohar <i>et al.</i> , 2012)	Feuilles	Khammam, Inde La date n.i	Séchées à l'ombre et broyées en poudre
(Vongsak <i>et al.</i> , 2013)	Feuilles	Octobre 2010 (Pathum Thani, Thaïlande)	Séchées dans un four chaud à 60 ° C pendant 24h puis broyées et passées à travers un tamis (20 mesh)
(Ademiluyi <i>et al.</i> , 2018)	Feuilles	Akure, Nigéria. La date n.i	Lyophilisée, séchée au soleil, séché à température ambiante ou séchée au four (40 °C)
(Coz-Bolaños <i>et al.</i> , 2018)	Feuilles	Guanajuato, Mexique. La date n.i	Séchées à l'ombre, broyées et stockées à - 20 ° C
(Oldoni <i>etal.</i> , 2019)	Feuilles	Mars 2015 (Santa Catarina, Brésil)	Séchées au four (à 40 - 45 ° C), broyées en poudre, stockées dans des sacs en plastique recouverts de papier aluminium a - 8 °
(Hamed <i>et al.</i> , 2020)	Feuilles	Eté 2018 (Assiut, Égypte)	Séchées à 40 ° C dans un four à air chaud, pulvérisés et passés à travers 60 mesh

n.i : Non indiquée

4.1.2 Animaux :

Des rats *Wistar albinos* des deux sexes (170 à 230 g), élevés en colonie et sexuellement matures (Gupta *et al.*, 2012) ; et des lapins blancs de Nouvelle-Zélande de l'un ou l'autre sexe, pesant 2-2,5kg (Manohar *et al.*, 2012) ont été utilisés pour les expériences *in vivo*. Les animaux ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard, à 25°C, et ont reçu de la nourriture et de l'eau à volonté avec un cycle de 12h d'obscurité/12h de lumière.

4.2 Méthodes

4.2.1 Extraction

Oldoni *et al.* (2019) ont extraites la plante *Moringa oleifera* avec un mélange de différents solvants. La matière végétale (100 g) a été extraite avec 400 ml d'une solution d'éthanol (EtOH) : eau (80 :20, v / v) à température ambiante, sous agitation à 85 rpm pendant 24 h puis filtré. Cette procédure a été répétée trois fois et les filtrats ont été combinés. Ensuite, l'éthanol a été évaporé en utilisant un évaporateur rotatif sous pression réduite, à 40°C. Après, l'eau a été éliminée en utilisant la lyophilisation et le résidu concentré, c'est à dire, l'extrait hydro-alcoolique (HE), a été utilisé dans l'étape suivante.

L'extrait hydro-alcoolique (HE) (18 g) a été ré-extrait en utilisant 0,1 L d'Hexane (Fr-Hex-1,74 g), Dichlorométhane (Fr-CH₂Cl₂- 0,54 g), Acétate d'éthyle (Fr-EtOAc-0,19 g), Acétone (Fr-Ace-0,36 g), Ethanol (Fr-EtOH-4,0 g) et Ethanol : Eau (50 :50, v / v) (Fr-EtOH : H₂O-6,27 g).

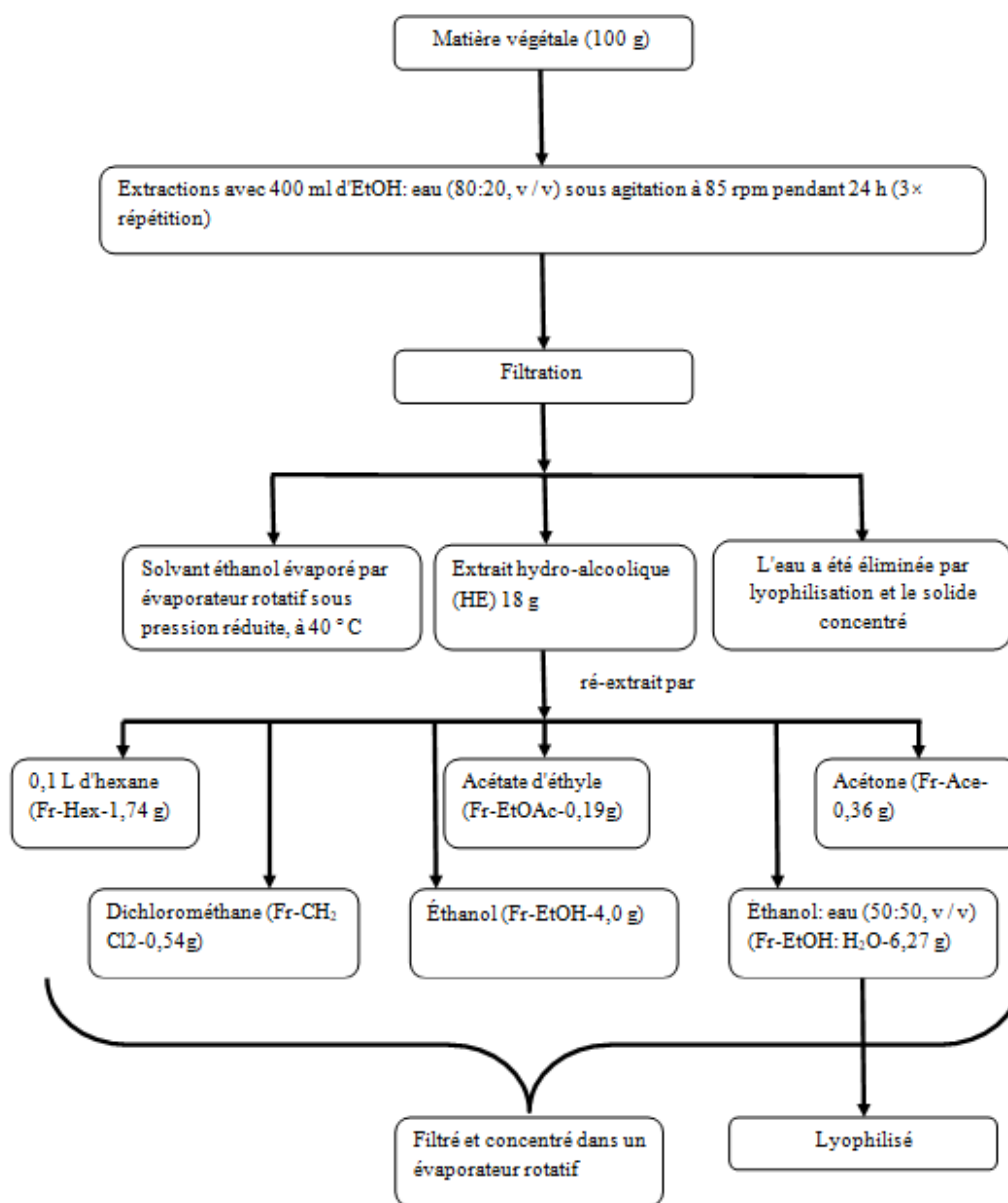


Figure 3:Extraction par macération avec une solution éthanolique et fractionnement liquide-liquide (EEtOH-F) (Oldoni *et al.*,2019)

Pour Vongsak *et al.*(2013), l'extraction a été réalisée en utilisant un appareil Soxhlet. Les feuilles broyées ont été placées séparément dans un dé et ont été extraites avec l'éthanol à 50 et 70% (1 :50, p / v). L'extraction a été réalisée en cinq cycles/h jusqu'à l'épuisement (20h). L'extrait a été filtré à travers un papier filtre Whatman n°1. Le filtrat a été séché sous pression réduite à 50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif à vide (Fig. 4). L'extrait brut a été pesé et conservé dans un récipient étanche à l'abri de la lumière.

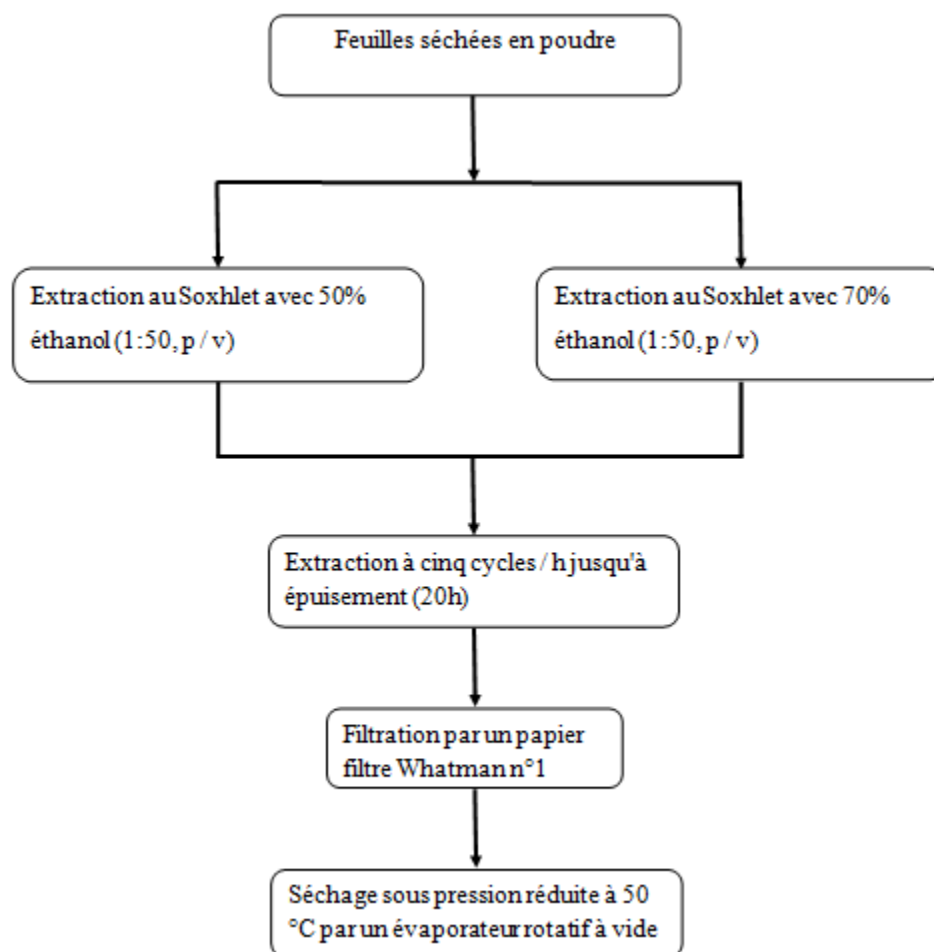


Figure 4:Extraction par Soxhlet des feuilles de *Moringa oleifera* (Vongsaket *et al.*, 2013)

Une extraction par décoction et infusion a été réalisées par (Coz-Bolaños *et al.*, 2018). Des sacs en plastique de qualité alimentaire couramment utilisés pour les tisanes ont été utilisés pour la préparation de décoction et d'infusion. La décoction a été préparée en versant de l'eau froide (240 ml = une tasse) sur des feuilles sèches de *Moringa* dans un sachet de thé, en faisant bouillir pendant 15 et 30 minutes, connu par la suite sous le nom de décoctions de *Moringa* (MD) (Fig. 5). Des infusions de *Moringa* (MI) ont été préparées en versant de l'eau bouillante (240 ml) sur des feuilles de *Moringa* séchées placées dans un sachet de thé et en laissant reposer pendant 5 et 15 minutes (Fig. 6).

Les décoctions et les infusions ont été préparées en ajoutant la même quantité d'herbes (3 g) que les sachets de tisanes les plus vendus dans le commerce. Après des périodes d'ébullition et de trempage, les sacs ont été retirés et les échantillons aqueux ont été refroidis et stockés à - 20 ° C jusqu'aux analyses.

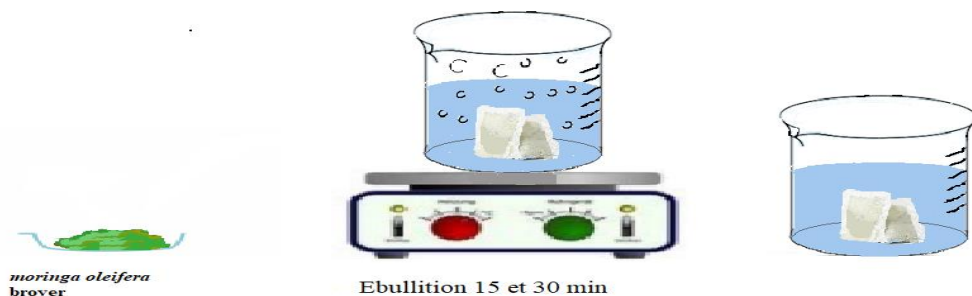


Figure5: Extraction par décoction de *Moringa oleifera*(Coz-Bolaños *et al.*, 2018)

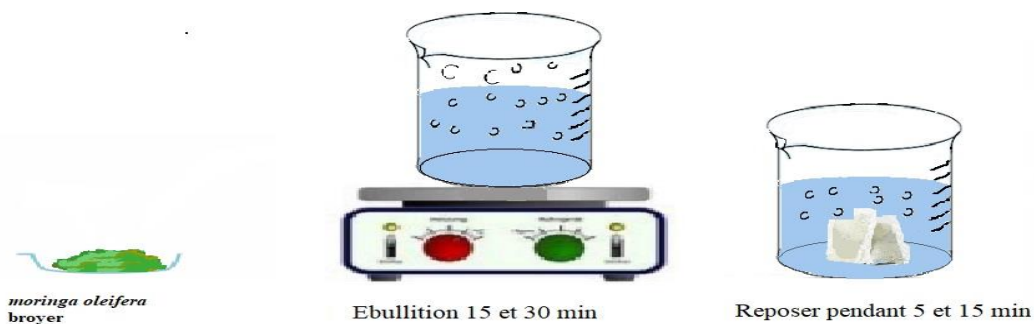


Figure 6:Extraction par infusion de *Moringa oleifera*(Coz-Bolaños *et al.*, 2018)

Les feuilles séchées de *Moringa* ont été aussi extraites trois fois séquentiellement avec du méthanol aqueux (70%, v : v) dans un bain à ultrasons à température ambiante pendant 30 min. Le surnageant des trois extractions a été récupéré après centrifugation à 5000 rpm/min pendant 10 min et ont été combinés. (Coz-Bolaños *et al.*, 2018)

D'après Gupta *et al.*(2012), les gousses (Fruits) en poudre séchées (3 kg) ont été percolées avec du méthanol à 100% sous pression réduite pendant 72 h. Le méthanol a été éliminé sous vide à 35

$\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48 h et un résidu épais a été obtenu (rendement 25,7 g p/p), qui a été conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

Une extraction aqueuse a été réalisée par deux autres auteurs avec quelques déférences dans les protocoles :

Ademiluyi *et al.* (2018) ont pesés un gramme de chacun des échantillons en poudre et l'ont extraites dans 100 ml d'eau distillée pendant 24 heures sur un agitateur orbital. L'extrait a été filtré en utilisant du papier filtre Whatman (n°1) et le filtrat obtenu a été centrifugé à 1000x g pendant 10 min. Ensuite, le surnageant obtenu a été séché sous vide en utilisant un évaporateur rotatif et l'extrait séché obtenu a été maintenu à -4°C pour une analyse ultérieure.

Hamed *et al.* (2020) quant à eux, ont mélangés la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* avec l'eau distillée dans un rapport de 1:10 (p/v), et le mélange a été traité dans un bain à ultrasons (40 KHz et 300 W) à différentes températures de 20, 40, 60 et 80°C pendant 30 min. Après la centrifugation à 5000 rpm/min pendant 10 min, l'extrait résultant a été concentré en utilisant un évaporateur rotatif. Le résidu a été lyophilisé à -50°C , et le produit résultant a été stocké dans des endroits secs et sombres pour d'autres expériences.

4.2.2 Dosage des composés phénoliques

4.2.2.1 Polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée en utilisant la procédure Folin-Ciocalteu. Ce test a été réalisé par Vongsak *et al.* (2013) ; Ademiluyi *et al.* (2018) et Hamed *et al.* (2020), avec quelques modifications dans les volumes des réactifs et les temps d'incubations.

Vongsaket *et al.* (2013), ont mélangés 200 μL de chaque échantillon avec 500 μL de réactif Folin-Ciocalteu (dilué à 1:10 avec l'eau déminéralisée) et 800 μL de solution de bicarbonate de sodium (7,5%, p/v) et les ont incubés pendant 30 minutes à température ambiante sous agitation intermittente. L'absorbance dans ce cas a été mesurée à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (UV-VIS) (Perkin Elmer, USA).

Ademiluyi *et al.* (2018), ont pris des dilutions appropriées des extraits et les ont mélangées avec 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10% (v/v) et les ont ensuite neutralisées par 2,0 ml de carbonate de sodium à 7,5%. L'incubation du mélange a été réalisée à 45°C pendant 40 min.

Enfin, Hamed *et al.* (2020), ont incubés pour 90 min un mélange de 100 μ L d'extrait avec 900 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu dilué, et 750 μ L de solution de NaHCO₃ à 7%.

Pour Ademiluyi *et al.* (2018) et Hamed *et al.* (2020), l'absorbance (Abs) a été mesurée entre 725 et 765 nm, respectivement. La teneur en composés phénoliques totaux a été calculée en équivalent d'acide gallique (mg de GA/g d'extrait), et en grammes d'équivalents d'acide chlorogénique (CAE)/ 100 g d'extrait pour Vongsak *et al.* (2013).

4.2.2.2 Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été analysés par Vongsak *et al.* (2013) ; Ademiluyi *et al.* (2018) et Hamed *et al.* (2020), selon des méthodes colorimétriques, mais par des protocoles différents.

La méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium a été utilisée par Vongsak *et al.* (2013), en mélangeant 500 μ L d'échantillon avec 500 μ L d'une solution de chlorure d'aluminium à 2%. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10 min sous agitation intermittente. L'absorbance du mélange a été mesurée à 415 nm contre un échantillon à blanc sans chlorure d'aluminium en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS. La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée comme la moyenne \pm écart-type SD (n = 3) et exprimés en grammes d'équivalents iso quercétine (IQE) dans 100 g d'extrait sec.

Ademiluyi *et al.* (2018), ont déterminés la teneur totale en flavonoïdes comme suite : 0,5 ml d'échantillon correctement dilué a été mélangé avec 0,5 ml de méthanol, 50 μ l AlCl₃ (10%), 50 μ l d'acétate de potassium (1 M) et 1,4 ml d'eau, et laisser incubé à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance du mélange réactionnel a été mesuré à 415 nm et la teneur totale en flavonoïdes a ensuite été calculée en équivalent de quercétine (QE/ mg d'extrait sec).

Hamed *et al.* (2020), ont déterminés la teneur en flavonoïdes en utilisant la quercétine comme standard. Brièvement, 0,5 ml d'extrait ont été mélangés avec 2,0 ml d'eau distillée et 0,15 ml de sodium nitrate (5%) ; 0,15 ml d'AlCl₃ (10%) ont ensuite été ajoutés, respectivement. Après 6 min, 2,0 ml d'hydroxyde de sodium (4%) ont été ajoutés. Enfin, le mélange a été ajusté à 5,0 ml avec de l'eau distillée. L'absorbance a été mesuré à 510 nm, et la teneur en flavonoïdes a été calculée comme équivalent quercétine (mg QE/g d'extrait).

4.2.3 Analyse chromatographique

4.2.3.1 Chromatographie liquide haute performance

Oldoni *et al.* (2019) ont réalisés une chromatographie liquide haute performance avec détecteur à barrette de diodes (HPLC-DAD) sur une colonne C18 pour la séparation des composés individuels dans l'extrait. Un mélange d'eau : acide acétique (98 : 2, v / v) et acétonitrile :eau : acide acétique (40 :58 : 2, v / v) ont été utilisés comme phase mobile A et B, respectivement. Ademiluyi *et al.* (2018) ont utilisé la même technique avec une phase mobile consistant en eau Milli-Q, acidifiée à pH 2,0 avec respectivement 1% d'acide phosphorique et du méthanol. Pour la quantification, les aires de pic ont été déterminées en utilisant la méthode du standard externe.

4.2.4 Détermination de l'activité antioxydants

4.2.4.1 Piégeage du radical libre DPPH

Ce test est basé sur la capacité du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) à accepter un atome d'hydrogène (H) à partir d'une molécule antioxydants, ce qui conduit à une réduction du DPPH, et un virement de sa couleur du violet au jaune.

Coz-Bolaños *et al.* (2018), ont utilisés 20 μL d'extraits dilués dans du DMSO, mélangés avec 180 μL de DPPH dans du méthanol (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sur une plaque à 96 puits et maintenue dans l'obscurité pendant 15 min. L'absorbance de la solution a été mesurée à 540 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Un blanc (DMSO) et des standards appropriés (solution de quercétine dans du DMSO) ont été analysés simultanément.

Oldoni *et al.* (2019), ont mélangés 0.5 mL de l'extrait hydro-alcoolique HE (100 mg/L) à 1000, 500 et 100 mg/L, 3.0 mL EtOH (80%) et 0.3 mL de 0.5 mmol/L DPPH• dans une solution d'EtOH. Les tubes à testés ont été maintenus à une température ambiante pour 45 min. Puis, l'absorbance a été lu à 517 nm en utilisant le Trolox (15 à 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$) comme référence. Les résultats ont été exprimés en μmol de capacité antioxydants équivalents Trolox (TEAC)/g d'extrait ou de fraction.

Pour Hamed *et al.* (2020), 50 μL de solution d'échantillon à différentes concentrations ont été mélangés avec 1950 μL de solution de travail fraîche et les mélanges ont été incubés à 30°C

pendant 30 minutes. L'Absorbance a été mesurée à 515 nm, et l'activité de piégeage du DPPH a été calculée comme décrit dans l'équation suivante :

$$= [(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{blanc}}] \times 100$$

Où $Abs_{\text{échantillon}}$ et Abs_{blanc} correspondent aux valeurs Abs de l'échantillon avec et sans extrait, respectivement.

4.2.4.2 Piégeage du radical libre ABTS •

Cette méthode est basée sur le principe de stabiliser le radical cationique ABTS⁺ (2,2-azinobis (acide (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu-vert par un antioxydant, en le transformant en ABTS incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Ce test a été utilisé par Oldoni *et al.*(2019) ;Coz-Bolaños *et al.* (2018) et Hamed *et al.* (2020), d'abord, par la préparation de la solution de travail de ABTS⁺ en mélangeant 7mmol/L de solution mère ABTS avec une concentration de persulfate de potassium, et la conservé à l'obscurité, aux conditions ambiantes, pendant 12-16h.

Après la formation de la solution radicalaire, Oldoni *et al.*(2019) ont dilués l'ABTS⁺ avec EtOH et Coz-Bolaños *et al.* (2018) l'ont dilués avec une solution saline tamponnée au phosphate de potassium (PBS) pour obtenir la valeur d'absorbance de $0,700 \pm 0,200$ à 734 nm.

Dans des conditions sombres, Oldoni *et al.*(2019) ont mélangés 10 μ L d'échantillons avec 990 μ L de solution ABTS, l'absorbance finale a été mesurée après 6min à 734 nm en utilisant le Trolox comme référence (100 à 2000 μ mol/L) et les résultats ont été exprimés comme μ mol TEAC/g d'extrait ou de fraction.

Coz-Bolaños *et al.*(2018), ont ajoutés 3,0 ml de solution de l'ABTS⁺ à 30 μ L de l'extrait hydro-alcoolique (HE) (300 mg/L) ou fractions à 3000, 1000 et 500 mg/L, pour les autres échantillons, respectivement. La diminution de l'absorption à 734 nm, 6 min après l'ajout de l'échantillon, a été utilisée pour calculer la valeur de capacité antioxydants (CA).

Hamed *et al.* (2020), ont mélangés 4,0 mL d'ABTS⁺ avec 20 μ L d'échantillon et l'absorbance a été mesuré à 734 nm après 6 min de réaction à température ambiante. L'activité de neutralisation de l'ABTS⁺ a été calculé comme décrit dans l'équation suivante :

$$\text{Inhibition} = \left[\frac{(\text{Abs}_{\text{blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}})}{\text{Abs}_{\text{blanc}}} \right] \times 100$$

Où $\text{Abs}_{\text{échantillon}}$ et $\text{Abs}_{\text{blanc}}$ appartiennent aux valeurs Abs d'échantillon avec et sans extrait, respectivement.

4.2.4.3 Pouvoir réducteur (FRAP)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants, ce qui donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au potentiel réducteur.

Oldoni *et al.* (2019) et Coz-Bolaños *et al.* (2018), ont réalisés ce test par la méthode de TPTZ. Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le (Fe^{3+} -TPTZ) à (Fe^{2+} -TPTZ) de couleur bleu.

Ils ont d'abord préparés le réactif FRAP, en mélangeant le tampon acétate (300 mmol/L, pH 3,6), la solution de 2, 4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 10 mmol/L dans 40 mmol/L HCl), et de FeCl_3 (20 mmol/L en solution aqueuse) à un rapport de volume 10 :1 :1.

Coz-Bolaños *et al.* (2018), ont mélangés 20 μL d'échantillons dilués de manière appropriée dans du DMSO avec 180 μL de réactif FRAP dans les puits d'une plaque à 96 puits. Les mélanges réactionnels ont été laissés pendant 6 min, et l'absorbance a été mesurée à 595 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Des blancs appropriés d'échantillons et de réactif FRAP sans TPTZ (pour corriger la couleur des extraits) ont été réalisés, ainsi que de la quercétine (dans du DMSO) et du FeSO_4 comme standard. La capacité FRAP a été calculée en équivalents ferreux (EF), c'est-à-dire la concentration d'extrait/quercétine qui produit une valeur d'absorbance égale à celle de 1mM FeSO_4 .

Oldoni *et al.* (2019), ont suivi le protocole suivant : 90 μL d'extrait hydro-alcoolique (EH) (300 mg/L), de fractions ou d'extraits (1000 et 500 mg/L, pour Fr- CH_2Cl_2 et autres respectivement) ont été mis avec 270 μL d'eau distillée, et 2,7 mL de réactif FRAP puis maintenus à 37°C au bain-marie pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 593 nm. Une solution aqueuse de Fe_2SO_4 a été utilisée pour la calibration à des concentrations de 100 à 1500 $\mu\text{mol/L}$, et les résultats ont été exprimés sous forme de $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ d'extrait.

4.2.5 Activités antidiabétiques :

Des tests *in vivo* ont été menées pour étudier l'activité antidiabétique de la plante *Moringa oleifera* et ses mécanismes d'action.

4.2.5.1 Etudes *in vivo* :

4.2.5.1.1 Conception de l'étude et dosage

Selon Gupta *et al.* (2012), des rats à jeun pendant la nuit ont été injectés par une dose de 50 mg/kg poids corporel de streptozotocine (STZ) par une injection intrapéritonéale. Les rats étaient considérés comme diabétiques lorsque leurs taux de glycémie à jeun étaient supérieurs à 250mg/dL. Les rats diabétiques ont reçu oralement une solution de glucose à 2% pendant la nuit pour surmonter l'hypoglycémie induite par le médicament. Les rats témoins ont reçu une infusion de 0,1 mmol/ L de tampon de citrate de sodium seul.

Les rats ont été affectés par hasard à 7 groupes avec 7 rats :

- Groupe I : Groupe control non traité
- Groupe II : Groupe diabétique non traité
- Groupe III : 2 groupes normo-glycémique traités par voie orale avec des doses de 150 et 300 mg/kg p.c., respectivement, par jour de l'extrait de *Moringa oleifera* pour 21 jours.
- Groupe IV : 2 groupes diabétiques traités par le STZ en plus traités par des doses de 150 et 300 mg/kg p.c. par jour et par voie orale de l'extrait de *Moringa oleifera* pour 21 jours, respectivement.
- Groupe V : Groupe traité par le glibenclamide, où les rats diabétiques ont été traités par 0.3 mg/kg p.c. par jour par voie orale de glibenclamide (dissous dans 0,5 ml d'eau distillée) pendant 21 jours.

Pour Manohar *et al.* (2012), les animaux ont été mis à jeun pendant 12-18 h avec un accès libre à l'eau avant l'administration de l'extrait. Après 12-18 h, la glycémie a été mesurée en utilisant le principe du glucose oxydase. La glycémie à jeun supérieure à 50 mg/dL a été incluse dans l'étude pour le groupe normo-glycémique et un niveau de glucose sanguin à jeun supérieur à 150 mg/dL pour le groupe diabétique.

Les lapins normo-glycémiques ont été répartis par hasard en cinq groupes (1-5) de cinq lapins chacun, comme suit :

- Groupe 1 : Normal, Contrôle (solution saline normale, 5 ml/kg de poids corporel par voie orale)
- Groupe 2 : Normal, Standard (Glibenclamide 0,5mg/kg dissous dans de l'eau distillée par voie orale)
- Groupe 3 : Normal, (*Moringa oleifera* 100 mg/kg p.c. extrait par voie orale)
- Groupe 4 : Normal, (*Moringa oleifera* 200 mg/kg p.c. d'extrait par voie orale)
- Groupe 5 : Normal, (*Moringa oleifera* 30 mg/kg p.c. d'extrait par voie orale)

Les animaux à jeun pendant la nuit ont été perfusés par la veine de l'oreille avec 150 mg/kg p.c. de monohydrate d'alloxane pendant 10 minutes après avoir pris leurs valeurs de glycémie à jeun. Ensuite, ils ont été autorisés à avoir un accès libre à la nourriture et à l'eau. Après une semaine d'induction à l'alloxane, les animaux dont la glycémie à jeun était comprise entre 300 et 350 mg/dl ont été inclus dans l'étude.

Les lapins diabétiques ont été répartis au hasard en cinq groupes (1-5) de cinq lapins chacun, comme suit, à savoir :

- Groupe 1 : Diabétique, témoin (a reçu une solution saline normale, 5 ml/kg de poids corporel par voie orale).
- Groupe 2 : Diabétique, Standard (Glibenclamide 0.5mg/kg p.c. dissous dans de l'eau distillée par voie orale)
- Groupe 3 : Diabétique, (*Moringa oleifera* 100 mg/kg p.c. d'extrait par voie orale)
- Groupe 4 : Diabétique, (*Moringa oleifera* 200 mg/kg p.c. d'extrait par voie orale)
- Groupe 5 : Diabétique, (*Moringa oleifera* 300 mg/kg p.c. d'extrait par voie orale)

La détermination des niveaux de glycémie dans le sang a été faite par le principe de la glucose-oxydase à des intervalles de 0, 1, 2 et 4 heures en ponctionnant la veine marginale de l'oreille du lapin. La glycémie a été estimée à l'aide d'un glucomètre (capteur Accu-Chek de Roche Diagnostic Corporation) et les résultats ont été exprimés en mg/dL.

4.2.5.2 Inhibition de l' α -glucosidase :

Ademiluyi *et al.* (2018) et Hamed *et al.* (2020) ont déterminés l'activité d'inhibition de α -glucosidase par le même protocole avec des concentrations différentes.

Pour Ademiluyi *et al.* (2018), une concentration appropriée des extraits et 100 μ L de solution d' α -glucosidase (EC 3.2.1.20) dans un tampon phosphate 100 mM (pH 6.9) ont été incubés à 25°C pendant 10 minutes. Par la suite, 50 μ L de solution de p-nitrophényl- α -d-

glucopyranoside 5 mM (dans le même tampon) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 25°C pendant 5 min, avant de lire l'absorbance à 405 nm. L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été exprimée en pourcentage (%) d'inhibition.

Pour Hamed *et al.* (2020) l'extrait a été dissous dans PBS (pH 6,9), et la solution d'échantillon (0.05 mL) et l' α -glucosidase (0.5 U/ mL, 0,10 mL) ont été ajoutés dans le puits de la plaque à 96 puits. Après 15 min, 0,05 mL de (5 mM) 4- pNPG a été ajouté au mélange et laissés réagir pendant 15 minutes supplémentaires. Le contrôle (n'étant pas identifié dans l'article original) a été effectué comme décrit précédemment avec le remplacement de la solution d'inhibiteur par du tampon. L'absorption à 405 nm a été mesurée, et l'inhibition de l' α -glucosidase a été calculée comme décrite dans l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Où Abs échantillon et Abs contrôle représentent les valeurs Abs en présence de l'inhibiteur et du tampon, respectivement.

4.2.5.3 Inhibition de l' α - amylase

Selon Hamed *et al.* (2020), le même volume (1,0 mL) de solution d'échantillon et d' α -amylase pancréatique porcine (1,0 U/mL) a été mélangé. Après 30 min, 1,0 mL d'amidon (1%) a été ajouté et le mélange a été incubé pendant 10 min à 37°C. Un millilitre d'acide dinitrosalicylique(DNS) a été ajouté, et le mélange a été incubé dans de l'eau bouillante pendant 5 min. Enfin, l'absorption à 540 nm a été mesurée et l'inhibition de l' α -amylase a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Pour Ademiluyi *et al.* (2018) une concentration appropriée des extraits et 50 μ L dans du tampon phosphate de sodium 20 mM (pH 6.9 avec 6 mM NaCl) contenant de l' α -amylase pancréatique (EC 3.2.1.1) (0,5 mg/ml) ont été incubés à 25°C pendant 10 min. Ensuite, 50 μ L de solution d'amidon à 1% (préparée dans le même tampon) a été ajouté et le mélange réactionnel a été incubé à 25°C pendant 10 min. Ensuite, 200 μ L de DNS ont été ajoutés et la réaction a été arrêtée en l'incubant dans un bain d'eau bouillante pendant 5 minutes. Cette solution a ensuite été refroidie à température ambiante et diluée avec 2 ml d'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 540 nm. L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été exprimée en pourcentage (%) d'inhibition.

Chapitre 5

Résultats et discussions

5 Chapitre 5 : Résultats et discussions

5.1 Teneur en polyphénols et flavonoïdes

Pour tester la présence des polyphénols et les flavonoïdes dans la plante *Moringa oleifera* on a analysé plusieurs articles dans lesquels les auteurs ont testés la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes.

Les résultats des tests de détermination de teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes sont présentés dans le tableau (3). Vongsak *et al.* (2013) ont rapportés que la teneur totale en polyphénols totaux de feuilles séchées extraites au Soxhlet avec 50% éthanol (132.5 mg CAE/g extrait) était plus élevée que celle extraite au Soxhlet avec 70% éthanol (124.7 mg CAE/g extrait). Mais ils rapportent le contraire pour les flavonoïdes où l'extrait 70% éthanol (67.1 mg IQE/g extrait) avait une teneur inférieure à l'extrait 70% éthanol (37.7mg IQE/g extrait). Ces résultats peuvent être expliqués par la polarité du solvant et la nature des composés extraits, comme c'était prouvé par Oldoni *et al.* (2019).

Hamed *et al.* (2020) ont rapportés que la variation était en fonction du traitement thermique, donc la température la plus élevée 80°C a montré une valeur (161.48 mg d'AG/g d'extrait) supérieure à celle de la plus basse 20°C (TPC 128.15mg d'AG/g d'extrait), ce phénomène est dû au fait que l'augmentation de la température d'extraction peut augmenter le taux de diffusion et la solubilité des composés phénoliques. Les résultats de la teneur totale en flavonoïdes rapportés par Hamed *et al.* (2020) sont les plus basses en fonction de la température (6.43 à 13.48 mg QE/g d'extrait sec) par rapport aux résultats rapportés par Ademiluyi *et al.* (2018) et Vongsak *et al.* (2013).

Il a été rapporté par Ademiluyi *et al.* (2018) que le traitement thermique entraîne la dégradation des flavonoïdes dans les légumes, cela peut s'expliquer la diminution de la teneur en flavonoïdes. Selon le tableau (3) on observe que la teneur en polyphénols totaux la plus élevée a été rapporté par Hamed *et al.* (2020) au 80°C et Vongsak *et al.* (2013) avec éthanol 50%, respectivement et Vongsak *et al.* (2013) avec concentration 70% d'éthanol, et Ademiluyi *et al.* (2018) pour les feuilles séchées par lyophilisation ont rapportés la plus haute teneur en flavonoïdes car les méthodes de séchage ont une grande influence sur la teneur, mais les deux

résultats restent moins que ceux rapportés par Moyo *et al.* (2012) (extraction avec l'acétone (295.01 mg QE/g d'extrait) et cela est dû probablement à la polarité de solvant qui a une grande influence sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

Nous avons remarqué quelques différences concernant le contenu en composés phénoliques. Cette différence est due à plusieurs facteurs, tels que la nature du solvant, le temps d'extraction, la température, le pH, le rapport solide-liquide et la taille des particules, l'âge des feuilles, les conditions climatiques, la partie de la plante analysée, la manipulation post-récolte, le traitement et le stockage (Sreelatha & Padma., 2009 ; Coz-Bolaños *et al.*, 2018).

Tableau 3: la teneur en phénols totaux et flavonoïdes totaux.

Source	Code	TPC	TFC
(Vongsak <i>et al.</i> , 2013)	SD70	124.7 ± 2.4	67.1 ± 2.2
TPC (mg CAE/100g extrait)	SD50	132.5 ± 5.9	37.7 ± 0.9
TFC (mg IQE/g extrait)			
(Hamed <i>et al.</i> , 2020)	ML20°C	128.15 ± 2.73	6.43 ± 1.22
TPC (mg AG/g d'extrait)	ML40°C	133.18 ± 1.65	8.79 ± 0.31
TFC (mg QE/g d'extrait)	ML60°C	142.71 ± 1.77	10.48 ± 1.11
	ML80°C	161.48 ± 2.76	13.48 ± 1.23
(Ademiluyi <i>et al.</i> , 2018)	MFD	68.75 ± 0.00	62.50 ± 0.89
TPC (mg AG/g d'extrait)	MAD	59.38 ± 0.42	58.33 ± 0.00
TFC (mg QE/g d'extrait)	MSD	50.00 ± 0.00	45.83 ± 0.89
	MOD	46.88 ± 1.42	25.00 ± 0.00

SD : Soxhlet des feuilles séchées ; ML : Feuilles de *Moringa* ; MFD : *Moringa* freeze-dried ; MAD : *Moringa* air-dried ; MSD : *Moringa* sun dried ; MOD : *Moringa* oven dried

5.2 Chromatographie liquide haute performance (HPLC-DAD)

Oldoni *et al.* (2019) ont trouvés les composés phénoliques suivants : acide gallique, acide caféique, rutine et quercétine qui ont été identifiés et quantifiés dans l'extrait hydro-alcoolique (HE), fractions et extraits (Tableau 4). L'acide caféique était le composé le plus abondant, avec des concentrations de 3529 µg/g d'extrait et 2644 µg/g d'extrait dans les fractions d'acétone (Fr-Ace) et d'acétate d'éthyle (Fr-EtOAc), respectivement.

Le chromatogramme d'extrait hydro-alcoolique (HE) a révélé la présence de deux mono-phénols (acides gallique et caféique) et de deux flavonoïdes (rutine et quercétine). Les fractions d'acétate d'éthyle (Fr-EtOAc), d'acétone (Fr-Ace), d'éthanol (Fr-EtOH) et d'éthanol : eau (Fr-EtOH : H₂O) obtenues par la méthode d'extraction EEtOH-F contenaient des niveaux plus élevés

de composés phénoliques que l'extrait hydro-alcoolique(HE), démontrant l'efficacité du processus d'extraction bio-guidé (Tableau 4). Dans les fractions Fr-EtOAc et Fr-Ace, les niveaux d'acide caféique et de rutine ont augmenté de 20 % et 41 %, et de 40 % et 68 %, respectivement, par rapport à l'HE. Fr-EtOH : H₂O et Fr-EtOH. Les fractions les plus polaires, ont montré des augmentations dans la teneur d'acide gallique et de quercétine de 89,0% et 73,2%, respectivement.

Tableau 4: Composés phénoliques individuels identifiés sur l'extrait hydro-alcoolique HE, les fractions et les extraits, obtenus à partir des feuilles de *M. oleifera* Oldoni *et al.*, 2019).

Echantillon	Acide gallique	Acide caféique	Rutine	Quercétine
	(µg de composé / g d'extrait ou de fraction)			
Méthode d'extraction : EEtOH-F				
HE	16.50	2129	477.4	127.5
Fr-Hex	n.i	61.52	262.6	92.74
Fr-CH ₂ Cl ₂	n.i.	12.68	286.5	153.4
Fr-EtOAc	n.i.	2644	810.6	217.0
Fr-Ace	n.i.	3529	1503	n.i.
Fr-EtOH	n.i.	2210	262.6	476.8
Fr-EtOH:H ₂ O	154.3	2422	453.5	n.i.

n.i: non identifié ; HE : extrait hydro-alcoolique ; Fr-Hex : fraction d'hexane ; Fr-CH₂Cl₂ : Dichlorométhane ; Fr-EtOAc : acétate d'éthyle ; Fr-Ace : acétone ; Fr-EtOH : éthanol ; Fr-EtOH : H₂O : éthanol : eau.

Les résultats d'Ademiluyi *et al.* (2018) de l'effet de certaines méthodes de séchage sur la composition en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits de feuilles de *Moringa* sont présentés dans le tableau (5) et la figure (7).

Tableau 5: Effets du séchage sur les constituants phénoliques de la feuille de *Moringa oleifera* (Ademiluyi *et al.*, 2018).

Composés	Lyophilisé	Séché à l'air	Séché au soleil	Séché au four
	mg/g d'extrait			
Acide gallique	43.19 ± 0.02	58.35 ± 0.01	41.06 ± 0.01	60.11 ± 0.03
Catéchine	6.08 ± 0.01	7.13 ± 0.03	5.98 ± 0.01	29.76 ± 0.01
Acide chlorogénique	79.53 ± 0.01	63.19 ± 0.03	62.35 ± 0.04	65.83 ± 0.01
Acide caféiques	78.91 ± 0.03	62.81 ± 0.02	78.17 ± 0.03	58.72 ± 0.02
Acide ellagique	5.86 ± 0.01	31.04 ± 0.01	6.09 ± 0.01	19.65 ± 0.02
Epicatéchine	43.37 ± 0.04	27.76 ± 0.01	18.63 ± 0.01	28.95 ± 0.01
Rutine	91.05 ± 0.01	75.38 ± 0.04	89.14 ± 0.02	70.21 ± 0.03
Quercétine	17.83 ± 0.01	59.01 ± 0.01	62.17 ± 0.03	19.87 ± 0.03
Kaempferol	43.90 ± 0.02	40.11 ± 0.01	9.58 ± 0.01	19.65 ± 0.02

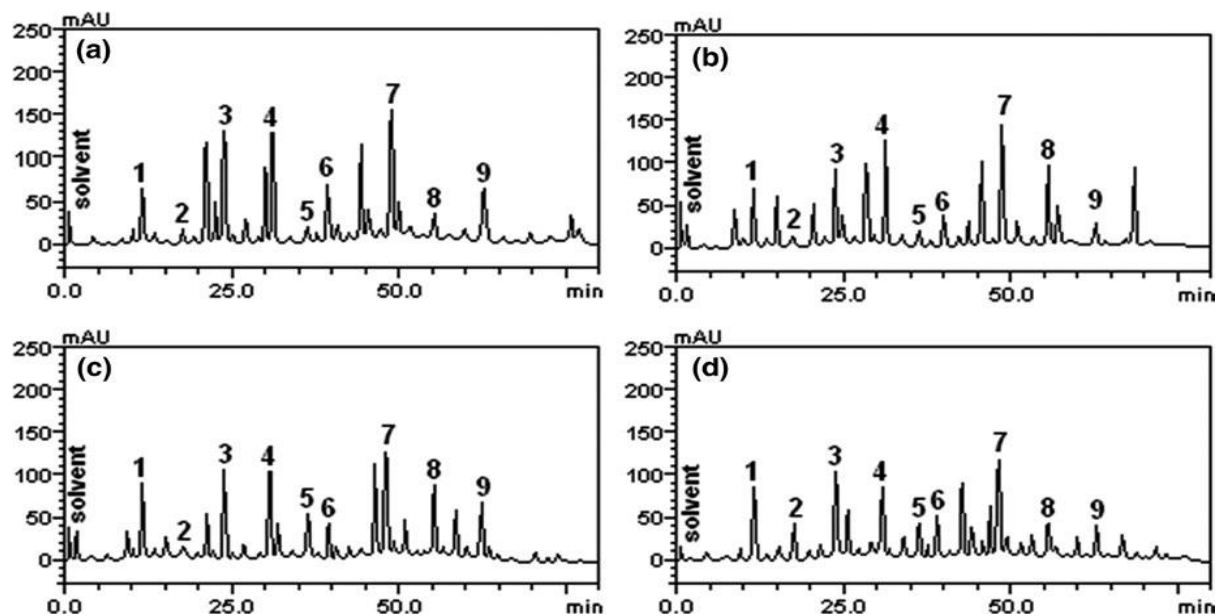


Figure 7: Profil représentatif de chromatographie liquide à haute performance de feuille de *Moringa oleifera* (Ademiluyi *et al.*, 2018). (a) feuille de *Moringa oleifera* lyophilisée (b) séchée au soleil (c) séchée à l'air et (d) séchée au four. Acide gallique (pic 1), catéchine (pic 2), acide chlorogénique (pic 3), acide caféique (pic 4), acide ellagique (pic 5), épicatechine (pic 6), rutine (pic 7), quercétine (pic 8) et kaempférol (pic 9)

L'étude d'Ademiluyi *et al.* (2018) a révélé que l'acide gallique, la catéchine, l'épicatechine, l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide ellagique, la quercétine, la rutine et le kaempférol étaient les constituants phénoliques prédominants de la feuille de *Moringa*. Le résultat a montré qu'il y avait une variation dans la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits de feuilles de *Moringa* séchées. Cependant, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide caféique et la rutine étaient les plus abondants dans la composition des polyphénols et des flavonoïdes des feuilles de *Moringa* séchées différemment. L'échantillon lyophilisé ayant les teneurs les plus élevés en acide chlorogénique, acide caféique et rutine, 79.53 ± 0.01 , 78.91 ± 0.03 , 91.05 ± 0.01 mg/g d'extrait, respectivement.

Des résultats similaires ont été trouvés par Coz-Bolaños *et al.* (2018) qui ont identifié dans les échantillons qui appartient de la décoction de *Moringa* (MD) ainsi dans l'infusion de *Moringa* (MI) les acides caféique et gallique, et les flavonoïdes catéchine et rutine. En plus des quatre composés phénoliques détectés dans les échantillons des extraits obtenus à partir de la décoction de *Moringa* (MD) et l'infusion de *Moringa* (MI). L'acide chlorogénique et

l'épigallocatechine gallate (EGCG) ont également été identifiés dans l'échantillon d'extrait méthanolique (ME). Les concentrations des composés phénoliques détectés dans les préparations de la décoction de *Moringa* (MD) et l'infusion de *Moringa* (MI) étaient plus faibles que celles détectées dans l'échantillon d'extrait méthanolique (ME).

Sur la base de ces résultats, il apparaît que l'acide chlorogénique, l'acide caféique, la quercétine et la rutine sont les principaux composants de *Moringa oleifera*. Ces différences entre les résultats tels que la teneur peuvent être attribuées à des facteurs géographiques et climatiques et au solvant d'extraction (Oldoni *et al.*, 2019).

5.3 Activité antioxydants

Les composés phénoliques sont considérés comme les principaux composés phytochimiques responsables de l'activité antioxydant des matières végétales (Sreelatha & Padma, 2009 ; Shih *et al.*, 2011 ; Pakade *et al.*, 2013). Dans cette étude comparative on a analysé quelques articles où les tests d'ABTS, DPPH et le FRAP ont été réalisés.

5.3.1 Neutralisation du radical DPPH

D'après les résultats illustrés dans le tableau (6), on remarque que les fractions obtenues à partir d'extrait hydro-alcoolique HE (méthode EEtOF-F) en utilisant l'acétate d'éthyle, l'acétone et l'éthanol : l'eau, préparées par Oldoni *et al.* (2019) ont montrés une activité antiradicalaire contre le DPPH solvant-dépendante. Avec une augmentation des potentiels antioxydants pour les fractions et les extraits obtenus à partir de solvants de polarité moyenne à élever, donc l'activité antiradicalaire contre le DPPH la plus élevée était celle du Fr-EtOAc (526,7 $\mu\text{mol TEAC/g}$) qui a présenté une augmentation de 35% de la capacité de piégeage du DPPH par rapport à la fraction d'extrait hydro-alcoolique HE (341,6 $\mu\text{mol TEAC/g}$) et la plus basse était celle du Fr- CH_2Cl_2 .

Coz-Bolaños *et al.* (2018) ont rapportés que l'infusion des feuilles de *Moringa* (MI) incubée pendant 5 min, a montré une capacité de piégeage de DPPH plus élevée (0.720 $\mu\text{mol TE/mL}$) en comparaison à ceux de la décoction des feuilles de *Moringa* (MD) bouillies pendant 30 min (0.655 $\mu\text{mol TE/mL}$) mais moins que ceux d'extraction méthanolique (ME) (1.17 $\mu\text{mol TE/mL}$). Les deux méthodes de Coz-Bolaños *et al.* (2018) sont moins efficaces que ceux rapportés par Oldoni *et al.* (2019), cette différence est due à la polarité des solvants utilisés pour l'extraction.

Hamed *et al.* (2020) ont utilisés la valeur IC₅₀ qui indique la quantité d'extrait nécessaire pour éliminer 50% du radical libre, pour exprimer les résultats du test de l'activité de piégeage du DPPH•. Comme c'est présenté dans la figure (7) l'augmentation de la température d'extraction de 20 à 80°C a abouti une diminution significative dans la valeur IC₅₀ de 77,24 à 56,87 µg/mL, ces résultats sont presque analogues à ceux de Vongsak *et al.* (2013) qui ont rapportés que la valeur IC_{50a} diminué de 74.02 à 55.07 µg/mL mais en fonction de la concentration de solvant utilisé (50%, 70% éthanol). Cette diminution de la valeur IC₅₀ signifiait l'augmentation du piégeage des radicaux libres.

Tableau 6: Activité antioxydants d'extraits, *M. oleifera*, évaluée par les tests FRAP, DPPH et ABTS.

Références	Extrait	ABTS	DPPH	FRAP
(Coz-Bolaños <i>et al.</i> , 2018) (µmol TE/mL)	MD	5.75 ± 0.28	0.655 ± 0.03	1.185 ± 0.08
	MI	6.33 ± 0.17	0.720 ± 0.01	1.469 ± 0.06
	ME	8.86 ± 0.69	1.17 ± 0.06	8.01 ± 0.33
(Oldoni <i>et al.</i> , 2019) (DPPH/ ABTS en µmol TEAC/g) (FRAP en µmol Fe ²⁺ /g)	HE	928.5 ± 20.8	341.6 ± 42.3	1293.5 ± 54.7
	Fr-Hex	190.5 ± 14.6	95.61 ± 8.13	n.i.
	Fr-CH ₂ Cl ₂	224.9 ± 3.94	83.04 ± 1.52	537.01 ± 26.2
	Fr-EtOAc	671.5 ± 72.9	526.7 ± 49.0	1678.9 ± 68.8
	Fr-Ace	705.2 ± 45.2	435.7 ± 62.6	1789.9 ± 89.8
	Fr-EtOH	475.6 ± 24.3	373.5 ± 37.8	1162.2 ± 77.9
	Fr- EtOH: H ₂ O	876.0 ± 43.4	526.4 ± 47.6	1436.5 ± 53.8

n.i: non identifié ; MD : décoction des feuilles de *Moringa* ; MI : l'infusion des feuilles de *Moringa* ; ME : extraction méthanolique ; HE : extrait hydro-alcoolique ; Fr-Hex : fraction d'hexane ; Fr-CH₂Cl₂ : Dichlorométhane ; Fr-EtOAc : acétate d'éthyle ; Fr-Ace : acétone ; Fr-EtOH : éthanol ; Fr-EtOH : H₂O : éthanol : eau ; FE : équivalent ferreux.

5.3.2 Activité de piégeage des radicaux ABTS

L'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera*(ME) préparé par Coz-Bolaños *et al.*(2018) a été le plus efficace piégeur du radical ABTS (8.86µmol TE/mL) par rapport à l'infusion MI (6.33µmol TE/mL), et la décoction MD (5.75µmol TE/mL), mais son activité est significativement inférieure aux résultats de toutes les fractions d'extrait hydro-alcoolique HE (méthode EEtOF-F) préparés par Oldoni *et al.* (2019) comme présenté dans le tableau (6). Ces derniers ont rapportés que l'activité de piégeage d'ABTS la plus élevée était celle de la fraction

HE ($928.5 \pm 20.8 \mu\text{mol TEAC/g}$) et la plus basse était celle de la fraction Fr-Hex, à cause de la polarité du solvant.

La figure (8) de Hamed *et al.*(2020)montrel'IC₅₀ pour ABTS•+ a diminué de manière significative de 62,24 à 53,56 $\mu\text{g/mL}$ lorsque la température d'extraction a passée de 20 à 80°C pour les extraits tandis que Moyo *et al.*(2012)ont rapportés que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* était un piègeur rapide et efficace du radical ABTS et le pourcentage d'inhibition augmente de 0 à 100% avec l'augmentation de la concentration de 0 à 0.1 mg/mL, ces résultats sont analogues aux résultats de test DPPH.

En comparant les résultats on observe que l'extraction aqueuse peut ne pas être le système de solvant le plus approprié pour l'extraction des polyphénols par opposition au méthanol (Coz-Bolaños *et al.*, 2018).

Les propriétés antioxydants des aliments végétaux sont directement proportionnelles à leur teneur en polyphénols (Ademiluyi *et al.*, 2018). Cette activité est principalement due à leur capacité à piéger les radicaux libres directement par don des électrons ou des atomes d'hydrogène (Oldoni *et al.*, 2019). La différence entre les différentes études peut s'expliquer par l'effet de traitement thermique (Hamed *et al.*, 2020) et les méthodes de séchage (Ademiluyi *et al.*, 2018). En plus des facteurs précédemment cités et qui affectent aussi le rendement d'extraction.

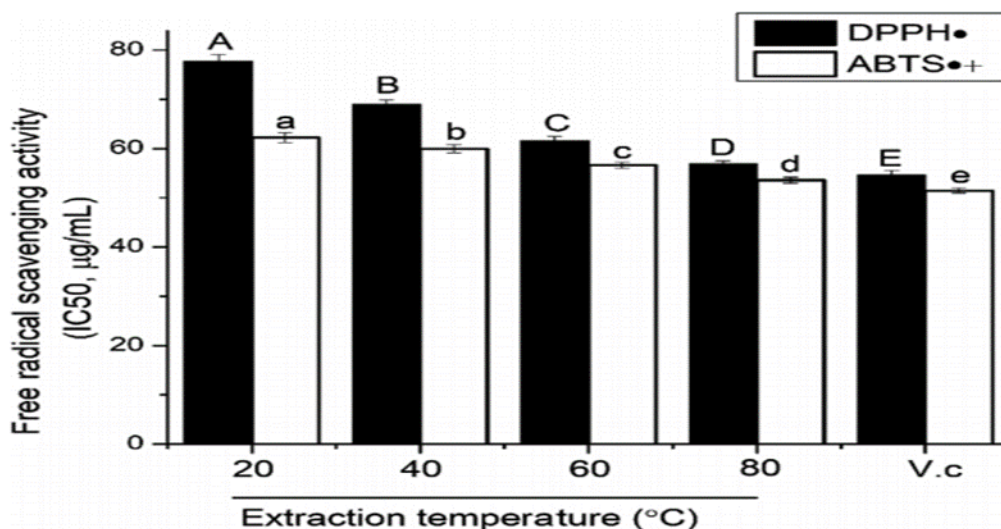


Figure 8: Activités antiradicalaire de l'extrait *M. oleifera* contre le DPPH et l'ABTS. (Hamed *et al.*, 2020). Différentes lettres en exposant (a-d) représentent une différence significative ($P < 0,05$)

5.3.3 Pouvoir réducteur (FRAP)

Oldoni *et al.* (2019) ont montrés que le pouvoir réducteur le plus élevé a été obtenu à partir des fractions produites à l'aide d'acétone ($1789.9 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$) et le plus bas a été celui de la fraction du dichlorométhane ($537.01 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$). Coz-Bolaños *et al.* (2018) ont rapportés $8.01 \mu\text{mol TE}/\text{ml}$ pour l'extraction méthanolique qui était déjà supérieur a celle obtenu par les autres méthodes d'extraction aqueuse (infusion $1.469 \mu\text{mol TE}/\text{mL}$ et décoction $1.185 \mu\text{mol TE}/\text{mL}$) (Tableau 6), cela a été confirmé par Moyo *et al.* (2012) qui ont mentionnés que le pouvoir réducteur de l'extrait d'acétone s'est avérée plus élevée par rapport à l'extrait aqueux.

Le pouvoir réducteur est directement liée à la concentration de l'extrait et à son activité antioxydant (Siddhuraju & Becker, 2003 ; Iqbal & Bhanger, 2006; Shih *et al.*, 2011; Moyo *et al.*, 2012), ainsi que la polarité du solvant (Coz-Bolaños *et al.*, 2018 ; Oldoni *et al.*, 2019).

Il y a une corrélation directe entre l'activité antioxydant et le pouvoir réducteur de certains extraits des plantes. Les propriétés réductrices sont généralement associées à la présence de réducteurs dans l'extrait et qui exercent une action antioxydante en brisant la chaîne des radicaux libres par don d'un atome d'hydrogène (Shih *et al.*, 2011).

5.4 Effet Hypoglycémiant

5.4.1 Extrait méthanolique de *M. oleifera*

Le principe de cette étude est la comparaison entre l'effet hypoglycémiant de la Glibenclamide, qui est un agent hypoglycémiant et l'extrait méthanolique de *M. oleifera* (MOMtE) consommé par les rats du groupe control et diabétiques traités par la streptozotocine, (un agent hyper-glycémiant) qui agit sur les ilots β de pancréas.

Les taux de glucose et insuline sériques des rats de control ont légèrement augmentés avec l'augmentation de dose de l'extrait méthanolique (100% méthanol). La concentration de glucose et insuline initiale était 81.78 ± 12.84 et $19.07 \pm 0.83 \text{ mg}/\text{dL}$, respectivement. Après le traitement avec $150 \text{ mg}/\text{kg}$ MOMtE la glycémie a diminué légèrement à $80.23 \pm 11.71 \text{ mg}/\text{dL}$ et l'insulinémie a augmenté à $19.31 \pm 0.56 \text{ mg}/\text{dL}$. A $300 \text{ mg}/\text{kg}$ de MOMtE ils ont obtenu 82.56 ± 21.71 et $20.43 \pm 0.17 \text{ mg}/\text{dL}$ pour la glycémie et l'insulinémie, respectivement (Tableau 7).

Tableau 7: Effet de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* sur la glycémie et l'insulinémie chez les rats normaux et diabétique (Gupta *et al.*, 2012).

Groupe		Glycémie (mg/dL)	Insulinémie (mg/dL)
Control	Non-traités	81.78 ± 12.84	19.07 ± 0.83
	150 mg/kg p.c. MOMtE	80.23 ± 11.71	19.31 ± 0.56
	300 mg/kg p.c. MOMtE	82.56 ± 21.71	20.43 ± 0.17
Diabétique	Non-traités	261.28 ± 13.20	9.14 ± 1.11
	150 mg/kg p.c. MOMtE	213.37 ± 28.36	12.21 ± 0.35
	300 mg/kg p.c. MOMtE	162.37 ± 22.78	13.31 ± 0.78
	0.3 mg/kg p.c. glibenclamide	141.54 ± 14.61	16.84 ± 0.56

Pc : poids corporel

Chez les rats diabétiques le taux du glucose était très élevé 261.28±13.20 mg/dL par rapport à l'insuline qui était 9.14±1.11 mg/dL, ce qui est inférieur à celle trouvés chez les rats de control. Le traitement avec le MOMtE a induit une diminution de la concentration du glucose, 213.37±28.36mg/dL pour la dose de 150 mg/kg et 162.37±22.78 mg/dL pour une dose de 300 mg/kg, et une augmentation de la concentration de l'insuline, 12.21±0.35mg/dL pour 150 mg/kg et 13.31±0.78 mg/dL pour 300 mg/kg de MOMtE. Ces résultats reflètent un effet inférieur en comparaison avec le traitement de Glibenclamide, où il été noté une concentration minimale de glucose 141.54±14.61 mg/dL et une concentration maximale d'insuline 16.84±0.56 mg/dL.

Bamagous *et al.* (2018) ont notés des résultats similaires, où un traitement par 200 mg/kg de *Moringa oleifera* chez les rats avec un diabète induit par le STZ pour 30 jours, a résulté à une diminution de taux de glucose dans le sang (150 mg/dL) en comparaison avec le groupe control d'environ (300 mg/dL). Dans une autre étude, menée par Hafiz *et al.* (2016), les rats de control et les rats qui souffrent de diabète léger induit par STZ, la dose de 200 mg/kg a induit la diminution de taux de glucose dans le sang par 31.2% et 32.8%, respectivement. Alors que pour le groupe avec le diabète sévère, les taux de glucose à jeun et postprandiale ont été diminués 69.2% et 51.2%, respectivement.

5.4.2 Extrait aqueux de *M. oleifera*

Le principe de l'étude de Manohar *et al.* (2012) est similaire à celui de Gupta *et al.* (2012). L'évaluation de la glycémie chez 2 groupes de lapins, contrôle et diabétique induit

par l'Alloxan. Les 2 groupes ont été traités par la Glibenclamide 0.5 mg/kg, et avec des différentes concentrations des extraits de *M. oleifera* 100, 200, 300 mg/kg.

Chez le groupe normo-glycémique, le Glibenclamide a causé une diminution continuée de la concentration du glucose de sang, commençant de 129.40±0.81 mg/dL vers 98.60±1.50 mg/dL. Le traitement par les différentes concentrations de *Moringa oleifera* a causé lui-même une diminution de taux de glucose dans le sang jusqu'à 2 heures après le traitement, mais à la 4^{ème} heure une augmentation de la concentration de glucose a été marquée (Tableau 8).

Pour le groupe diabétique les mêmes résultats ont été remarqué mais avec différentes concentrations. Le traitement par le Glibenclamide a provoqué une diminution progressive de la glycémie, de 331.80±1.93 mg/dL à 257.0±3.96 mg/dL. Aussi les différentes doses (100, 200, 300 mg/kg) de *M. oleifera* ont provoqués une diminution dose dépendante de la glycémie (Tableau 8). Mais après 4 heures de traitement le taux de glucose a légèrement augmenté pour les 3 doses.

Tableau 8: Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera* sur le niveau de glucose dans le sang de lapins normo-glycémique et diabétiques(Manohar *et al.*, 2012)

	Traitement	Glycémie (mg/dl)			
		0 h	1 h	2 h	4 h
Normo-glycémique	Control (Normal saline)	129.60±1.02	127.40±1.28	125.60±1.03	128.0±0.89
	Glibenclamide 0.5mg/kg	129.40±0.81	109.40±0.87	105.0±1.30	98.60±1.50
	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	126.40±2.13	116.80±2.17	113.0±3.13	121.20±2.87
	<i>M. oleifera</i> 200mg/kg	138.40±5.08	118.0±5.17	108.0±1.37	115.60±2.92
	<i>M. oleifera</i> 300mg/kg	129.60±1.02	127.40±1.28	112.40±0.87	116.0±1.58
Diabétique	Control (Normal saline)	331.80±1.93	328.0±1.61	324.80±2.29	329.60±1.69
	Glibenclamide 0.5mg/kg	331.80±1.93	275.20±8.44	265.60±4.90	257.0±3.96
	<i>M. oleifera</i> 100mg/kg	308.20±9.01	285.60±7.38	279.20±6.95	294.0±7.03
	<i>M.oleifera</i> 200mg/kg	324.60±10.30	282.40±8.70	275.40±8.28	307.60±7.62
	<i>M. oleifera</i> 300mg/kg	313.40±11.26	286.60±10.98	278.60±11.4	296.60±9.21

Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par AbdEldaim *et al.* (2017) où l'injection de rats avec de l'alloxan au début de l'expérience, a augmenté de manière significative les niveaux de glycémie dans le 2^{ème} (témoin diabétique) et 4^{ème} (diabétique) groupe par rapport à ceux du 1^{er} (témoin) et 3^{ème} (normo-glycémique) groupe de près de cinq fois. L'administration aux rats du 3^{ème} groupe de l'extrait aqueux de feuilles de M.O. n'a pas eu de changements significatifs sur les niveaux de glucose sanguin par rapport aux rats témoins (1^{er} groupe).

Le traitement des rats diabétiques du 4^{ème} groupe avec l'extrait aqueux de feuilles de M.O. a significativement réduit le niveau de glucose dans le sang par rapport à celui du 2^{ème} groupe de près de 3,6 fois. Ahmad *et al.* (2019) ont trouvés qu'un traitement de 8 semaines avec 50 mg par jour de poudre de *Moringa oleifera* a provoqué une diminution significative de concentration de glucose de sang en comparaison avec les rats sains. Abdellatif *et al.* (2014) ont aussi observé que l'administration orale de l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* aux rats diabétiques a normalisé les taux sériques élevés de glucose.

5.4.3 Inhibition des enzymes digestives : α -amylase et α -glucosidase

D'après les résultats de Hamed *et al.* (2020), il a été remarqué que l'inhibition de l' α -amylase et l' α -glucosidase est proportionnelle avec la température d'extraction. Ils ont remarqués un IC₅₀ 0.540±0.021 et 0.221±0.022µg/ml pour α -amylase et α -glucosidase respectivement avec l'extrait obtenu à 80°C (Tableau 9). L'activité d'inhibition était inférieure à celle d'acarbose qui a un IC₅₀ 0.086±0.007 et 0.072±0.009 µg/mL pour α -amylase et α -glucosidase respectivement. Ces résultats sont compatibles avec celles de Parwani *et al.* (2016) qui ont trouvés que l'extrait méthanolique de *M. oleifera* obtenu aux températures 100 et 150°C provoque l'inhibition de l'activité de α -glucosidase par 50.3%. L'activité d'inhibition des enzymes digestives trouvés par Chen *et al.* (2017) était 88.27% pour une concentration 0.1 mg/mL d'extrait (Ethanol 80%) pour α -amylase et 89.68% pour la même concentration d'extrait.

Ademiluyi *et al.* (2018) ont basés leur analyse sur l'effet de séchage d'échantillon sur le potentiel d'inhibition de l'activité α -amylase et α -glucosidase. L'IC₅₀ maximal trouvé est 64.29±0.52 mg/mL pour α -amylase et 38.12±0.71 mg/mL pour α -glucosidase qui correspond à la lyophilisation. L'ordre des résultats était lyophilisation > séchage à soleil > séchage au

l'aire>séchage au four. Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par Tshabalala *et al.* (2020) qui ont utilisé le séchage au four pour leurs échantillons et trouvés une IC₅₀ 40.7 mg/mL.

Tableau 9: Effet de la température d'extraction et du séchage sur l'inhibition des activités de α -amylase et α -glucosidase.

(Hamed <i>et al.</i> , 2020)	Conditions	IC ₅₀ (mg/mL)	
		α -Amylase	α -Glucosidase
	Extrait obtenue à 20 °C	0.733±0.090	0.311±0.011
	Extrait obtenue à 40 °C	0.683±0.040	0.298±0.017
	Extrait obtenue à 60 °C	0.62±0.016	0.258±0.023
	Extrait obtenue à 80 °C	0.540±0.021	0.221±0.022
	Acarbose	0.086±0.007	0.072±0.009
(Ademiluyi <i>et al.</i> , 2018)	lyophilisées	64.29±0.52	38.12±0.71
	séchées à l'air	73.47±0.81	42.52±0.14
	séchées au soleil	69.90±0.14	46.16±0.09
	séchées au four	81.82±0.03	51.27±0.10

5.4.4 Le mécanisme d'action de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est une plante qui a été identifiée comme contenant des antioxydants naturels (Pakade *et al.*, 2013). Ces composants antioxydants peuvent présenter une thérapie prometteuse pour le diabète, soit par l'inhibition des enzymes digestives tel que l' α -glucosidase et α -amylase (Chenet *et al.*, 2017) par les composés phénoliques, comme l'acide chlorogénique, l'acide gallique, rutine, (Ademiluyi *et al.*, 2018) qui ont la capacité de bloquer ou de renforcer des enzymes spécifiques responsables de la digestion des glucides (Onu *et al.*, 2013). Ou par le renforcement des systèmes de détoxification et d'anti-oxydation endogènes au niveau pancréatique ou hépatique contre les radicaux libres et les cytotoxines en augmentant les taux du superoxyde dismutases (SOD), la catalase, le glutathion réduit (GSH) qui sont des antioxydants, alors réduisant la peroxydation lipidique (Gupta *et al.*, 2012) qui est provoqué par les radicaux libres (Omodanisi *et al.*, 2017). A part de lutte contre le stress oxydative, quelques composants de *Moringa oleifera* tels que le kaempférol et la quercétine semblent être impliqués dans la stimulation des cellules β et la sécrétion ultérieure d'insuline préformée (Manohar *et al.*, 2012) alors régulant la glycémie et l'insulinémie.

Conclusion

Conclusion

Dans cette étude nous avons analysée les résultats de 23 articles scientifiques afin de mettre en évidence l'activité antioxydants et antidiabétique des différents extraits de la plante *Moringa oleifera*. Les résultats portant sur les métabolites secondaires de la plante ont permis d'obtenir une teneur en composés phénoliques totaux comprise entre [46.88 ; 295.01 mg EAG/ g d'extrait], avec l'acétone comme meilleur solvant extracteur. Pour les flavonoïdes une teneur intéressante entre [6.43 et 67.1] est obtenue avec la meilleure teneur pour l'éthanol à 70%. L'analyse de quantification par HPLC des différents extraits de *Moringa oleifera* a montré la présence de l'acide chlorogénique, l'acide caféique, la quercétine et la rutine comme principaux composants. Les extraits de *M. oleifera* ont la capacité de piéger les radicaux libre (DPPH et ABTS) d'une façon concentration dépendante. L'administration buccale des différents extraits de *M. oleifera* aux rats diabétiques a montré une capacité de normalisé les taux élevés de glycémie, ainsi qu'une capacité d'inhibition des enzymes digestive tel que l' α -glucosidase et α -amylase. Les résultats montrent que les composés phénoliques sont responsables à l'activité antioxydant et antidiabétique de *Moringa oleifera*. Cette dernière est due à la présence de quelque composant comme le kaempférol et la quercétine ayant une activité antioxydant et impliqués aussi dans la stimulation des cellules β et la sécrétion d'insuline.

Référence bibliographique

Références

- A. Bamagous, G., S. Al Ghamdi, S., Ibrahim, A. A., M. Mahfoz, A., A. Afify, M., HM. Alsugoor, M., . . . Thamaraiselvan, R. (2018). Antidiabetic and antioxidant activity of ethyl acetate extract fraction of *Moringa oleifera* leaves in streptozotocin-induced diabetes rats via inhibition of inflammatory mediators. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp.320-327. doi:10.4103/2221-1691.235327
- Abd El Latif, A., El Bialy, B. E., Hamada, D. M., & Abd Eldaim, M. A. (2014). *Moringa oleifera* leaf extract ameliorates alloxan-induced diabetes in rats by regeneration of β cells and reduction of pyruvate carboxylase expression. *Biochemistry and Cell Biology*, 7p. doi: dx.doi.org/10.1139/bcb-2014-0081
- Abd Eldaim, M. A., Abd Elrasoul, A. S., & Abd Elaziz, S. A. (2017). An aqueous extract from *Moringa oleifera* leaves ameliorates hepatotoxicity in alloxan-induced diabetic rats. *Biochimie et biologie cellulaire*, 32p. doi:https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0256
- Ahmad, J., Imran, K., & Renald, B. (2019). *Moringa oleifera* and glycemic control: A review of current evidence and possible mechanisms. *Phytotherapy Research*, 8p. doi:https://doi.org/10.1002/ptr.6473
- Amjad, M. S., Huma, Q., Muhammad, A., Sunbal, K. C., & Maria, M. (2015). The incredible queen of green: Nutritive value and therapeutic potential of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Coastal Life Medicine*, pp. 744-751.
- Chen, C., Zhang, B., Huang, Q., Fu, X., & Liu, R. H. (2017). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity. *Industrial Crops and Products*, 11p. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.042
- Coz-Bolaños, X., Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., G. Flavia, L.-P., & Guzmán-Maldonado, S. (2018). *Moringa* infusion (*Moringa oleifera*) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vivo. *Industrial Crops & Products*, pp. 95-101. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.028
- DE Moffarts, B., Kirschvink, N., Pincemail, J., & Lekeux, P. (2005, 4 26). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales de Médecine Vétérinaire*, pp. 1-9.

- Falowo, A. B., Felicitas, E. M., Emrobowansan, M. I., José, M. L., Anthony, J. A., & Voster, M. (2018). Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. *Food Research International*, 106, pp. 317-334. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.079>
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, pp. 390-396.
- Ferreira, P. M., Éverton, J. F., Jurandy, d. N., Rivelilson, M. d., Nagilla, D. d., Samara, F. d., & Janiella, B. A. (2014). Safety and Efficacy of *Moringa oleifera* Lamarck (1785)—Therapeutic and Toxicological Properties. Dans S. J. Gowder, *Pharmacology and Therapeutics* (pp. pp. 180-205). London: IntechOpen. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/58627>
- Gandji, K., Chadare, F., Idohou, R., Salako, V., Assogbadjo, A., & Kakai, R. G. (2018). STATUS AND UTILISATION OF *Moringa oleifera* Lam: A REVIEW. *African Crop Science Journal*, 26, pp. 137-156. doi:<http://dx.doi.org/10.4314/acsj.v26i1.10>
- Goldenberg, R., & Punthakee, Z. (2013). Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes*, pp. 369-372. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.07.031>
- Gopalakrishnan, L., Kruthi, D., & Devarai, S. K. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5, pp. 49-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>
- Gupta, R., Manas, M., bajaj, V. K., Pawan, K., Sunita, Y., Raka, K., & Radhey, S. G. (2012). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. *Journal of Diabetes*, pp. 164-171. doi:10.1111/j.1753-0407.2011.00173.x
- Gupta, S., Rohit, J., Sumita, K., & Kothari, S. (2017). Nutritional and medicinal applications of *Moringa* Nutritional and medicinal applications of *Moringa* possibilities. *Journal of Herbal Medicine*. doi:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.hermed.2017.07.003>
- Hafiz, I. M., Mohd, Z. A., & Nurzalina, A. K. (2016). A review on promising phytochemical, nutritional and glycemic control studies on *Moringa oleifera* Lam. in tropical and sub-tropical regions. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp.896-902. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.006>
- Hamed, Y. S., Mohamed, A., Guijie, C., Hafiz, M. S., & Xiaoxiong, Z. (2020). Effects of impregnate temperature on extraction of caffeoylquinic acid derivatives from *Moringa oleifera* leaves and evaluation of inhibitory activity on digestive enzyme, antioxidant, antiproliferative and antibacterial activities of the extract. *International Journal of Food Science and Technology*, 9p. doi:10.1111/ijfs.14572

- I. Omodanisi, E., G. Aboua, Y., & O. Oguntibeju, O. (2017). Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of *Moringa Oleifera* in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats. *Molecules*, 16p.
- Iqbal, S., & Bhangar, M. (2006). Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *Journal of Food Composition and Analysis*, pp.544-551. doi:10.1016/j.jfca.2005.05.001
- Ivana, M., Arianna, G., Maurice, K., Maurizio, M., & Andrea, G. (2018). Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: A review on *Moringa oleifera*. *Journal of Public Health in Africa*, 9, pp. 191-199. doi:10.4081/jphia.2018.841
- Jideani, V. A., & Diedericks, C. F. (2014). Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties of *Vigna subterranea* and *Moringa oleifera*. Dans O. Oguntibeju, *Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health* (pp. pp. 187- 207). London: IntechOpen. doi:http://dx.doi.org/10.5772/57338
- Kleniewska, P., & Pawliczak, R. (2017). The participation of oxidative stress in the pathogenesis of bronchial asthma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, pp. 100-108. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.066
- Lecleire, S. (2008). Digestion et absorption des nutriments. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, pp. 45-50. doi:https://doi.org/10.1016/S0007-9960(08)70279-7
- Leone, A., Alberto, S., Alberto, B., Alberto, S., Junior, A., & Simona, B. (2016). *Moringa oleifera* Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 14 p. doi: doi:10.3390/ijms17122141
- Manikandan, P., Gnanasekaran, A., Julikarthika, P., & D. Arvind, P. (2016). Antibacterial Efficacy of *Moringa oleifera* Leaf against Medically Important Clinical Pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5, pp. 109-116. doi:http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.015
- Manohar, V. S., Jayasree, T., K. Kiran, K., L. Mohana, R., Rohit, D., & Chandrasekhar, N. (2012). Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effect of freshly prepared aqueous extract of *Moringa oleifera* leaves in normal and diabetic rabbits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, pp.249-253.
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P., & 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*, pp. 441-447. doi:10.1016/j.meatsci.2012.02.029

- O. Ademiluyi, A., Olubukola, H. A., Ganiyu, O., & Aline, A. B. (2018). Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of Moringa (*Moringa oleifera*) leaf. *Food Science & Nutrition*, pp. 2123-2133. doi:10.1002/fsn3.770
- Oldoni, T. L., Nathalie, M., Mariéli, K., Solange, T. C., Severino, M. d., Rafael, G. F., . . . Eduardo, J. P. (2019). Bioguided extraction of phenolic compounds and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS characterization of extracts of Moringa oleifera leaves collected in Brazil. *Food Research International*, 9p.
- Oluwadara, O. A. (2018). How Functional Is Moringa oleifera? A Review of Its Nutritive, Medicinal, and Socioeconomic Potential. *Food and Nutrition Bulletin*, 39, pp. 149-170. doi:10.1177/0379572117749814
- Onu, A., Saidu, Y., Ladan, M. J., Bilbis, S. L., & Aliero, A. A. (2013). α -Glucosidase inhibitory potential of selected antidiabetic plants used in North-Western Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, pp.2010-2018. doi:10.5897/JMPR12.1005
- Pakade, V., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2013). Comparison of antioxidant activity of Moringa oleifera and selected vegetables in South Africa. *SOUTH AFRICAN JOURNAL OF SCIENCE*, 5p. doi:http://dx.doi.org/10.1590/
- Parwani, L., Bohra, Y., Gupta, S., & Kumar, R. (2016). Effect of temperature on α -glucosidase, lipase inhibition activity and other nutritional properties of Moringa oleifera leaves: Intended to be used as daily antidiabetic therapeutic food. *Journal of Food and Nutrition Research*, pp. 69-77.
- Poprac, P., Klaudia, J., Miriama, S., Vojtech, K., Christopher, J. R., & Marian, V. (2017). Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, pp. 592-607. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2017.04.005
- Prabu, S. L., Appavoo, U., & Ayarivan, P. (2019). Phytopharmacological potential of the natural gift Moringa oleifera Lam and its therapeutic application: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 12, pp. 485-498. doi:10.4103/1995-7645.271288
- Ramesh, K. S., Iyyakkannu, S., & keum, Y. S. (2016). Phytochemicals of Moringa oleifera: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6, 14p. doi:https://doi.org/10.1007/s13205-016-0526-3
- Ratnam, D. V., Ankola, D., Bhardwaj, V., Sahana, D., & M.N.V. Ravi, K. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, pp. 189-207. doi:10.1016/j.jconrel.2006.04.015

- Sharique, A., & Maqbool, A. (2017). FREE REDICAL INJURY AND OXIDATIVE STRESS: A REVIEW. *GLOBAL JOURNAL FOR RESEARCH ANALYSIS*, pp. 50-51.
- Shih, M.-C., Chang, C.-M., Sue-Ming, K., & Min-Lang, T. (2011). Effect of Different Parts (Leaf, Stem and Stalk) and Seasons (Summer and Winter) on the Chemical Compositions and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, pp.6077-6088. doi:10.3390/ijms12096077
- 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*, pp.2144-2155. doi:10.1021/jf020444
- 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*, pp. 303-311. doi: 10.1007/s11130-009-0141-0
- Szablewski, L. (2011). Glucose Homeostasis – Mechanism and Defects. Dans E. Rigobelo, *Diabetes - Damages and Treatments* (pp. pp. 227-256). London: IntechOpen. doi: 10.5772/22905
- T. Kharroubi, A., & M. Darwish, H. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, pp. 850-867. doi:10.4239/wjd.v6.i6.850
- Tiwari, S., Srivastava, R., Singh, C., Shukla, K., Singh, R., Singh, P., . . . Singh, N. (2015). AMYLASES: AN OVERVIEW WITH SPECIAL REFERENCE TO ALPHA AMYLASE. *Journal of Global Biosciences*, pp.1886-1901.
- Tomasik, P., & Horton, D. (2012). Enzymatic conversions of starch. Dans D. Horton, *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (pp. pp.61-268). Amsterdam: Elsevier.
- Tshabalala, T., Ndhala, A., Ncube, B., Abdelgadir, H., & Staden, J. V. (2020). Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. *South African Journal of Botany*, pp. 106-112. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.029
- Valdivié-Navarro, M., Yordan, M.-A., Odrey, M.-F., Aroldo, B.-L., & Cesar, B. H.-M. (2019). Review of *Moringa oleifera* as forage meal (leaves plus stems) intended for the feeding of non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, 9 p. doi:https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114338
- Valko, M., Dieter, L., Jan, M., Mark, T. C., Milan, M., & Joshua, T. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, pp. 44-84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, pp. 1-40. doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009

Vongsak, B., Pongtip, S., Supachoke, M., Suchitra, T., Yuvadee, W., & Wandee, G. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, pp. 566-571. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021

Annexes

Annexe 1 : liste des publications analysées pour cette étude sur *Moringa oleifera*

N°	Références
1	A. Bamagous, G., S. Al Ghamdi, S., Ibrahim, A. A., M. Mahfoz, A., A. Afify, M., HM. Alsugoor, M., . . . Thamaraiselvan, R. (2018). Antidiabetic and antioxidant activity of ethyl acetate extract fraction of <i>Moringa oleifera</i> leaves in streptozotocin-induced diabetes rats via inhibition of inflammatory mediators. <i>Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine</i> , pp.320-327. doi: http://10.4103/2221-1691.235327
2	Abd El Latif, A., El Bialy, B. E., Hamada, D. M., & Abd Eldaim, M. A. (2014). <i>Moringa oleifera</i> leaf extract ameliorates alloxan-induced diabetes in rats by regeneration of β cells and reduction of pyruvate carboxylase expression. <i>Biochemistry and Cell Biology</i> , 7p. doi: http://dx.doi.org/10.1139/bcb-2014-0081
3	Abd Eldaim, M. A., Abd Elrasoul, A. S., & Abd Elaziz, S. A. (2017). An aqueous extract from <i>Moringa oleifera</i> leaves ameliorates hepatotoxicity in alloxan-induced diabetic rats. <i>Biochimie et biologie cellulaire</i> , 32p. doi: https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0256
4	Ahmad, J., Imran, K., & Renald, B. (2019). <i>Moringa oleifera</i> and glycemic control: A review of current evidence and possible mechanisms. <i>Phytotherapy Research</i> , 8p. doi: https://doi.org/10.1002/ptr.6473
5	Chen, C., Zhang, B., Huang, Q., Fu, X., & Liu, R. H. (2017). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from <i>Moringa oleifera</i> Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity. <i>Industrial Crops and Products</i> , 11p. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.042
6	Coz-Bolaños, X., Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., G. Flavia, L.-P., & Guzmán-Maldonado, S. (2018). <i>Moringa</i> infusion (<i>Moringa oleifera</i>) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vivo. <i>Industrial Crops & Products</i> , pp. 95-101. doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.028
7	Gupta, R., Manas, M., bajaj, V. K., Pawan, K., Sunita, Y., Raka, K., & Radhey, S. G. (2012). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of <i>Moringa oleifera</i> in experimental diabetes. <i>Journal of Diabetes</i> , pp. 164-171. doi: http://10.1111/j.1753-0407.2011.00173.x
8	Hafiz, I. M., Mohd, Z. A., & Nurzalina, A. K. (2016). A review on promising phytochemical, nutritional and glycemic control studies on <i>Moringa oleifera</i> Lam. in tropical and sub-tropical regions. <i>Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine</i> , pp.896-902. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.006
9	Hamed, Y. S., Mohamed, A., Guijie, C., Hafiz, M. S., & Xiaoxiong, Z. (2020). Effects of impregnate temperature on extraction of caffeoylquinic acid derivatives from

	Moringa oleifera leaves and evaluation of inhibitory activity on digestive enzyme, antioxidant, antiproliferative and antibacterial activities of the extract. <i>International Journal of Food Science and Technology</i> , 9p. doi: http://10.1111/ijfs.14572
10	I. Omodanisi, E., G. Aboua, Y., & O. Oguntibeju, O. (2017). Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of Moringa Oleifera in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats. <i>Molecules</i> , 16p.
11	Iqbal, S., & Bhangar, M. (2006). Effect of season and production location on antioxidant activity of Moringa oleifera leaves grown in Pakistan. <i>Journal of Food Composition and Analysis</i> , pp.544-551. doi: http://10.1016/j.jfca.2005.05.001
12	Manohar, V. S., Jayasree, T., K. Kiran, K., L. Mohana, R., Rohit, D., & Chandrasekhar, N. (2012). Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effect of freshly prepared aqueous extract of Moringa oleifera leaves in normal and diabetic rabbits. <i>Journal of Chemical and Pharmaceutical Research</i> , pp.249-253.
13	Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P., & 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. <i>Meat Science</i> , pp. 441-447. doi: http://10.1016/j.meatsci.2012.02.029
14	O. Ademiluyi, A., Olubukola, H. A., Ganiyu, O., & Aline, A. B. (2018). Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of Moringa (Moringa oleifera) leaf. <i>Food Science & Nutrition</i> , pp. 2123-2133. doi: http://10.1002/fsn3.770
15	Oldoni, T. L., Nathalie, M., Mariéli, K., Solange, T. C., Severino, M. d., Rafael, G. F., . . . Eduardo, J. P. (2019). Bioguided extraction of phenolic compounds and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS characterization of extracts of Moringa oleifera leaves collected in Brazil. <i>Food Research International</i> , 9p.
16	Onu, A., Saidu, Y., Ladan, M. J., Bilbis, S. L., & Aliero, A. A. (2013). α -Glucosidase inhibitory potential of selected antidiabetic plants used in North-Western Nigeria. <i>Journal of Medicinal Plants Research</i> , pp.2010-2018. doi: http://10.5897/JMPR12.1005
17	Pakade, V., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2013). Comparison of antioxidant activity of Moringa oleifera and selected vegetables in South Africa. <i>SOUTH AFRICAN JOURNAL OF SCIENCE</i> , 5p. doi: http://dx.doi.org/10.1590
18	Parwani, L., Bohra, Y., Gupta, S., & Kumar, R. (2016). Effect of temperature on α -glucosidase, lipase inhibition activity and other nutritional properties of Moringa oleifera leaves: Intended to be used as daily antidiabetic therapeutic

	food. <i>Journal of Food and Nutrition Research</i> , pp. 69-77.
19	Shih, M.-C., Chang, C.-M., Sue-Ming, K., & Min-Lang, T. (2011). Effect of Different Parts (Leaf, Stem and Stalk) and Seasons (Summer and Winter) on the Chemical Compositions and Antioxidant Activity of <i>Moringa oleifera</i> . <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , pp.6077-6088. doi: http://10.3390/ijms12096077
20	Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (<i>Moringa oleifera</i> Lam.) Leaves. <i>Journal of Agricultural And Food Chemistry</i> , pp.2144-2155. doi: http://10.1021/jf020444
21	Sreelatha, S., & Padma, P. R. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of <i>Moringa oleifera</i> Leaves in Two Stages of Maturity. <i>Plant Foods for Human Nutrition</i> , pp. 303-311. doi: http://10.1007/s11130-009-0141-0
22	Tshabalala, T., Ndhala, A., Ncube, B., Abdelgadir, H., & Staden, J. V. (2020). Potential substitution of the root with the leaf in the use of <i>Moringa oleifera</i> for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. <i>South African Journal of Botany</i> , pp. 106-112. doi: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.029
23	Vongsak, B., Pongtip, S., Supachoke, M., Suchitra, T., Yuvadee, W., & Wandee, G. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of <i>Moringa oleifera</i> leaf extract by the appropriate extraction method. <i>Industrial Crops and Products</i> , pp. 566-571. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021

Annexe 2 : Espèces du genre *Moringa* et leurs pays/régions d'origine (Gandji et al., 2018)

Espèce	Pays/régions d'origine
<i>Moringa arborea</i>	Kenya
<i>Moringa rivae</i>	Kenya et Éthiopie
<i>Moringa stenopetala</i>	Kenya et Éthiopie
<i>Moringa borziana</i>	Kenya et Somalie
<i>Moringa longituba</i>	Kenya et Somalie
<i>Moringa pygmaea</i>	Somalie
<i>Moringa ruspoliana</i>	Éthiopie et Somalie
<i>Moringa ovalifolia</i>	Namibie et Angola
<i>Moringa drouhardii</i>	Madagascar
<i>Moringa hildebrandtii</i>	Madagascar
<i>Moringa peregrina</i>	Mer Rouge et Mer Morte
<i>Moringa concanensis</i>	Régions subhimalayennes du sous-continent indien
<i>Moringa oleifera</i>	Régions subhimalayennes du sous-continent indien

Annexe 3: Noms communs du *Moringa* (Jideani and Diedericks, 2014)

Langue	Nom commun
Anglais	Moringa, horseradish tree, drumstick tree, sujuna, ben tree, ben oil tree
Français	Ben ailé, ben oléifère, benzolive, arbre radis du cheval
Espanol	Ben, árbol del ben, paraiso, morango, Moringa
Portugais	acácia branca, marungo, muringa, moringuiero; cedro (Brazil)
Arabe	ruwag, alim, halim, shagara al ruwag (Sudan)
Swahili	mzunze, mlonge, mjungu moto, mboga chungu, shingo

Allemand	Behenbaum, Behenusbaum, flügelsaniger Bensusbaum, Pferderettichbaum
Italien	Sândalo ceruleo Fon: kpatima, yovokpatin, kpano, yovotin
Gun (Bénin)	èkwè kpatin, kpajima
Yoruba & Nago	èwè igbale, èwè ile, èwè oyibo, agun oyibo, ayun manyieninu, ayèrè oyibo
Peul	gawara, konamarade, rini maka, habiwal hausa
Haoussa	zogall, zogalla-gandi, bagaruwar maka, bagaruwar masar, shipka hali, shuka halinka, barambo, koraukin zaila, rimin turawa
Ibo	kwe oyibo
Sénégal	nebeday
Philippines	malunggay or malungai (Tagalog)
Inde	sujuna, sajina, lopa, horseradish or drumstick tree
Haïti	benzolive (Haitian Creole)

الملخص

Moringa oleifera "الشجرة المعجزة"، معروفة منذ زمن بعيد على أنها نبتة طبية تنمو في الاصل في الهند. بعدما اصبحت ذات اهتمام شاسع نظرا لخصائصها الكثيرة واستعمالاتها المتعددة تمت زراعتها في كل بلدان العالم تقريبا. في هذا العمل قمنا بتحليل مجموعة من الابحاث التي تم فيها تقدير محتوى البوليفينول والفلافونويدات الكلية بالطرق اللونية. أظهرت هذه التحليلات أن جميع أنواع المستخلصات كانت غنية بهذه المركبات. كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة (DPPH، ABTS و FRAP) والنشاط المضاد لمرض السكر، وأظهرت نتائج مثيرة للاهتمام والتي أكدت فعالية هذا النبات في المجالات الطبية. **الكلمات المفتاحية:** *Moringa oleifera*، نبتة طبية، DPPH، ABTS، FRAP، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد لمرض السكري.

Résumé

Le *Moringa oleifera* " l'arbre miracle " est connu depuis longtemps comme une plante médicinale qui pousse à l'origine en Inde. Après avoir suscité un grand intérêt en raison de ses caractéristiques variées et de ses nombreuses utilisations, il a été planté presque partout dans le monde.

Dans ce travail, nous avons analysé un groupe d'études dans lesquelles le contenu total en polyphénols et en flavonoïdes a été estimé par des méthodes colorimétriques. Ces analyses ont montré que tous les types d'extraits étaient riches en ces composés. L'activité antioxydant (DPPH, ABTS et FRAP) et l'activité antidiabétique ont également été évaluées et les résultats intéressants obtenus confirment l'efficacité de cette plante dans le domaine médical.

Mots clés : *Moringa oleifera*, plante médicinale, DPPH, ABTS, FRAP, activité antioxydants, activité antidiabétique.

Abstract

Moringa oleifera « the miracle tree » known from a long time as a medicinal plant that grows originally in India and after it became of wide interest because of its varied characteristics and numbered uses it was planted almost all over the world.

In this work, we analyzed a group of studies in which the total polyphenol and flavonoid content were estimated by colorimetric methods. These analyzes showed that all types of extracts were rich in these compounds. The antioxidant activity (DPPH, ABTS and FRAP) and anti-diabetic activity were also evaluated, and interesting results were shown which confirmed the effectiveness of this plant in medical fields.

Key words: *Moringa oleifera*, medicinal plant, DPPH, ABTS, FRAP, antioxidant activity, anti-diabetic activity.