

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département sciences alimentaires



THESE DE DOCTORAT

En Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Pathologies

**EFFET HYPOCHOLESTEROLEMIANT *IN VITRO* ET *IN VIVO* DE LA
POUDRE DE FEUILLES DE *Moringa oleifera* Lam. CHEZ DES
SOURIS AVEC UNE HYPERCHOLESTEROLEMIE AIGUE INDUITE
PAR LE TRITON X-100**

Par : **Yassamine Radhia SAIDI épouse KAOUS**

Devant le jury composé de :

Sidali RAMDANE	MCA	U. BLIDA1	Président
Amel DOUMANDJI	Pr	U. BLIDA 1	Directrice de thèse
Arezki BITAM	Pr	ENSA	Examineur
Smain MEGATLI	Pr	U. BLIDA 1	Examineur
Amel KOUIDRI	MCA	U. BLIDA 1	Examinatrice

Blida, Juin 2024

RESUME

Ce présent travail s'intéresse à l'étude phytochimique d'une plante médicinale nommée : *Moringa oleifera* Lam. Le screening phytochimique de l'extrait de poudre de feuilles du Moringa a révélé la présence de métabolites secondaires tels que les stéroïdes, les saponines, les tanins, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les polyphénols. Ces composés bioactifs confèrent à la plante ses propriétés thérapeutiques et ses pouvoirs protecteurs envers plusieurs pathologies. Le but de ce travail est d'étudier l'effet de cette plante sur une hypercholestérolémie induite chez des souris à une dose de 800 mg/kg d'extrait de poudre de feuilles de *M. oleifera*. Pour ce faire, trente souris mâles ont été utilisées et réparties au hasard en cinq groupes égaux (n = 5). Le Triton X-100 (100 mg/kg, intrapéritonéale) a été administré pour induire une hypercholestérolémie. Par la suite, un traitement oral d'Atorvastatine ou d'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* (*Methanolic Extract of Moringa oleifera Leaves MEMOL*) a été administré quotidiennement aux groupes traités pendant 7 jours. Le profil lipidique a été déterminé à la fin du traitement. Les résultats ont montré que le groupe de souris traitées avec MEMOL présentait une réduction des taux de cholestérol total (CT) (136,5 mg/dL) et de Cholesterol –Low Density Lipoproteins C-LDL (60,65 mg/dL), comparé au groupe hypercholestérolémique (242,13 et 168,9 mg/dL pour TC et C-LDL, respectivement). La valeur des lipoprotéines C-HDL, chez les souris traitées soit avec le MEMOL, soit avec l'atorvastatine, était comparable et supérieure à celle des souris des autres groupes. Une augmentation significative du taux de C-HDL est observée chez les souris traitées avec MEMOL. L'indice athérogénicité (IA) s'est avéré significativement plus faible ($P < 0,05$), chez les souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL, par rapport aux souris hypercholestérolémiques. La réalisation d'une étude histologique a montré une nécrose hépatocellulaire légère et une accentuation des sinusoides avec des cordons fins après l'induction de l'hyperlipidémie par rapport au contrôle normal. Les résultats indiquent que *M. oleifera* a un effet anti-hypercholestérolémiant, justifiant son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Mots clés: Souris, *Moringa oleifera* L., Cholestérol, Hypercholestérolémie.

ABSTRACT

This study focuses on the phytochemical analysis of a medicinal plant, *Moringa Oleifera* Lam. Phytochemical screening of *Moringa* leaf powder extract revealed the presence of secondary metabolites such as steroids, saponins, tannins, flavonoids, terpenoids, and polyphenols. These bioactive compounds confer the plant with its healing properties and protective abilities against several diseases. The objective of this research is to study the effects of *M. oleifera* leaf powder extract on induced hypercholesterolemia in mice at a dose of 800 mg/kg. For this purpose, thirty male mice were randomly divided into five equal groups (n = 5). Hypercholesterolemia was induced using Triton X-100 (100 mg/kg, intraperitoneal). Subsequently, the treated groups received daily oral doses of either Atorvastatin or Methanolic Extract of *Moringa Oleifera* Leaves (MEMOL) for 7 days, after which their lipid profiles were assessed. The results indicated that the group treated with MEMOL exhibited significantly reduced levels of total cholesterol (TC) (136.5 mg/dL) and Cholesterol –Low Density Lipoproteins C-LDL (60.65 mg/dL) compared to the hypercholesterolemic group (242.13 mg/dL for TC and 168.9 mg/dL for C-LDL). The levels of Cholesterol-High Density Lipoproteins (C- HDL) in mice treated with MEMOL or atorvastatin were comparable and higher than those in other groups. A significant increase in C- HDL levels was observed in mice treated with MEMOL. The atherogenicity index (AI) was significantly lower ($P \leq 0.05$) in hypercholesterolemic mice treated with MEMOL compared to untreated hypercholesterolemic mice. Histological studies showed mild hepatocellular necrosis and increased sinusoids with thin cords following induction of hyperlipidaemia compared to the normal control. These results demonstrate that *M. oleifera* has an anti- hypercholesterolemic effect, justifying its use in traditional medicine.

Keywords: Mice, *Moringa oleifera* L., Cholesterol, Hypercholesterolemia.

الملخص

يسعى هذا العمل لدراسة هذا النبات دراسة كيميائية نباتية. وقد كشف الفحص الكيميائي النباتي للأوراق عن وجود مستقبلات ثانوية مثل الستيرويد والصابونين والعفص (أو التانين) والفلافونويد و التربينويد والبوليفينول، بحيث أن هذه المركبات النشطة بيولوجيًا تمنح للنبات خصائصه العلاجية وقوته الوقائية ضد العديد من الأمراض. بالإضافة إلى ذلك، فإن الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير هذا النبات على ارتفاع كوليسترول الدم المستحث لدى الفئران بجرعة تقدر بـ 800 ملغ/كغ من مستخلص مسحوق أوراق المورينجا. ولهذا الغرض، تم استخدام ثلاثين ذكرًا من الفئران وتم تقسيمها عشوائيًا إلى خمس مجموعات متساوية ($n = 5$). تم استعمال تريتون X-100 (100 ملغ/كغ، i.p.) للحث على ارتفاع كوليسترول الدم. وتم بعد ذلك تقديم علاج أتورفاستاتين أو مستخلص الميثانولان من أوراق المورينجا (مستخلص الميثانوليك من أوراق المورينجا "MEMOL") عن طريق الفم يوميًا للمجموعات التي تتم معالجتها، لمدة 7 أيام، وفي نهاية هذا العلاج تم تحديد ملف الدهون.

أظهرت النتائج أن مجموعة الفئران التي تمت معالجتها بـ MEMOL قد سجلت انخفاضًا في مستويات الكوليسترول الكلي (CT) (136,5 مغ/ديسيلتر) وكوليسترول البروتين الدهني منخفض الكثافة "C-LDL" (60,65 مغ/ديسيلتر)، مقارنة بالمجموعة التي تعاني من ارتفاع كوليسترول الدم (242,13 و 168,9 مغ/ديسيلتر، على التوالي). إن قيمة كوليسترول البروتين الدهني مرتفع الكثافة C-HDL سواء لدى الفئران المعالجة بـ MEMOL أو بأتورفاستاتين قابلة للمقارنة وتُعتبر أعلى من قيمة الفئران في المجموعات الأخرى، كما تم ملاحظة زيادة كبيرة في مستوى C-HDL لدى الفئران المعالجة بـ MEMOL. كان مؤشر تصلب الشرايين (IA) أقل بكثير ($P < 0.05$) لدى الفئران التي تعاني من ارتفاع كوليسترول الدم المعالجة بـ MEMOL، مقارنة بالفئران التي تعاني من ارتفاع كوليسترول الدم. وتشير النتائج أن للمورينجا تأثير مضاد لارتفاع كوليسترول الدم، مما يبرر استخدامها في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: فأر (فئران)، البان الزيتوني (المورينجا)، الكوليسترول، ارتفاع كوليسترول الدم،

REMERCIEMENTS

Une thèse est le fruit de longues années de travail, de sacrifices, un défi que l'on se donne à soi-même. Mais surtout une formidable histoire de relations, de rencontres et le résultat de combinaisons d'efforts de plusieurs personnes.

En premier lieu, je tiens à remercier ma Directrice de thèse, **Pr Amel DOUMANDJI** pour la confiance qu'elle m'a témoigné en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'elle a consacré à diriger cette recherche. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et son respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je lui ai adressé. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral.

Je voudrais remercier tout particulièrement le Pr **MEGATLI S.** Doyen de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Blida 1 qui m'a orienté tout au long de ces années de thèse. Il a toujours été disponible, à l'écoute de mes nombreuses questions, et s'est toujours intéressé à l'avancée de mes travaux en tant que responsable de la formation doctorale de notre département, pour ses efforts fournis pour faciliter les démarches administratives de cette thèse.

Je suis très honoré à remercier de la présence à mon jury de thèse :

Dr. RAMDANE. C'est avec amabilité et spontanéité que vous avez accepté de juger ce travail et d'en être le président de jury. Qu'il me soit permis à travers ce travail de vous témoigner mon estime et ma redevance. Ce travail est une occasion pour moi d'apprécier vos critiques constructives.

Professeur BITAM, je suis très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Veuillez accepter l'expression de mon profond respect et ma reconnaissance.

Dr. KOUIDRI, nous vous remercions d'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury comme examinateur. Veuillez trouver ici l'assurance de notre profond respect.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance au **Pr. MEGATLI.** Professeur et responsable de la formation doctorale à la faculté Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Blida 1, pour son aide précieuse dans les tâches

administratives de cette thèse, pour sa gentillesse et sa modestie, et qui a tout fait pour que cette soutenance ait lieu aujourd'hui.

Sans la profonde collaboration du **Dr CHABANE**. Enseignante à l'université des Sciences Technologiques Houari BOUMEDIENE (USTHB), de l'ensemble des ingénieures de laboratoire et des responsables de l'animalerie de l'USTHB, ce travail n'aurait pas abouti. Je tiens à leur témoigner ma profonde gratitude pour m'avoir ouvert grande la porte de leur laboratoire et donné la priorité aux analyses de mes prélèvements sanguins.

Mes vifs remerciements vont à tous le personnel des différents laboratoires privés consultés pour leur collaboration et la mise à ma disposition de tous les moyens nécessaires pour mener à bien ce travail.

DEDICACE

A la mémoire de mon cher Papa,

Il aurait été tellement fier de me voir accomplir son rêve le plus cher. Que Dieu le tout puissant lui accorde son infinie miséricorde et l'accueille dans son éternel paradis. Je t'aime Papa.

A ma chère Maman,

Celle qui m'a donné la vie, l'amour et la tendresse. Celle qui a tout sacrifié pour me voir réussir aujourd'hui. Merci pour tout Maman, Que Dieu te protège et te comble de bonheur. Je t'aime Maman.

A mon cher Epoux,

Celui qui m'a encouragé, aidé et poussé pour donner le meilleur de moi-même. Sans ton soutien, je n'aurai jamais pu finaliser ce travail. Que dieu te protège et te comble de bonheur, Merci pour tout Hachemi.

A mes chers enfants,

Adam et lyad, la prunelle de mes yeux !

A mon frère Yanis ainsi que sa femme et leur petite fille, ma nièce adorée Elyn

A mes grands-parents et à tous les membres de ma famille, sans exception et à ma belle-famille.

A tous ceux qui m'ont soutenu de bon cœur.

A mes meilleures amies Nacera et Soumia.

A mes collègues de la promotion 2018- 2019.

Yasmine

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
DEDICACE	6
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS	12
INTRODUCTION	14
I- PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	17
CHAPITRE 1 : CHOLESTEROL	19
1.1 Les fonctions biologiques du cholestérol	19
1.2 Le métabolisme du cholestérol	20
1.2.1 Les voies d'entrées du cholestérol dans l'organisme	20
1.2.2 L'absorption de cholestérol dans l'intestin	23
1.2.3 Transport du cholestérol	25
1.2.4 Dégradation du cholestérol	26
1.3 Les conséquences possibles d'une hypercholestérolémie	27
1.4 Traitement médicamenteux contre l'hypercholestérolémie	27
1.5 Apport possible des plantes dans cette problématique	28
CHAPITRE 2 : GENERALITES SUR LE MORINGA	30
2.1. Historique et distribution géographique du <i>Moringa</i>	30
2.2. Systématique et nomenclature	31
2.3. Description botanique	31
2.4. Domaines d'utilisation du <i>Moringa</i>	32
2.4.1. Le bois	32
2.4.2. Les gousses	33
2.4.3. Les racines	33
2.4.4. Les fleurs	33
2.4.5. Les graines	34
2.4.6. L'écorce	34
2.4.7. Les feuilles	34
2.5. Valeur nutritionnelle de <i>Moringa oleifera L.</i>	35
II - DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	39
CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES	40

3.1. Préparation du matériel végétal	40
1.6 Screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i>	40
1.6.1 Alcaloïdes	40
1.6.2 Flavonoïdes	40
1.6.3 Saponines	41
1.6.4 Tanins	41
1.6.5 Glycosides	41
1.6.6 Sucres réducteurs	41
1.6.7 Phénols	41
1.7 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de <i>Moringa</i>	41
1.7.1 Préparation des échantillons pour l'analyse HPLC - UV/VIS	42
1.7.2 Principe	42
1.8 Animaux et régimes	43
1.9 Analyse du profil lipidique	46
1.9.1 Dosage de Triglycérides	46
1.9.2 Dosage du Cholestérol total	47
1.9.3 Dosage du Cholestérol HDL	47
1.9.4 Calcul des Chol-LDL des Chol- VLDL et de l'indice d'athérogénéicité	48
1.10 Etude histopathologique	49
1.11 Analyse statistique	49
CHAPITRE 2 : RESULTATS	51
1.12 Screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i>	51
1.13 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de <i>Moringa</i>	51
1.14 Evaluation du bilan lipidique	59
1.14.1 Evaluation du taux de Cholestérol total sanguin	59
1.14.2 Evaluation du taux de Chol-HDL sanguin	59
1.14.3 Evaluation du taux de Chol-LDL sanguin	60
1.14.4 Evaluation du taux de Chol-VLDL sanguin	61
1.14.5 Evaluation de la Triglycéridémie	61
1.14.6 Evaluation de l'indice d'athérogénéicité	62
1.15 Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i> sur le profil lipidique	62
1.16 Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i> sur l'histologie du foie	63
CHAPITRE 3 : DISCUSSION	70
1.17 Screening phytochimique de l'extrait de poudre de feuilles de <i>Moringa</i>	70
1.18 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de <i>Moringa</i>	70
1.19 Evaluation de l'effet du MEMOL sur le profil lipidique	71
CONCLUSION	77
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Position systématique de <i>Moringa oleifera</i> L.....	31
Tableau 2 : Composition chimique de <i>Moringa oleifera</i> L.....	37
Tableau 3 : Temps de rétention de polyphénols standards.....	43
Tableau 4 : Screening phytochimique de l'extrait de feuilles de <i>M. oleifera</i>	51
Tableau 5 : Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i> sur le profil lipidique.....	63

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : La structure chimique du cholestérol.....	19
Figure 2 : Synthèse hépatique du cholestérol.....	22
Figure 3 : Absorption du cholestérol intestinal.....	24
Figure 4 : Distribution géographique de <i>Moringa oleifera</i>	30
Figure 6 : Préparation du matériel végétal au niveau d'une terre agricole dans la commune de CHEKFA à Jijel.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 7 : Préparation de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de <i>Moringa</i> . Erreur ! Signet non défini.	
Figure 8 : Screening phytochimique pour détecter la présence des alcaloïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 9 : Screening phytochimique pour détecter la présence de flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 10 : Screening phytochimique pour détecter la présence de Tanins.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 11 : Screening phytochimique pour détecter la présence de composés phénoliques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 12 : Chromatogramme de l'étalon Catéchine à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 13 : Chromatogramme de l'étalon « Acide salicylique » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 14 : Chromatogramme de l'étalon « Epicatéchine » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15 : Chromatogramme de l'étalon « Robinine » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16 : Chromatogramme de l'étalon « Myricétine » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17 : Chromatogramme de l'étalon « Acide ascorbique » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 18 : Chromatogramme de l'étalon « Myricétine » à une longueur d'ondes de 254 nm.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 19 : Aliment destiné aux cobayes (Standard Chow Diet). Erreur ! Signet non défini.	
Figure 20 : Répartition des souris dans les cages appropriées.....	45
Figure 21 : Gavage de souris par voie orale.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22 : Dissection des souris cobayes de la souche NMRI. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 23 : Recueil de sérums dans des tubes Eppendorfs.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 24 : Profil chromatographique HPLC/ UV aux longueurs d'ondes respectives : 230, 254, 280, 300 et 350 nm.....	53
Figure 25 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec les pics de l'acide tannique et celui de l'acide galique.....	54
Figure 26 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec le pic de l'étalon « Hydroxy-Quinone ».....	54
Figure 27 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Résorcinol ».....	55
Figure 28 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Rutine ».....	55
Figure 29 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de la Lutéoline-7-glycoside et celui de la Quercétine-3-B-D-Glycoside.....	56
Figure 30 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Apigénine-7-Glycoside ».....	57

Figure 31 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Spiracoside »	57
Figure 32 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Myricétine »	58
Figure 33 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui des étalons « Quercétine » et « Lutéoline »	58
Figure 34 : Boxplot de la distribution des valeurs de la cholestérolémie chez les différents lots de souris	59
Figure 35 : Boxplot de la distribution des taux de Chol-HDL sériques chez les différents lots de souris	60
Figure 36 : Boxplot de la distribution des taux sériques du Chol-LDL chez les différents lots de souris	60
Figure 37 : Boxplot de la distribution des taux de VLDL sérique chez les différents lots de souris	61
Figure 38 : Distribution de la Triglycéridémie chez les différents lots de souris.....	61
Figure 39 : Boxplots de la distribution de l'indice d'athérogénéicité chez les différents lots de souris. Figure 40 Figure 41 Figure 42 Figure 43 Figure 44 Figure 45	62
Figure 40 : Photomicrographie du tissu hépatique du 1er lot de souris témoins, grossissement x 400	64
Figure 41 : Photomicrographie du tissu hépatique du 2ème lot de souris, grossissement x 400	65
Figure 42 : Photomicrographie du tissu hépatique du 3ème lot de souris, grossissement x 400	66
Figure 43 : Photomicrographie du tissu hépatique du 4ème lot de souris, grossissement x 400	67
Figure 44 : Photomicrographie du tissu hépatique du 5ème lot de souris, grossissement x 400	68

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ABC : ATP-binding cassette

APO : Les apoprotéines

AVC : Accident cérébralvasculaire

CPK : Créatines Kinases

FDA : *Food and Drug Administration*

H&E : hématoxyline et éosine

HDL : High Density Lipoprotein

HDL-C : HDL cholestérol

HMGC : 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A

HMGCS : l'HMGC-synthase A

HPLC: *High pressure liquid chromatography* (chromatographie en phase liquide à haute performance).

IP: Intrapéritonéal.

LDL: Low Density Lipoprotein

LDL-C: LDL cholestérol

LDLR: LDL receptor

MCV: Maladies cardiovasculaires

MEMOL: *Methanolic extract of Moringa oleifera leaves*

NPC1L1 : Niemann-Pick C1 Like 1

OMS: Organisation mondiale de la santé.

PCSK9: Proprotéine convertase subtilisine kexine de type 9

SR-BI : scavenger receptor class B type I

TG: Triglycéride

UV: Ultra-violet.

VLDL: *Very low density lipoproteins* (lipoprotéines de très basse densité).

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cholestérol est une molécule qui inspire beaucoup de peur de nos jours ; du fait de sa présence dans la plaque d'athérome. Paradoxalement, il est présent dans toutes les cellules animales dans lesquels il joue un rôle irremplaçable dans les membranes. Il est absent du monde végétal qui contient d'autres stérols (phytostérols ou stérols végétaux : sitostérol, campestérol, stigmastérol...) que l'Homme ne peut synthétiser [1]. Le cholestérol remplit aussi d'autres rôles en tant que précurseur de la vitamine D (synthétisée dans la peau), des hormones stéroïdes surrénaliennes et gonadiques, et des acides biliaires. Cette molécule d'origine animale peut être synthétisée par l'Homme [2].

Puisqu'elle est synthétisée son apport n'est pas indispensable, mais sa régulation permet de maintenir le pool de cholestérol stable. Ainsi lorsque l'apport est très faible, chez les végétaliens par exemple, la synthèse et l'absorption augmentent. Le cholestérol ne peut être catabolisé par l'organisme : en cas d'excès d'apport son excrétion biliaire et intestinale sera donc accrue ce qui aboutira à une hypercholestérolémie [3].

En Algérie, une enquête menée en 2008 sur plus de 1000 personnes d'une moyenne d'âge de 43 ans a mis en évidence une prévalence de dyslipidémie égale à 15,9 % dont celle de l'hypercholestérolémie de 14,3 % et les décès par maladies cardiovasculaires MCV occupent le premier rang avec 26,1 % de décès annuels [4].

L'hypercholestérolémie est un facteur de risque de l'athérosclérose, composant majeur de la pathogenèse des MCV. L'athérosclérose quant à elle, est une maladie inflammatoire chronique qui touche le système cardiovasculaire, majoritairement les artères coronariennes et cérébrales et l'aorte. Elle se développe en une plaque fibreuse à la suite de l'exposition chronique des vaisseaux sanguins aux lipoprotéines athérogènes. Cette plaque peut causer un événement cardiovasculaire en se rompant ou en obstruant la circulation sanguine [5]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies

cardiovasculaires (MCV), principalement la maladie coronarienne et les accidents vasculaire-cérébraux, constituent la 1ère cause de décès et d'invalidité à travers le monde. En 2015, il est estimé que 17,7 millions de personnes sont décédées d'une MCV, soit 1 décès sur trois [6].

Mis à part les traitements médicamenteux, d'innombrables régimes ont été établis par des médecins et des nutritionnistes afin de rétablir certains paramètres biologiques au niveau de l'organisme. L'intérêt d'une multitude de composés végétaux dans la modification de certains métabolismes n'a été découvert que récemment, tel que, les fibres alimentaires et les composés stéroïdiques dont la réputation n'est plus à faire aujourd'hui. A partir de ces découvertes fondamentales, les études scientifiques se sont multipliées et confirmaient la réelle efficacité de certaines substances végétales dans l'organisme.

Aujourd'hui, certaines sont isolées, purifiées et on les trouve en comprimés pour mieux faire profiter leurs propriétés thérapeutiques. Les plantes ont été depuis des milliers d'années utilisées par l'homme pour se soigner. Un grand nombre d'espèces figurent dans la pharmacopée et constitue donc une source importante de médicaments. Un quart environ des préparations pharmaceutiques aux états unis sont constitués de composés d'origine végétale [7].

Dans ce contexte, on s'est inspiré de la médecine ayurvédique qui traite l'hypercholestérolémie avec la plante médicinale *Moringa oleifera*.

L'objectif de notre étude est d'étudier l'effet de l'extrait méthanolique de la poudre de feuilles de *M. oleifera* (*Methanolic Extract of Moringa oleifera leaves* MEMOL) sur l'hypercholestérolémie induite chez des rats de la souche NMRI. Cette étude est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique, dans laquelle une synthèse bibliographique de l'état actuel des connaissances sur l'hypercholestérolémie et sur la plante médicinale *M. oleifera* a été réalisée.
- Une partie expérimentale, où nous avons effectué : - Dans un premier temps un screening phytochimique de l'extrait méthanolique de *M. oleifera* et son analyse qualitative via la méthode chromatographique liquide à haute performance HPLC. De même, nous avons réalisé une expérimentation animale dans

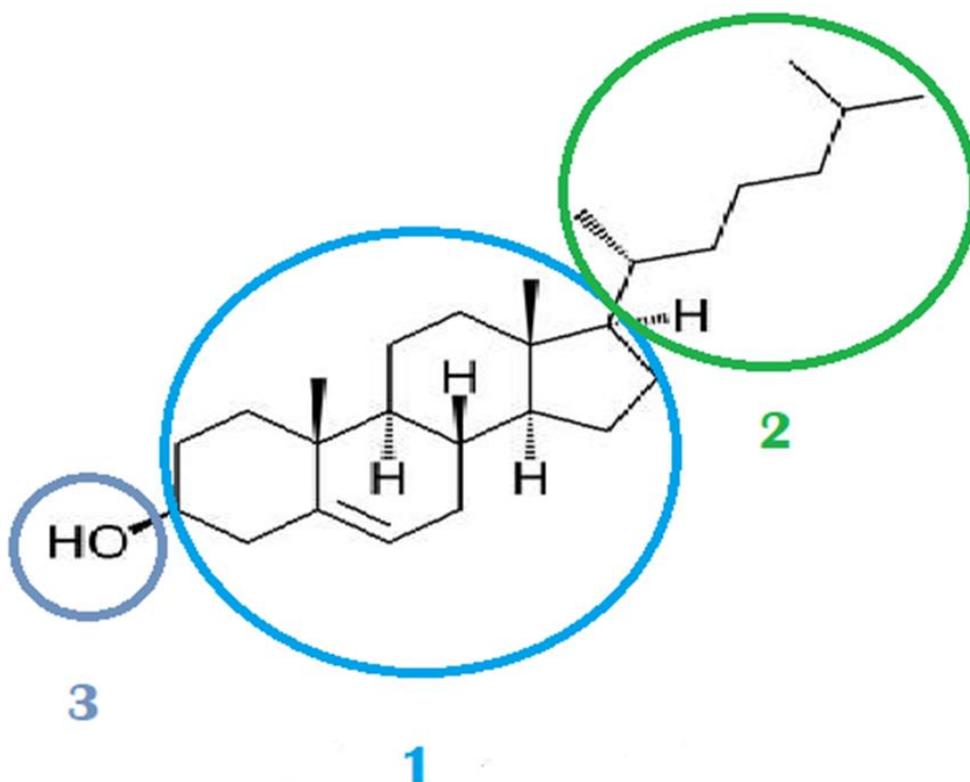
laquelle nous avons évalué l'effet de cet extrait sur une hypercholestérolémie aigue induite par injection du Triton X-100 sur des souris. De plus, nous avons étudié l'histologie du foie après avoir réalisé des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et éosine.

I- PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : CHOLESTEROL

CHAPITRE 1 : CHOLESTEROL

Chimiquement parlant, le cholestérol est un alcool polycyclique contenant 27 atomes de carbone (Figure 1), ayant les caractéristiques d'une substance grasse. Il a été isolé en 1769 à partir des calculs biliaires par Poulletier de la Salle [8]. C'est un composant essentiel des membranes cellulaires de la plupart des vertébrés, ce qui leur confèrent une propriété semi-perméable et génère une fluidité membranaire [9].



Le cholestérol est composé d'un noyau stéroïde (1) et d'une chaîne hydrocarbonée (2). Un groupement hydroxyle (-OH) (3), confère à la molécule une tête polaire et hydrophile et constitue le site d'estérification donnant la forme de stockage du cholestérol.

Figure 1: La structure chimique du cholestérol [10]

1.1 Les fonctions biologiques du cholestérol

Un nombre considérable d'évidences démontre que le cholestérol présente des fonctions essentielles, nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme humain. Le cholestérol est classifié parmi les lipides et est retrouvé essentiellement chez les animaux et l'homme. Son omniprésence à différents niveaux d'organisation structurale souligne le rôle primordial du cholestérol.

Sa structure chimique lui donne un caractère amphiphile, avec une partie polaire caractérisée par un noyau stéroïde et d'une chaîne aliphatique apolaire (Figure 1) ;[11].

L'estérification de la molécule est à l'origine de son insolubilité et constitue sa forme de stockage. A l'échelle des cellules, le cholestérol est un constituant architectural, et fait partie intégrante des constituants, participant à la fluidité et la perméabilité de la membrane biologique des eucaryotes [12].

Il participe à la dynamique et à la signalisation cellulaire via la formation de raft lipidique [9].

Au niveau de l'organisme, le cholestérol intervient étroitement dans le système digestif via son rôle précurseur dans la synthèse des acides biliaires, qui facilitent l'absorption de lipides alimentaires (cholestérol, graisses, vitamines). De façon spécifique, le cholestérol est retrouvé dans le système endocrinien via son rôle précurseur dans la synthèse d'hormones sexuelles stéroïdiennes et de vitamine D [13].

Dans le système immunitaire, le cholestérol est utilisé comme précurseur de molécules de communication, notamment le 25-hydroxy-cholestérol, un métabolite produit par les macrophages lors de l'activation de mécanismes de l'immunité innée [9].

Dans le système circulatoire, le cholestérol est transporté puis distribué vers les organes et les tissus de ces systèmes pour exercer ces fonctions.

1.2 Le métabolisme du cholestérol

Le niveau de cholestérol circulant est maintenu par un équilibre entre les apports endogènes et exogènes de cholestérol et les différents processus d'absorption et de dégradation du cholestérol de l'organisme.

1.2.1 Les voies d'entrées du cholestérol dans l'organisme

La biosynthèse de cholestérol est une des principales sources primaires de cholestérol pour l'organisme. Sa synthèse *de novo* est une voie biochimique, composée d'une succession de plusieurs étapes (Figure 2) avec l'intervention d'une trentaine d'enzymes. De façon succincte, une combinaison de deux molécules d'acétyl coenzyme A aboutit à la formation de 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMGC) puis à la formation de mévalonate. L'enzyme clef de cette étape est l'HMGC-synthase A (HMGCS). Son activité régulatrice a été grandement étudiée en tant que cible thérapeutique pour contrôler la synthèse du cholestérol circulant de l'organisme [14].

Le mévalonate subit une double phosphorylation, suivie d'une décarboxylation du mévalonate pyrophosphate pour aboutir à la formation de molécules d'isoprénoïdes (Isopentenyl pyrophosphate, Dimethylallyl pyrophosphate). Une succession de condensation des isoprénoïdes conduit à la production de squalène. A partir de ce précurseur biochimique, la synthèse des stérols s'achève par la synthèse de cholestérol [15].

On estime qu'entre 800 et 1000 mg de cholestérol sont synthétisés chaque jour par l'organisme [16].

Les sites de synthèse *de novo* sont principalement localisés dans le foie (40–50 %), l'intestin (10–20 %) et dans l'hypoderme incluant le tissu adipeux (20%) [17].

Cependant, l'extrapolation de ces résultats à l'homme reste à approfondir du fait que les auteurs de ces études ont sélectionnés plusieurs modèles expérimentaux (rat, lapin, souris, chimpanzé) et écarté l'apport de cholestérol contenu dans leur régime [18].

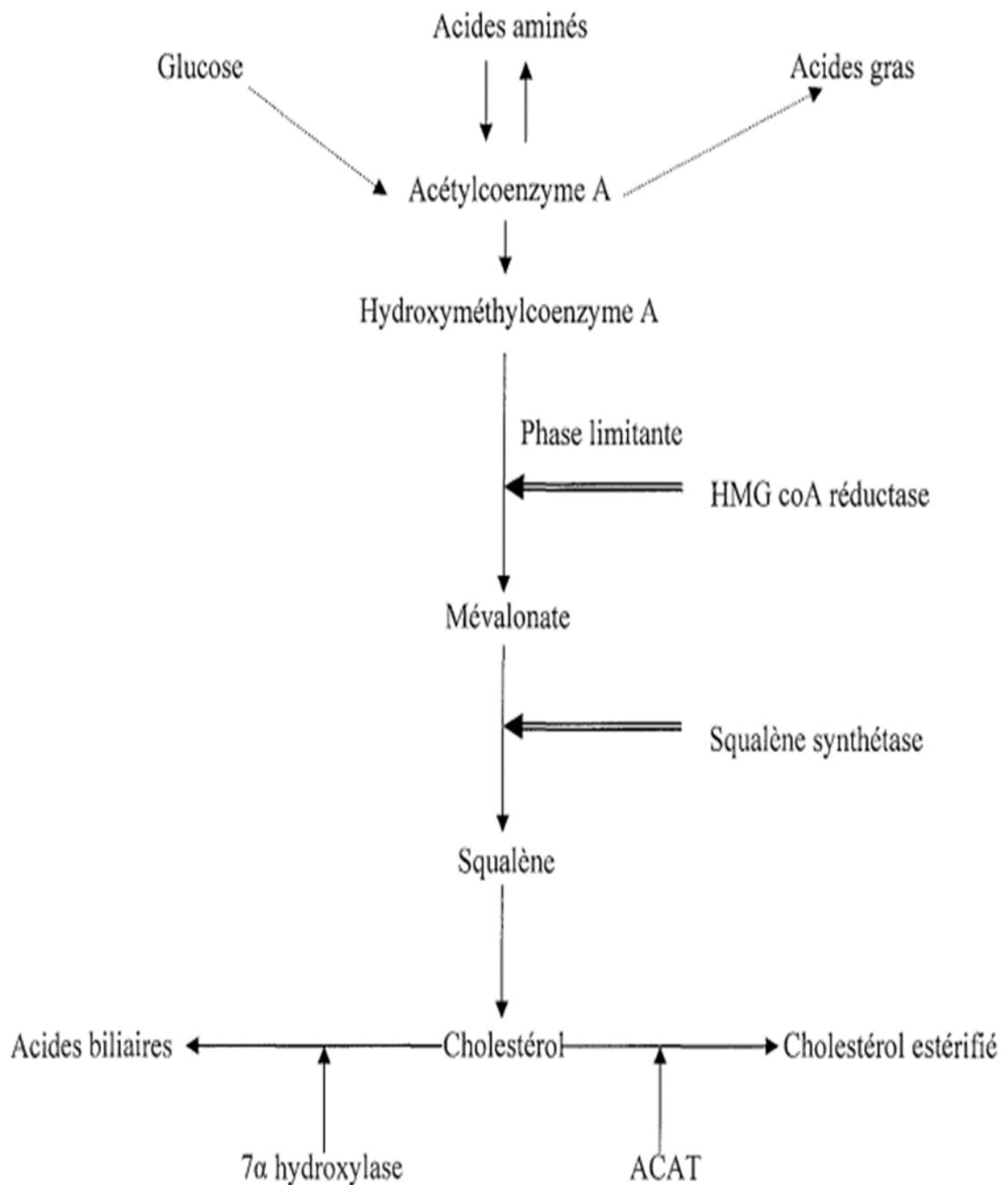


Figure 2 : Biosynthèse hépatique du cholestérol [19].

La seconde source de cholestérol est apportée par notre alimentation et se retrouve dans notre intestin. Une étude pionnière a démontré que l'apport de cholestérol alimentaire entraîne une augmentation de la cholestérolémie. Ainsi, le cholestérol alimentaire favorise l'augmentation de la cholestérolémie et est considéré comme un facteur de risques des maladies cardiovasculaires [20].

Enfin, la dernière source de cholestérol de l'organisme est la desquamation cellulaire, est définie par un renouvellement des entérocytes dans l'intestin. Ce

processus naturel correspond au décollement et la perte de la couche superficielle de l'épithélium lors de la mort cellulaire. *Croft, et al.*, (1937) soutiennent que ce phénomène contribue activement à un apport de lipides membranaires entre 12 à 30 grammes par jour au niveau de la lumière intestinale [21].

Cependant, l'absence de résultats récents semble négliger cet apport de cholestérol de l'organisme. Pour résumer, l'ensemble de ces voies d'entrées du cholestérol forme un pool de cholestérol et participe au maintien de l'homéostasie du cholestérol de notre organisme. Sur la totalité de cholestérol contenu dans notre organisme, 70 % est issu de la synthèse *de novo* de cholestérol dans le foie et les autres tissus comme l'intestin, contre 30 % en provenance du cholestérol alimentaire [22].

1.2.2 L'absorption de cholestérol dans l'intestin

Dérivé de ces sources endogènes et exogènes, le cholestérol contribue à l'établissement d'un pool de cholestérol présent au niveau de la lumière de l'intestin. Cette quantité de cholestérol est estimée entre 1 400 à 1 700 mg par jour [23].

Une partie de ce pool est absorbée dans l'intestin (Figure 3). Altmann et ses collègues de l'institut de recherche de Schering-Plough (New Jersey, USA) ont clairement établi le rôle de la protéine Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) dans l'absorption du cholestérol [24].

Chez l'homme, l'inhibition de NPC1L1 révèle que sa contribution majoritaire est d'environ 54 % dans ce processus [25].

D'autres transporteurs, *scavenger receptor class B type I* (SR-BI) a également un rôle essentiel dans l'absorption du cholestérol. Cependant, sa fonction dans cet organe n'est pas établie et les avis restent divergents sur sa régulation: sa sur-expression provoquerait une augmentation de l'absorption de cholestérol, à l'inverse, son absence n'induirait pas de modification de l'absorption [26].

D'autres évidences scientifiques sur SR-BI, évoque le rôle non spécifique et accessoire. En effet, il est établi que SR-BI dans l'intestin présente de nombreux ligands: les triglycérides, les lipoprotéines dans le transport de cholestérol inverse [27].

D'autres acteurs de l'efflux de cholestérol intestinal ont été identifiés, les transporteurs *ATP-binding cassette* (ABC) de type G5 et G8 ([28]; Figure 3).

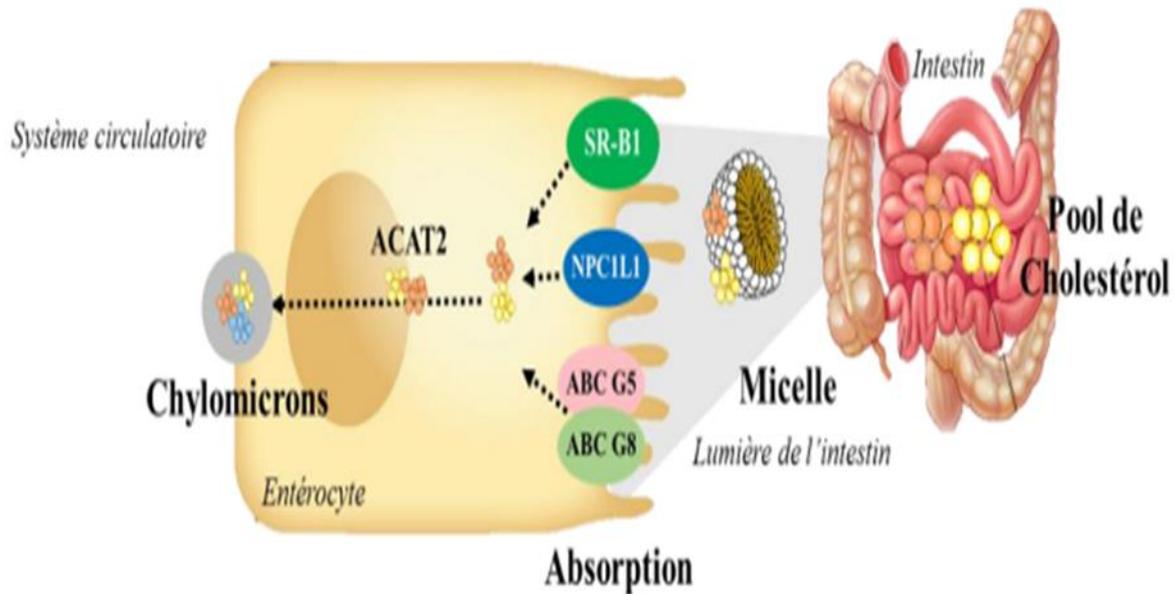


Figure 3 : Absorption du cholestérol intestinal [28]

En plus de ces transporteurs, la solubilisation du cholestérol est un facteur indispensable à son absorption. Pour cela, les sels biliaires sécrétés dans l'intestin jouent un rôle central pour agir en tant que détergent biologique. En leur absence, l'absorption de cholestérol est seulement de 20 % [29].

L'ensemble de ces facteurs participent à l'absorption de cholestérol dans l'intestin (Figure 3). En général, cette fraction de cholestérol absorbée est estimée entre 28 % à 80 % du pool de cholestérol initial pour un individu sain [25].

Cette variabilité interindividuelle s'explique par des facteurs liés à la physiologie de l'individu comme l'âge ou le polymorphisme génétique [30-31].

La composition du régime alimentaire et sa teneur en cholestérol installe un effet dose du cholestérol dans l'intestin et *in fine* réduit cette efficacité d'absorption [30].

De façon intéressante, *Kern et al.* (1991) rapportent le cas d'un patient qui a consommé 25 œufs par jour et présente un taux de cholestérol normal. Ceci

s'explique par un processus compensatoire qui allie une réduction de 18 % d'absorption de cholestérol et une augmentation de la conversion de cholestérol en sels biliaires [32].

Ce cholestérol absorbé rejoint la circulation lymphatique via des protéines spécifiques de transport pour être distribué au sein de l'organisme.

1.2.3 Transport du cholestérol

Le cholestérol est une molécule insoluble dans un environnement hydrophile du système circulatoire et doit être véhiculé par des transporteurs, les lipoprotéines. Ce sont des complexes macromoléculaires sphériques qui présentent un cœur lipidique, entouré d'une monocouche externe. Les phospholipides et le cholestérol non estérifié, les apoprotéines se retrouvent à la surface alors que le noyau présente des triglycérides (TG) et le cholestérol sous sa forme libre ou estérifié. Les apoprotéines (APO) de type A, B, C, E constituent la structure des lipoprotéines et agissent comme ligands pour les récepteurs des lipoprotéines, situés dans l'ensemble de l'organisme [33].

Les lipoprotéines sont classifiées suivant leur composition, leur densité et leur rôle dans le transport de cholestérol dans l'organisme. Le transport de ce dernier est lié aux chylomicrons (chylomicron-chol), aux lipoprotéines de très basse densité (VLDL-Chol), aux lipoprotéines de basse densité (LDL-Chol), aux lipoprotéines de haute densité (HDL-Chol). Ainsi, les lipoprotéines coordonnent des mécanismes de régulation dense et flexible, autour de 3 voies majoritaires. La voie entéro-hépatique est la voie d'origine des lipoprotéines via la genèse des chylomicrons dans l'intestin. Leur formation débute lors de l'assemblage de lipides alimentaires, à savoir du cholestérol, des phospholipides et des APO B. Ce complexe lipidique forme des gouttelettes, s'étend pour former des chylomicrons. Ces chylomicrons rejoignent la circulation lymphatique puis plasmatique pour être ensuite internalisés et dégradés par le foie [34].

Le foie est l'organe central du métabolisme des lipoprotéines plasmatiques. Il fournit les besoins nécessaires en lipides et en cholestérol aux tissus périphériques. Précisément, des gouttelettes lipidiques excrétées par le foie, exportent le cholestérol, pour former les VLDL-Chol. Ces VLDL-Chol naissants sécrétés vers le plasma, combinent un assemblage d'APO B, d'APO E, de

cholestérol, de triglycérides, et de phospholipides. Puis, ces VLDL-Chol sont ensuite transformés dans le sang en LDL-Chol, lorsque leur teneur en cholestérol devient plus importante que celle des triglycérides [35].

Cet apport de cholestérol est médié par des récepteurs aux LDL-Chol qui favorisent leur incorporation et leur dégradation dans les tissus périphériques [36].

La voie de transport inverse de cholestérol, menée par les HDL-Chol, transfère le cholestérol des tissus ou organes périphériques vers le foie. Ces HDL-Chol sont habilités à transporter le cholestérol [37].

Ces trois voies de transports participent au maintien d'un taux de cholestérol limité dans le système circulatoire. Lors d'un excès de cholestérol, il s'accumule dans les LDL-Chol, ce qui entraîne une circulation prolongée de ces LDL-Chol au sein des parois vasculaires. C'est pourquoi, la distribution des HDL-Chol et des LDL-Chol est essentielle pour maintenir une teneur en cholestérol constant et assurer une distribution fonctionnelle dans l'organisme via le système circulatoire.

D'un point de vue clinique, la distribution du cholestérol dans l'organisme d'une personne saine est suivie à partir du dosage sanguin du cholestérol total (1,5 et 2,5 g/L soit 3,8 à 6,5 mmol/L), de LDL-Chol (1,1 à 1,6 g/L) et par celui associé aux HDL-Chol (0,4 à 0,6 g/L), des triglycérides (inférieur à 1,5 g/L). Cet examen lipidique de base définit la cholestérolémie d'un individu, et est souvent préconisé pour diagnostiquer des troubles associés à un dysfonctionnement des lipides et prévenir à long terme des maladies cardiovasculaires. De façon intéressante, les données épidémiologiques démontrent que la teneur moyenne de cholestérol total de la population mondiale, équivaut entre 4,64 mmol/L - 4,76mmol/L [38].

La régulation de la cholestérolémie résulte :

- Des voies d'entrée du cholestérol (biosynthèse, alimentation, desquamation des cellules, bile),
- De l'efficacité d'absorption du cholestérol vers le plasma,
- Des voies de sorties du cholestérol.

1.2.4 Dégradation du cholestérol

La principale voie de catabolisme du cholestérol est la transformation en acides biliaires, éliminés par la bile puis par les matières fécales [39].

Le cycle entérohépatique permet la réabsorption d'une grande partie de ces acides au niveau intestinal. Il peut également être transformé en stéroïdes ou en vitamine D. Il y a aussi une élimination annexe par la peau (sécrétion sébacée, desquamation) et par l'urine (stéroïdes): les quantités respectives sont de l'ordre de 50 à 100 mg/jour et 50 mg/jour **[40]**.

1.3 Les conséquences possibles d'une hypercholestérolémie

L'augmentation du cholestérol sanguin est souvent le résultat d'une mauvaise hygiène de vie mais d'autres facteurs peuvent être en cause : prédisposition génétique, diabète, troubles organiques... Ils existent également des hypercholestérolémies essentielles souvent héréditaires. Le cholestérol intervient dans la genèse des calculs biliaires. Cependant, la conséquence la plus importante de l'excès de cholestérol est l'athérosclérose. En effet, le cholestérol non utilisé a tendance à s'accumuler sur les parois des artères. C'est une cause ou une manifestation de la formation des athéromes **[40]**.

Les complications de l'athérosclérose sont multiples :

- Artériopathie des membres inférieurs, lorsque les artères des membres inférieurs sont touchées,
- Accident vasculaire cérébral constitué ou accident ischémique transitoire ou encore démence (dite vasculaire) quand il y a atteinte de l'artère carotide et de ses branches,
- Angor voire infarctus du myocarde lorsque l'artère coronaire est atteinte ... **[41]**

En ce qui concerne la prévention des maladies coronariennes, la surveillance de la cholestérolémie est indispensable. Le rapport HDL/LDL ou le rapport ApoA1/ApoB donne l'indice d'athérogénicité. Plus il est faible, plus le risque d'athérome est important.

1.4 Traitement médicamenteux contre l'hypercholestérolémie

Les traitements médicamenteux ont également été suggérés (statines, ézétimibe et inhibiteurs de la protéine convertase de la famille subtilisine des protéases à

sérine (PCSK9)). Parmi ces derniers, les statines sont actuellement les agents hypocholestérolémiants les plus prescrites. Elles ciblent directement la synthèse hépatique du cholestérol et réduisent le taux de LDL-chol de 20 % à 60 % [42].

Ces méthodes pharmacologiques ciblent directement le niveau de cholestérol dans l'organisme, à un point donné du métabolisme, au niveau de sa synthèse (Statines), ou indirectement en ciblant son absorption (ézétimibe), son transport (inhibiteur PCSK9). Ces approches restent les voies reconnues approuvées par la *Food and Drug Administration* (FDA) et sont les plus efficaces pour prévenir l'installation de ces maladies jusqu'au ralentissement de leurs complications [43].

1.5 Apport possible des plantes dans cette problématique

De nos jours, les patients se tournent volontiers à nouveau vers les thérapeutiques dites « naturelles » [44].

Les plantes pourraient donc être une alternative envisageable aux traitements médicamenteux ou un adjuvant à ces médicaments dans le but de diminuer leurs posologies et donc leurs effets indésirables tels que les hépatites médicamenteuses (augmentation des transaminases) et myolyse (augmentation des Créatines Kinases CPK) [45].

Parmi les nombreuses plantes qui bénéficient d'une certaine réputation en tant qu'agent hypocholestérolémiant, nous avons retenu une plante médicinale utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle indienne Ayurvéda : *Moringa oleifera* L.

CHAPITRE 2 : Généralités sur le *Moringa*

CHAPITRE 2 : GENERALITES SUR LE MORINGA

2.1. Historique et distribution géographique du *Moringa*

Moringa oleifera Lamarck appartient à une famille monogénérique « Moringaceae ». Cette espèce est indigène au nord-ouest de l'Inde, ayant comme origine Agra et Oudh. On le trouve poussant à l'état sauvage au sud des montagnes de l'Himalaya depuis la rivière Chenab vers l'est jusqu'à la Sarda (Figure 4) et dans la Teraï partie de l'Uttar Pradesh en Inde [46].

Moringa a été introduit en Afrique de l'Est à partir de l'Inde au début du 20^{ème} siècle par les anglais, comme étant un arbre ornemental [47] ; à la Nouvelle-Guinée néerlandaise par les indonésiens [48] ; en Jamaïque, en 1784 par un anglais nommé Hinton East [49].

De nos jours, il est cultivé dans presque toutes les régions des tropiques de l'ancien monde, et est plus ou moins naturalisé aux Antilles, aux Bahamas, aux Bermudes et en Amérique Latine (notamment à Cuba, en Haïti, en Jamaïque, Porto Rico, la Barbade, les Antilles néerlandaises, Panama, le Salvador, Honduras, Costa Rica, Belize, Mexique, Brésil et Venezuela) [50].

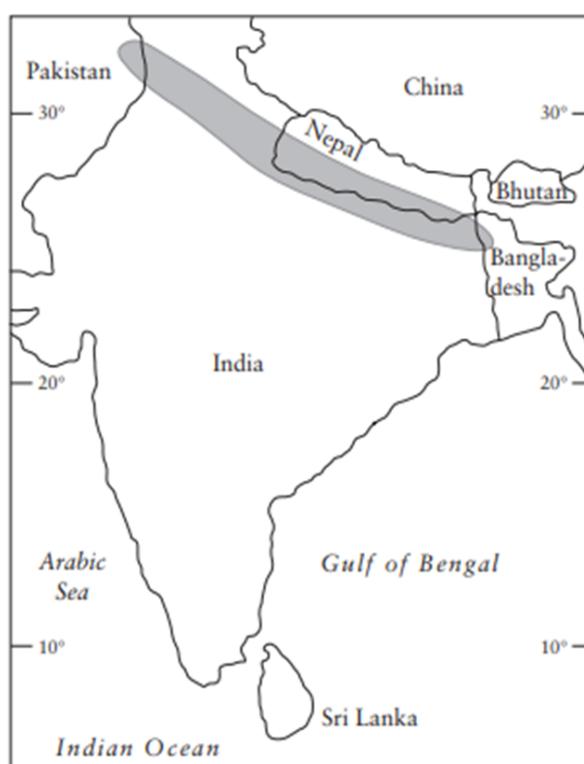


Figure 4 : Distribution géographique de *Moringa oleifera*.

2.2. Systématique et nomenclature

Le nom « *Moringa* » vient de *Muringa* en Malayalam, langue indienne [51]. Plusieurs noms vernaculaires lui sont attribués selon différentes régions : les pays anglophones l'appellent *West indian tree* ou encore *Never die tree* en référence à sa résistance à la sécheresse. Les pays francophones la désignent sous les noms du Ben ailé, *Moringa* ailé ou le morungue. Les pays arabes l'appellent *Shagara Al Ruwag*, *HabbahGhaliah*, *Rawag*. Sa position systématique se résume dans le tableau 1.

Tableau 1 :Position systématique de *Moringa oleifera* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-Classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Moringaceae
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>Moringa oleifera</i>

2.3. Description botanique

Moringa oleifera Lam. (Synonyme: *Moringa pterygosperma* Gaertner) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae qui comprend 14 espèces [52].

Moringa est un arbre vivace à croissance rapide pouvant atteindre une hauteur maximale de 7-12 m et un diamètre de 20 à 40 cm à hauteur de poitrine [47].

Elle pousse mieux entre 25 et 35°C mais tolère jusqu'à 48°C de température [53].

Les feuilles, alternes bi ou tripennées et duveteuses, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles mesurent 20 à 50 cm de long et sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont juvéniles, elles ont un long pétiole avec 4 à 6 paires de pinnules plus une à l'apex, ovales ou en forme d'ellipse, et mesurant 1 à 2 cm de long [50].

Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. Elles sont blanches ou de couleur crème, avec des points jaunes à la base. Les sépales, au nombre de cinq, sont symétriques et lancéolés. Les cinq pétales sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent cinq étamines [54].

Les fruits forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long, qui pendent des branches. Lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines. Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalle. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Une graine pèse en moyenne 0,3 g et la coque représente 25% du poids de la graine [54].

2.4. Domaines d'utilisation du *Moringa*

2.4.1. Le bois

Le bois du *Moringa* est peu utilisé, excepté comme bois de chauffage et occasionnellement pour les constructions légères seulement [55].

En Inde, il est également utilisé pour produire de la pâte à papier destinée aux journaux [56]; pour la production industrielle de la cellophane [57] et dans l'industrie du textile [58].

L'écorce de liège produit une fibre grossière, utilisée pour la fabrication de nattes en vannerie, de papier et de cordages [59].

2.4.2. Les gousses

L'arbre est principalement apprécié pour ses jeunes gousses tendres et comestibles, qui ont un goût très similaire à l'asperge et qui sont mangés comme légume nutritif cuit ou mariné [59].

Elles sont appelées « baguettes de tambour » (*drumsticks*) en Inde.

2.4.3. Les racines

Les racines du *Moringa* sont utilisées comme condiment après pelage, séchage et mélangé avec du vinaigre. Cependant, l'écorce de racine doit être complètement éliminée car elle est riche en ces deux alcaloïdes associés à l'éphédrine : Benzylamine (la moringine), composé physiologiquement inactive ; La moringinine, composé toxique qui agit sur les terminaisons du nerf sympathique ainsi que le muscle cardiaque [50].

Ces racines possèdent un fort potentiel antibiotique et fongicide par la présence de la Pterygospermine [60].

D'autres molécules intéressantes du point de vue thérapeutique sont également présentes dans les racines, telles que le B-Sitostérol qui possède une activité anticancéreuse [61].

La Spirochine est un agent neurotoxique paralysant qui a été détectée même au niveau des racines débarrassées de l'écorce. De ce fait, les racines du *Moringa* doivent être consommées avec modération [62].

2.4.4. Les fleurs

Les fleurs de *Moringa oleifera* sont utilisées pour faire du thé ou ajoutées dans des sauces pour faire des pâtes [63].

Elles sont utilisées pour produire une aphrodisiaque utile substance pour le traitement de la rate élargie, les tumeurs, de l'hystérie, les maladies musculaires et les inflammations graves [64].

2.4.5. Les graines

Il y en a les gousses immatures qui sont cuites de différentes manières et les graines matures qui sont rôties et consommées comme des cacahuètes [65].

La poudre des graines de *moringa* est utilisée dans la purification de l'eau par le remplacement des produits chimiques dangereux et explosifs comme le sulfate d'aluminium [65].

Les graines constituent près de 30 % à 40 % de "l'huile de ben" comestible qui peut être utilisée pour l'assaisonnement des salades et la cuisson à la place de l'huile d'olive, car elle est très résistante au rancissement et fournit des quantités importantes de tocophérol, de stérols et d'acide oléique [63].

2.4.6. L'écorce

Elle est utilisée pour traiter des graves maux d'estomac, des ulcérations, des douleurs d'estomac, de l'hypertension, de l'anémie, du diabète, des douleurs articulaires et une mauvaise vue [66].

Elle traite ainsi les troubles utérins, les hémorroïdes et les maux de dents [64].

2.4.7. Les feuilles

Dans de nombreuses régions de son aire de répartition, les feuilles et les rameaux sont utilisés comme fourrage pour les bovins, les moutons, les chèvres et les chameaux [67].

La feuille représente la partie la plus recherchée par les populations (51,2%), suivie des graines (24,3%), des racines (13,2%), de l'écorce (8,5%) et enfin des fleurs qui sont marginales avec 2,8% [68].

Elles représentent la partie la plus nutritive de la plante très bénéfique aux mères qui allaitent, aux femmes enceintes et aux jeunes enfants car elles contiennent des quantités appréciables de minéraux, de vitamine A, de vitamine B et de vitamine C, notant bien que la poudre de ces feuilles aide à rétablir la malnutrition des nourrissons.

Elles sont considérées comme une source riche de zéatine une hormone végétale importante appartenant aux cytokinines qui stimule la croissance naturelle des plantes. En outre, l'extrait des feuilles présente une activité biopesticide

considérable et s'est révélé efficace contre les larves de *Trogodermagranarium*, entraînant une réduction significative des infections fongiques [69].

2.5. Valeur nutritionnelle de *Moringa oleifera* L.

Les graines, les gousses, les feuilles et les fleurs de *Moringa* contiennent une quantité abondante de nombreux nutriments et phytoconstituants (tableau 2) et favorisant l'utilisation de toutes les parties d'une plante. La plante contient des polyphénols, des flavonoïdes, des glucosinolates, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des glycosides, de l'ascorbique acide, acides phénoliques et caroténoïdes (Figure 5). *M. oleifera* étant riche en vitamines, minéraux, protéines, acides aminés (méthionine, tryptophane, lysine et cystéine) et plusieurs composés phénoliques est très propre à la consommation humaine [70-71].

Les feuilles contiennent des vitamines A, complexe B (B1 2,64 mg, B2 20,5 mg , B3 8,2 mg dans la poudre de feuilles) et Vitamine C (200 mg/100 g) [72].

Il contient de la vitamine A sous forme de α -carotène, 4 fois plus que la carotte et 13 fois plus que les épinards [73].

Le complexe de Vitamine B (B1, B2, B3, B6 et B12) et la teneur en vitamine C du *Moringa* sont également plus élevés que celle de la viande de porc et de l'orange, respectivement [74].

Seuls 5 à 8 g de poudre de feuilles peuvent répondre aux besoins en protéines brutes en 14%, calcium de 40% et fer de 23% pour un enfant de 1 à 3 ans.

M. oleifera contient 4 fois plus de calcium que dans le lait, 36 fois plus de magnésium que dans les œufs, 25 fois plus de fer que dans les épinards et seulement 30 g de poudre de feuilles peuvent combler les besoins des femmes en fer et en calcium pendant la grossesse et la période de lactation [75].

Il contient 63 fois plus de potassium que le lait et 3 fois plus que la banane [76].

Les graines de *Moringa* renferment une très grande quantité de matières grasses (44,78 mg/100 g de matière sèche) représentant une valeur énergétique élevée. Ce qui lui donne un excellent atout pour lutter contre la malnutrition et assurer la sécurité nutritionnelle [77].

La teneur la plus élevée en calcium (28,97 mg/100 g), en magnésium (403,56 mg/100 g), potassium (1 498,75 mg/100 g) et sodium (72,50 mg/100 g) sont présentes dans les feuilles séchées, tandis que la plus grande quantité de phosphore (524,30 mg/100 g) trouvée dans les graines. Concernant les microéléments: La plus forte teneur en zinc (27,47 mg/100 g), manganèse (87,75 mg/100 g) et de cuivre (48,13 mg/100 g) est présente dans les graines (tableau 2).

Dans le cas de la composition en acides gras, les graisses saturées (31,76 mg/100 g) et les acides gras monoinsaturés (26,26 mg/100 g) sont très présents dans les fleurs de *Moringa*.

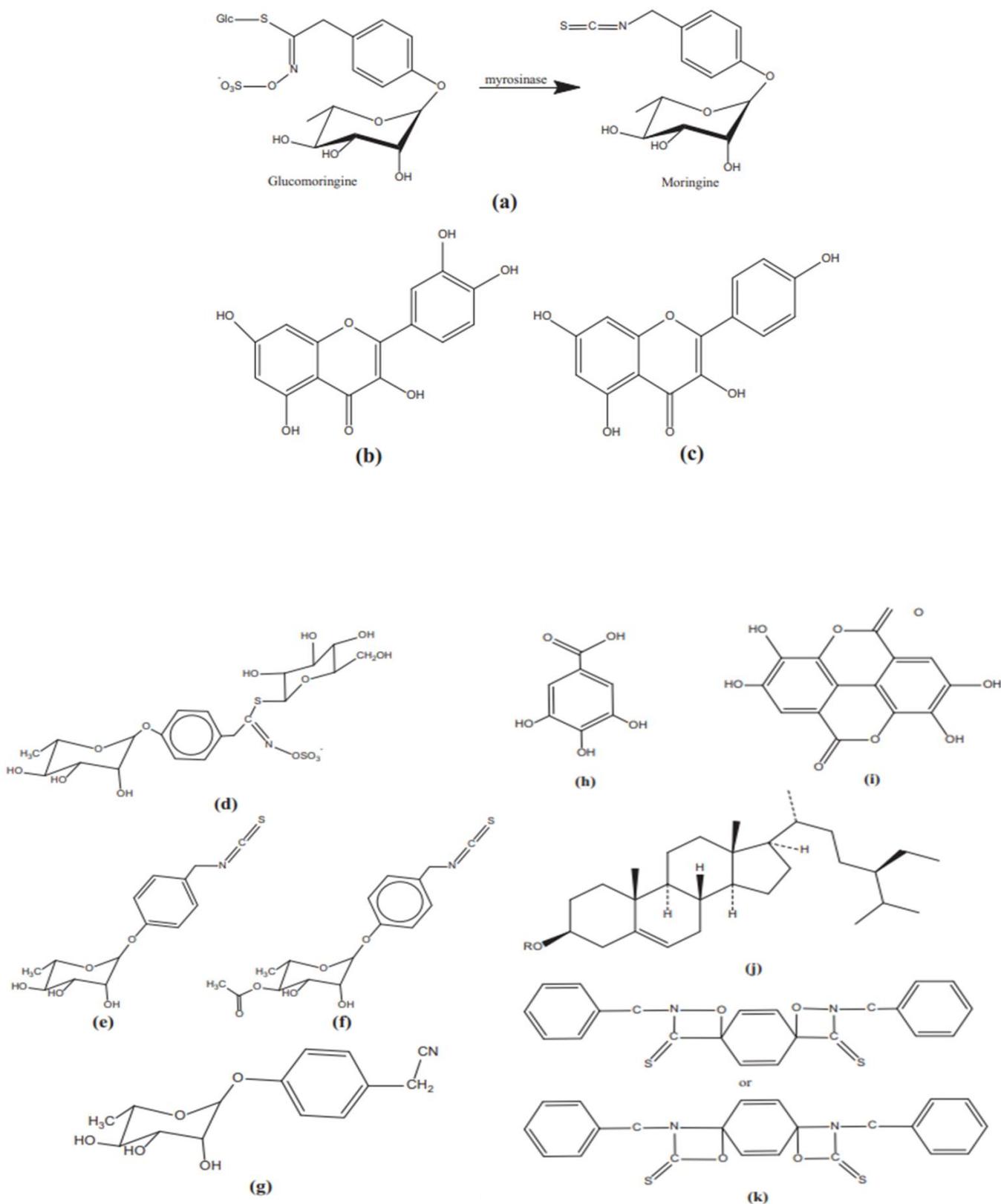
Les graisses polyinsaturées et insaturées sont présentes principalement dans les feuilles (63,19 mg/100 g) et (70,42 mg/100 g), respectivement [78].

Le *Moringa* contient des quantités considérables d'acides aminés : aspartate, proline, glutamate, glycine, sérine, alanine, tyrosine, valine, arginine et acides aminés non essentiels méthionine, leucine, isoleucine, phénylalanine, histidine, thréonine, lysine [72].

Tableau 2 :Composition chimique de *Moringa oleifera* L.

Valeur nutritionnelle (g/100g de matière sèche)	Gousses	Graines	Feuilles fraîches	Feuilles séchées	Fleur
Eau	80,1– 85,7	4,7-5,0	74,3-76,3	4,2-5,5	-
protéines brutes	17,2 -18,3	26-26,9	18-20,9	26,8-29,6	18,9
Graisses	0,4	42,8-46,6	4,2-5,7	5-5,6	-
Graisses saturés (mg/100g)	31,6	-	29,9	-	31,8
graisses monoinsaturés (mg/ 100g)	18,4	-	7,2	-	26,3
graisses polyinsaturés (mg/ 100g)	49,9	-	63,2	-	42,2
Fibres brutes	35	4,9	7,7	18,7	-
Carbohydrates	26,4	14,4	37,8	35,9	36
minéraux (mg/100g)	178,2	564,5	286,9	295,6	-
Calcium	29	76,8	738,9	2079	-
Phosphore	112,3	534,3	89,9	346,8	-
Magnésium	25,2	259,8	147,6	403,6	-
Potassium	263,5	64,2	494,1	1498,7	-
Sodium	15,3	24,9	21,9	72,5	-
zinc	0,3	27,5	1,2	5,4	-
Manganèse	8,4	87,7	13,5	32,5	-
Cuivre	3,2	48,1	1,2	0,8	-
Fer	5,3	13,7	16	27,8	-
Composés bioactifs (mg/100g)	13,7	9,6	22,4	21,6	-
Polyphénols totaux (mg/100g)	69	142,2	77,9	76	-
flavonoides totaux (mg/100g)	871,3	84,5	825,1	67,8	-
acide ascorbique (mg/100g)	1	0,6	28,4	17,6	-
β carotène (mg/100g)	140,9	28,9	149,7	147,4	-
Caroténoides (mg/100g)	133,8	166,8	168,3	167,6	-

Source :[79]



(a) Moringine; (b) Quercetin; (c) kaempferol;
 (d) 4-(α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate ; (e) 4(α -L-Rhamnosyloxy) benzyl isothiocyanate;(f) 4-(4'-O-acetyl- α -L-rhamnosyloxy) benzyl isothiocyanate;(g) 4-(α -L-rhamnosyloxy) phenyl acetonitrile; (h) Gallic acid; (i) Ellagic acid; (j) R = H \rightarrow β -sitosterol; (k) Pterygosperrin.

Figure 5 : Métabolites secondaires de *Moringa oleifera* Source: [80]

II - DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES

3.1. Préparation du matériel végétal

Des feuilles fraîches de *M. oleifera* ont été récoltées sur une terre agricole de la Commune de CHEKFA, Jijel (Algérie), puis séchées dans un séchoire électrique et broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine. Une quantité égale à 600 g de l'échantillon obtenu a été macérée dans du méthanol à 80 % à température ambiante pendant 24 h. Le mélange macéré a été filtré à travers du papier filtre Whatman et évaporé à sec à l'aide d'une étuve à 56 ° C pendant 72 h. La poudre sèche résultante (rendement en pourcentage 12,5 %) a ensuite été dissoute dans de l'eau distillée pour l'utilisation finale. Cette extraction méthanolique de la poudre de feuilles de Moringa a été réalisée au niveau du Laboratoire de Biotechnologie végétale de la Faculté des Sciences Biologiques à l'université de Babezzouar.

1.6 Screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera*

L'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* (MEMOL) a été soumis à une analyse phytochimique pour rechercher la présence de divers constituants tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les sucres réducteurs, les phénols et les glycosides en utilisant des méthodes standard [81-83]. Cette opération s'est déroulée au niveau du laboratoire de Biotechnologie végétale à l'université de Babezzouar.

1.6.1 Alcaloïdes

2 ml de chloroforme ont été ajoutés à un tube à essai contenant l'extrait. Environ 3 à 4 gouttes de réactif de Wagner ont été ajoutées au mélange et une coloration brun rougeâtre a confirmé la présence d'alcaloïdes.

1.6.2 Flavonoïdes

A 1 ml d'extrait, 1 ml d'une solution d'acétate de plomb à 10 % a été ajouté. La formation d'un précipité jaune a été considérée comme un test positif pour la présence de flavonoïdes.

1.6.3 Saponines

5 ml d'extrait ont été secoués vigoureusement avec 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai, puis réchauffés. La formation de mousse stable a été considérée comme une indication de la présence de saponines.

1.6.4 Tanins

2 ml de l'extrait dans un tube à essai ont été bouillis doucement pendant 2 min et laissés refroidir. 3 gouttes de solution de chlorure ferrique ont été ajoutées à l'extrait. La formation d'un précipité vert était une indication de la présence de tanins.

1.6.5 Glycosides

A 2 ml d'extrait avec du HCl dilué et 2 ml de nitropruside de sodium dans une solution de pyridine et d'hydroxyde de sodium ont été ajoutés. La formation d'une couleur rose à rouge sang indique la présence de glycosides cardiaques.

1.6.6 Sucres réducteurs

A 0,5 ml de l'extrait, 1 ml d'eau et 5 à 8 gouttes de solution de Fehling ont été ajoutés et chauffés au bain-marie.

1.6.7 Phénols

L'extrait (500 mg) a été dissous dans 5 ml d'eau distillée. A cela, quelques gouttes d'une solution neutre de chlorure ferrique à 5 % ont été ajoutées. Une couleur vert foncé indique la présence de composés phénoliques.

1.7 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de *Moringa*

Cette opération a été réalisée par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), avec les conditions opératoires suivantes :

- Un appareil YL 9100 HPLC, de logiciel YL CLARITY
- Une colonne C18 de marque AGILENT (longueur : 150mm, diamètre : 4,6 mm, taille de particules : 5 µm)
- Détecteur : UV/VIS
- Boucle d'injection : 20 µL
- Température : 35°C

- Détection (λ) : 230 nm
- Durée d'analyse : 60 min
- Débit : 1 mL/min
- Volume injecté : 20 μ L
- La phase mobile : constituée de 2 solvants (Eau à 1% d'acide acétique et du méthanol)

1.7.1 Préparation des échantillons pour l'analyse HPLC - UV/VIS

Il a fallu au préalable, dégazer les solvants pour injecter notre extrait MEMOL à l'entrée de la colonne. Les constituants du mélange, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne. Ils se déplacent tous moins vite que la phase mobile et leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et sont donc séparés. Un détecteur UV/VIS placé à la sortie de la colonne couplée à un enregistreur permet d'obtenir un chromatogramme.

1.7.2 Principe

20 μ L de l'extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18 (150 mm x 4,6 mm I.D). La phase mobile constituée de deux éluants: l'eau distillée / acide acétique (1%) à pH =3 (Solvant A) et Méthanol (Solvant B), respectivement. Dans le mode de gradient linéaire suivant: 0 min, 5 % B ;55 min, 95 % B ; 60 min, 5% . Le débit de la phase mobile était de 1,0 mL/min. la détection était réalisée par un détecteur UV.

Les pics chromatographiques sont identifiés par leurs temps de rétention comparés avec ceux des témoins de la bibliothèque puis confirmés par comparaison de leurs Spectre UV avec ceux des témoins correspondant de la même bibliothèque.

Pour identifier un pic chromatographique il faut que son temps de rétention et son spectre UV correspondent à ceux du témoin déterminé sélectionné.

Les temps de rétention de polyphénols standards sont énumérés au niveau du tableau 3.

Tableau 3 :Temps de rétention de polyphénols standards.

Temps de rétention (min)	Flavonoïdes
21.6	Catéchine
22.5	Epicatéchine
29.3	Berbérine
31.5	Robinin
32	Rutine
34.3	Myricétine
38.5	Quercétine
39	Naringénine
42.2	Kaempférol
42.5	Apgénine
49.6	3-hydroxy-flavone
	Anthocyanes
35.8	Malvinchloride
48.4	Anthrone
	Coumarine
25.8	Scopolétine

1.8 Animaux et régimes

Trente souris de la souche NMRI mâles adultes âgés entre 7 et 8 semaines en bonne santé pesant entre 25 et 35 g, obtenues auprès de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie, ont été réparties au hasard en cinq groupes de six animaux par groupe. Elles ont été logées dans des cages en plastique placées dans une pièce bien ventilée et ont été exposées à un cycle lumière-obscurité de 12 h et manipulées selon le protocole standard. Les animaux ont été maintenus au niveau de l'animalerie pendant 2 semaines pour l'acclimatation et nourris avec l'aliment *Standard Chow* dont la composition figure au niveau du tableau 4 et de l'eau *ad-libitum*.

Tableau 4 : Composition du Standard Chow Diet

Composants	
Carbohydrates %	63.9
Protéines %	20.3
Graisses %	15.8
Caséines (g/kg)	200
L-Cystéine (g/kg)	3
Amidon de Mais (g/kg)	397
Maltodextrine (g/kg)	132
Sucrose (g/kg)	100
Cellulose (g/kg)	50
Huile de Soja (g/kg)	70
T-butylhydroquinone (g/kg)	0.014
Mélange de minéraux (g/kg)	35
Mélange de vitamines (g/kg)	10
Choline Bitartrate (g/kg)	2.5

L'hypercholestérolémie a été induite par une injection intra-péritonéale (IP) unique de 100 mg/kg de Triton X-100, préparé dans une solution saline normale. Cette solution a été utilisée avec succès pour induire une hypercholestérolémie sur des modèles animaux dans des études précédentes [84,85].

Les animaux ont été répartis comme suit (Figure 6):



Figure 6 :Répartition des souris dans les cages appropriées.

Groupe 1 : A servi de témoin normal ;

Groupe 2: a reçu l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa* (800 mg/kg de poids corporel p.o) ;

Groupe 3 : souris rendus hypercholestérolémiques par injection de Triton X-100 ;

Groupe 4 : souris rendus hypercholesterolémiques et qui ont reçu comme traitement : l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* (800 mg/kg de poids corporel p.o) ;

Groupe 5 : Souris rendus hypercholestérolémiques et qui ont reçu comme traitement le médicament de référence Atorvastatine, à une dose de 10 mg/kg de poids corporel.

La dose de 800 mg d'extrait de *M. oleifera* a été choisie parce qu'elle est inférieure à la dose létale et qu'elle est sans danger pour les usages nutritionnels et médicaux selon des études antérieures [86].

Après un traitement quotidien pendant 7 jours, les souris ont été mises à jeun pendant une nuit et des échantillons de sang ont été prélevés par ponction cardiaque avant le sacrifice lors de la dislocation cervicale. Le sang total a été centrifugé, le sérum a été recueilli dans des tubes Eppendorf et conservé à 4 °C pour une éventuelle analyse biochimique. Deux souris par groupe ont été disséquées en vue de réaliser des coupes histologiques au niveau hépatique pour une étude histologique.

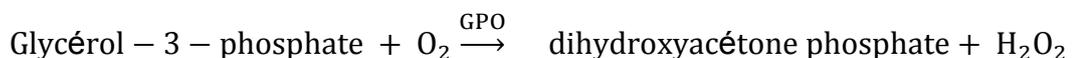
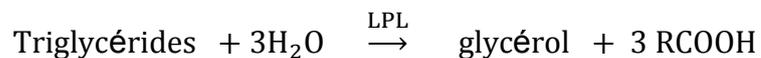
1.9 Analyse du profil lipidique

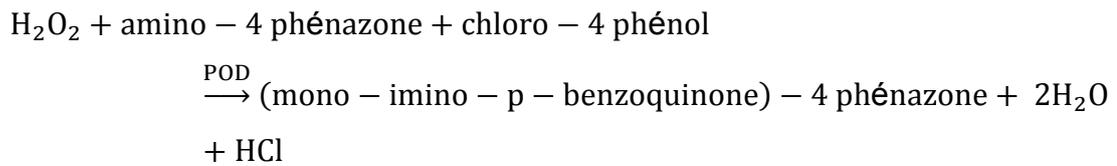
Les concentrations sériques du cholestérol total (TC), des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) et des triglycérides (TG) ont été déterminées par une méthode colorimétrique enzymatique à l'aide des kits de Roche pour l'analyseur automatique CobasIntegra 400 plus.

1.9.1 Dosage de Triglycérides

La méthode de dosage des triglycérides fait appel, pour l'hydrolyse rapide et complète des triglycérides en glycérol et acides gras, à une lipoprotéine-lipase de micro-organismes; le glycérol formé est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate, puis oxydé en dihydroxyacétone-phosphate avec formation d'eau oxygénée; en présence de peroxydase l'eau oxygénée formée réagit, dans une réaction selon Trinder, avec l' amino-4 phénazone et le chloro4 phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge (méthode en point final). L'intensité de la coloration rouge développée est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides et est mesurée par photométrie [87].

Equation de la réaction :

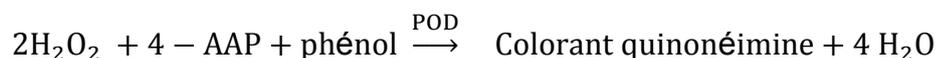
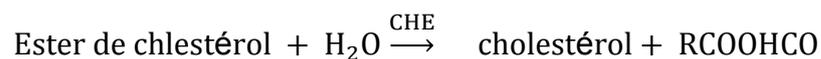




1.9.2 Dosage du Cholestérol total

La cholestérol-estérase hydrolyse les esters du cholestérol pour former du cholestérol libre et des acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholestène-4 one-3 avec formation d'eau oxygénée: En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l'amino-4 phénazone et le phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm **[87]**.

Equation de la réaction :

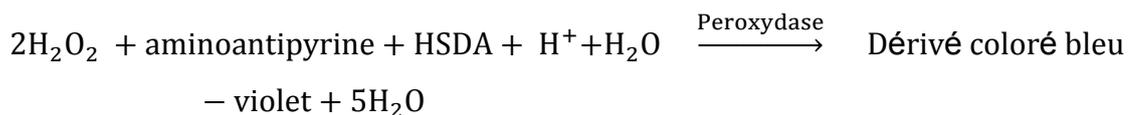
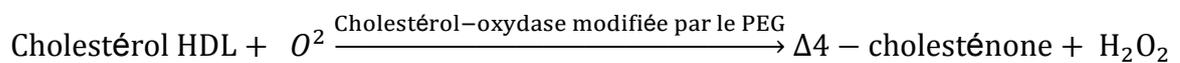
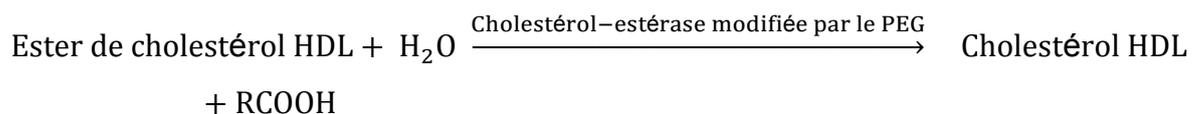


1.9.3 Dosage du Cholestérol HDL

En présence d'ions magnésium et de sulfate de dextran, il se forme des complexes hydrosolubles avec les Chol-LDL, les Chol-VLDL et les chylomicrons; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par du PEG. La

concentration en cholestérol HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol-estérase et de cholestérol-oxydase modifiées par du PEG (env. 40% des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en 4-cholesténone avec formation d'eau oxygénée qui réagit, dans une réaction selon Trinder, avec l'aminopyrine et le HSDA avec formation d'un dérivé coloré bleu. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm [87].

Equation de la réaction :



1.9.4 Calcul des Chol-LDL des Chol- VLDL et de l'indice d'athérogénécité

Les lipoprotéines de basse densité (Chol-LDL) et les lipoprotéines de très basse densité (Chol-VLDL) ont été calculés par une relation mathématique décrite précédemment [88].

$$\text{Chol-LDL} = \text{cholestérol total} - (\text{Chol-HDL}) - 0,20(\text{TG})$$

$$\text{Chol-VLDL} = \frac{\text{Triglycérides}}{5}$$

L'indice athérogène (IA) a été calculé selon la relation mathématique suivante:

$$\text{Indice athérogène (IA)} = \frac{\text{Cholestérol total} - \text{HDL}}{\text{HDL}}$$

1.10 Etude histopathologique

Une partie des tissus hépatiques a été fixée dans du formol tamponné à 10 %, déshydratée dans de l'éthanol à 95 % puis clarifiée dans du xylène avant d'être incluse dans de la paraffine. Des microsections (environ 4 µm) ont été préparées et colorées avec un colorant hématoxyline et éosine (H&E) et ont été examinées au microscope optique.

1.11 Analyse statistique

Les données présentées dans cette étude ont été analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS, version 20.0. Les résultats ont été présentés sous forme de moyennes et d'écart type. Un test ANOVA a été effectué pour détecter toute différence de signification. $P < 0,05$ était considéré comme statistiquement significatif.

II- RESULTATS

CHAPITRE 2 : RESULTATS

1.12 Screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera*

Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* a révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines, de tanins et de Phénols (Tableau 5). Les Glycosides et les sucres réducteurs font défaut.

Tableau 5 :Screening phytochimique de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*.

Phytoconstituents	Extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i>
<i>Alcaloïdes</i>	+
<i>Flavonoïdes</i>	+
<i>Saponines</i>	+
<i>Tanins</i>	+
<i>Glycosides</i>	-
<i>Sucres réducteurs</i>	-
<i>Phénols</i>	+

+: Présents, -: Absents

1.13 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de *Moringa*

L'analyse a été réalisée par la technique de chromatographie HPLC, après comparaison des temps de rétention de l'extrait avec ceux des témoins

L'observation des profils chromatographiques de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de *M.oleifera* par HPLC montre bien la richesse de ce dernier en métabolites secondaires notamment les polyphénols qui absorbent bien à 230 nm ; 254 ; 280 ; 300 ; et 350 nm (Figure 7). Après une comparaison aux temps de rétention (tr) des acides phénoliques et flavonoides standards avec nos résultats obtenus dans les chromatogrammes, on pourrait dire que notre extrait contient :

- Acide tannique,
- Acide gallique,

- Hydroxy-quinone,
- Resorcinol,
- Rutine,
- Lutéoline-7-glycoside,
- Quercetine-3-B-D-Glycoside,
- Apigenine-7-Glycoside,
- Spiracoside,
- Myricetine,
- Quercetine,
- Lutéoline.

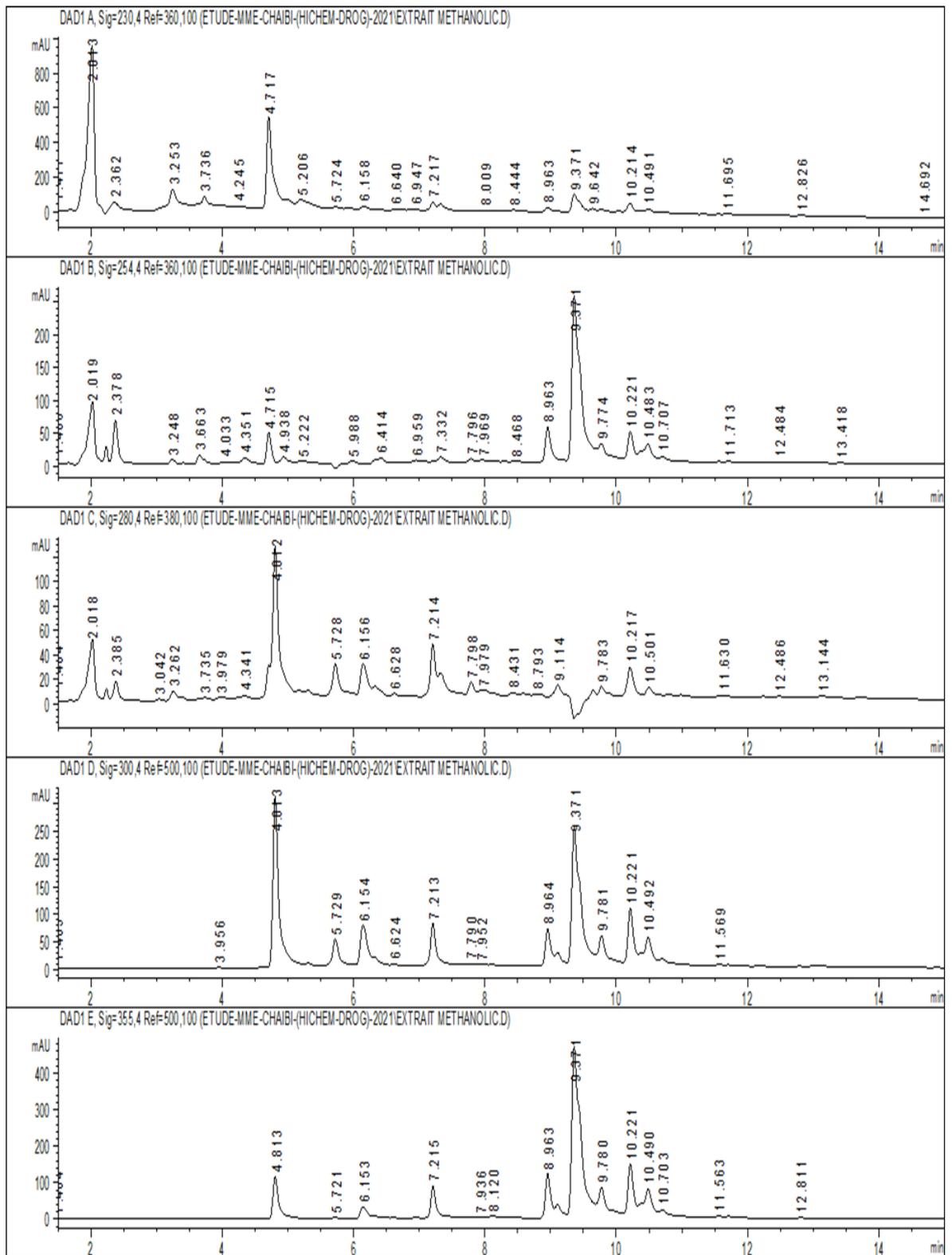


Figure 7 : Profil chromatographique HPLC/ UV aux longueurs d'ondes respectives : 230, 254, 280, 300 et 350 nm.

La superposition du spectre de notre pic sélectionné avec celui du standard correspondant proposé par la bibliothèque est indispensable à la détection du

polyphénol au cours de l'analyse. Le pic chromatographique correspondant à l'acide tannique et à l'acide galique est illustré au niveau de la figure 8.

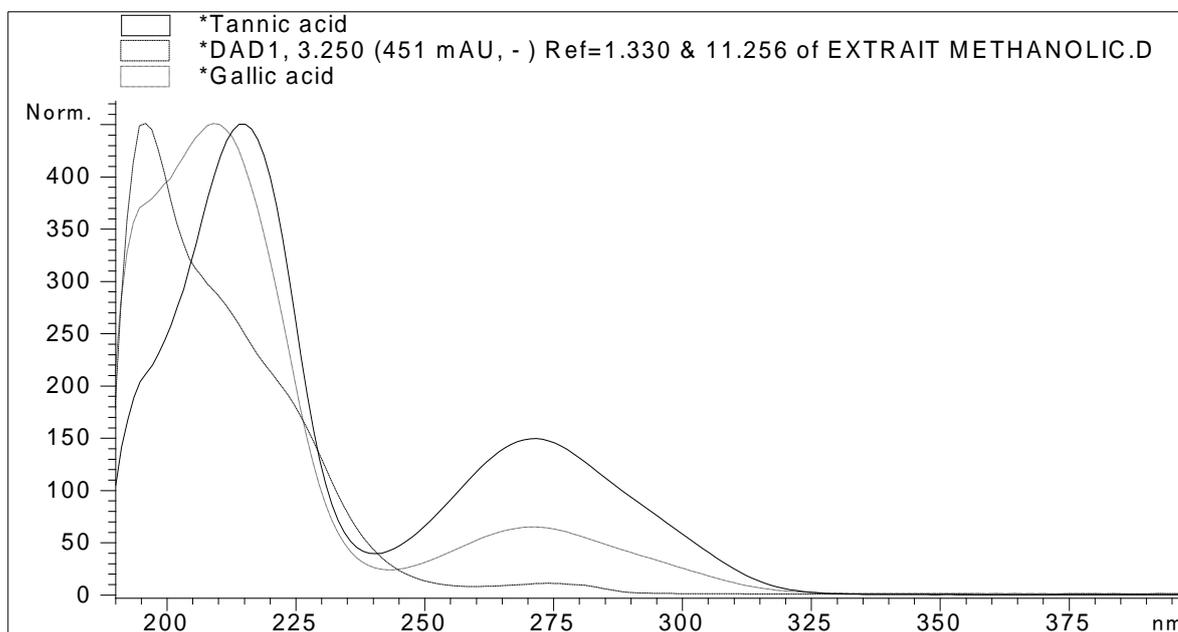


Figure 8 :Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec les pics de l'acide tannique et celui de l'acide galique.

Le pic chromatographique correspondant à l'Hydroxy-Quinone est illustré au niveau de la figure 9

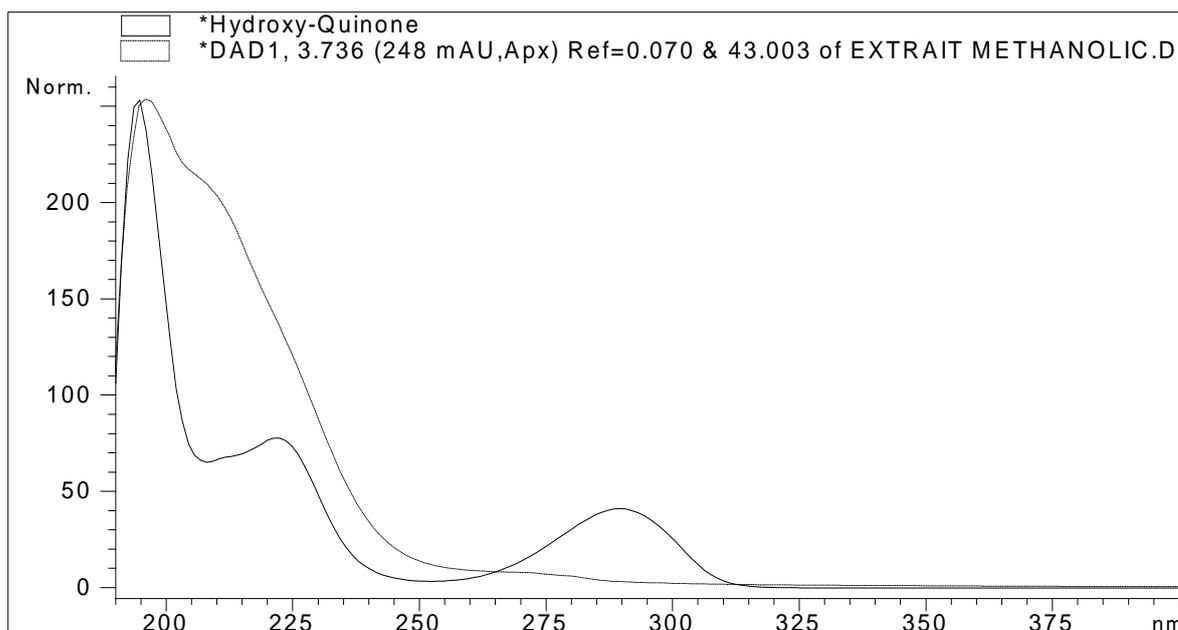


Figure 9 :Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec le pic de l'étalon « Hydroxy-Quinone ».

Le pic chromatographique (au temps de rétention 5,203 min) correspondant à celui du Résorcinol est illustré au niveau de la figure 10.

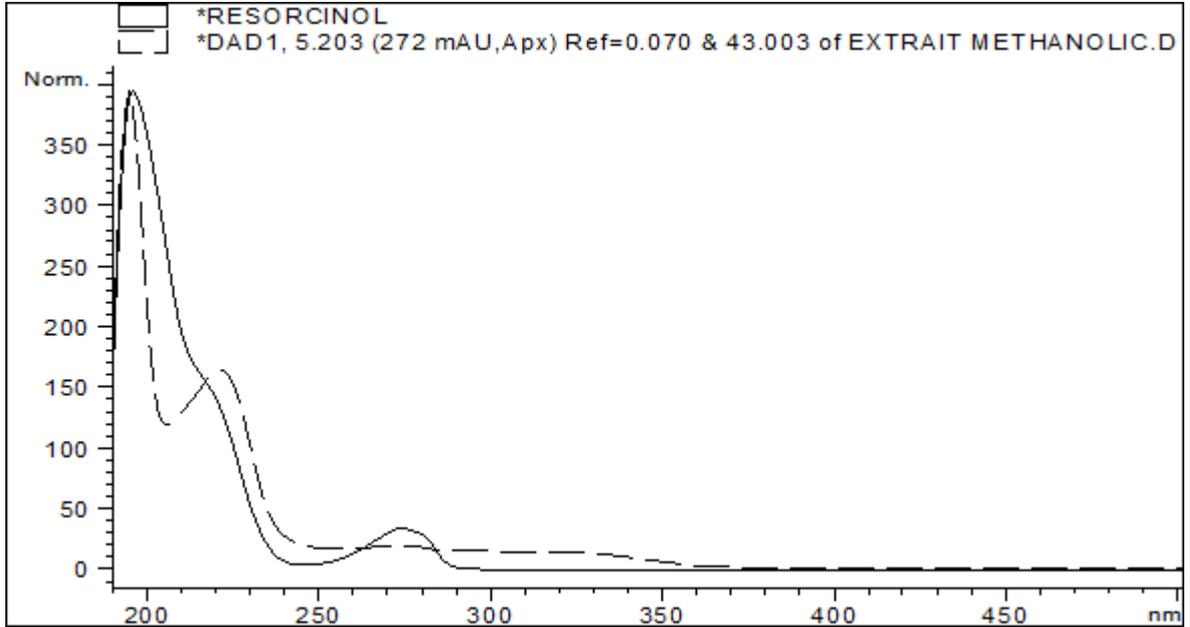


Figure 10 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Résorcinol ».

Le pic chromatographique (au temps de rétention 8,963 min) correspondant à celui de la Rutine est illustré au niveau de la figure 11.

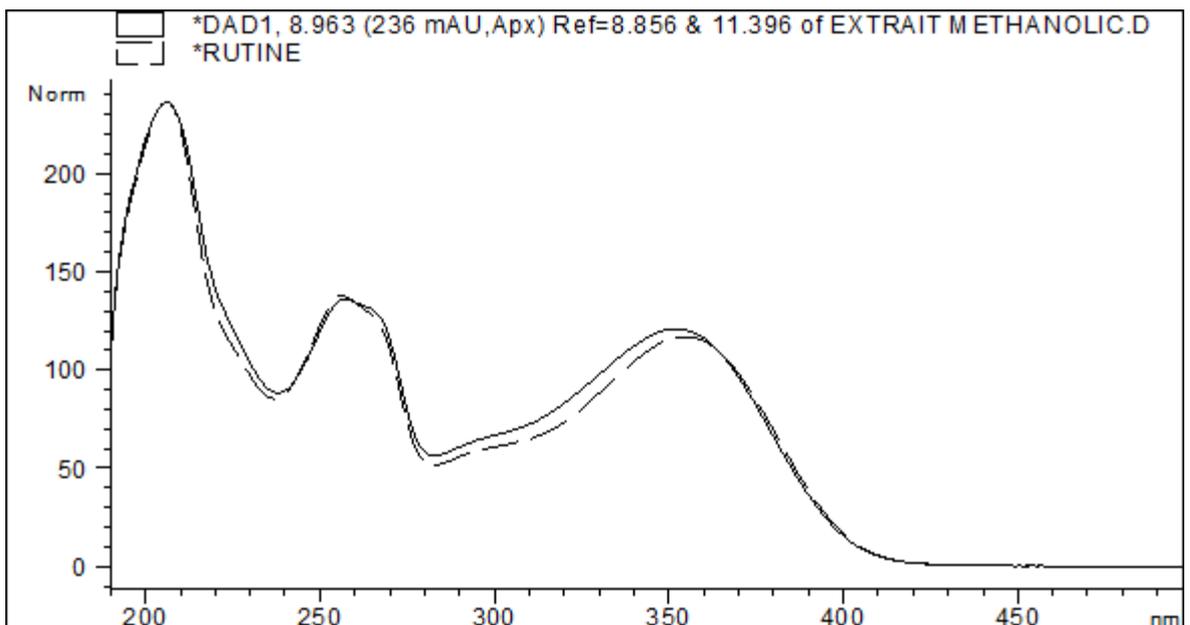


Figure 11 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Rutine ».

Le pic chromatographique correspondant à celui de la Lutéoline-7-glycoside et celui de la Quercétine-3-B-D-Glycoside (au temps de rétention 9,31 min) est illustré au niveau de la figure 12.

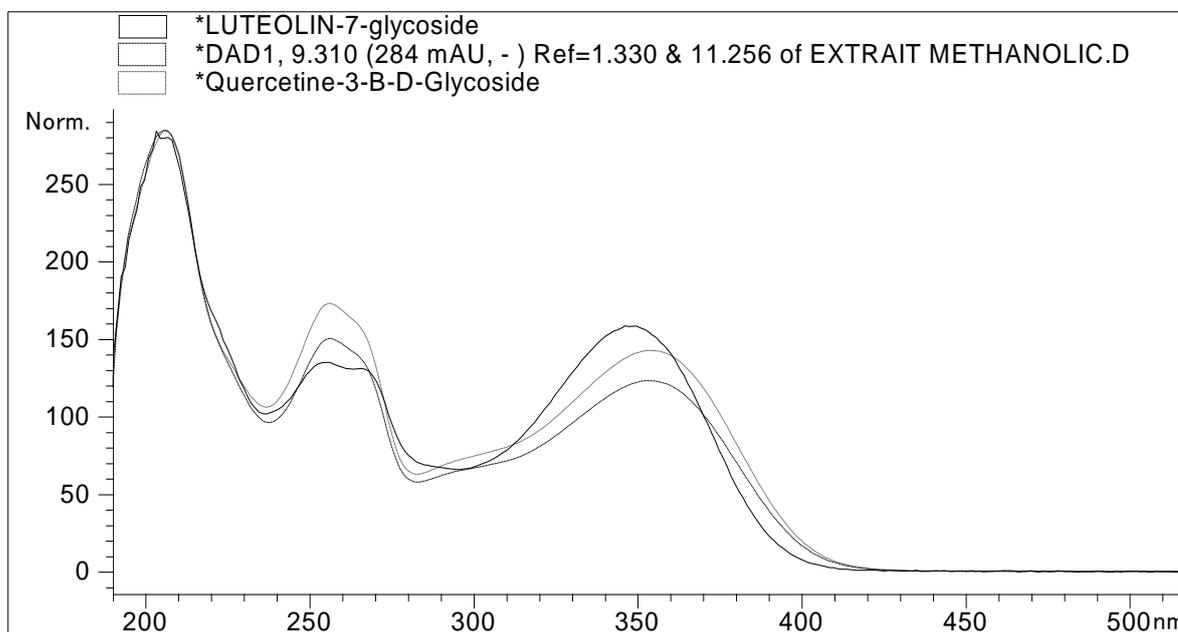


Figure 12 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de la Lutéoline-7-glycoside et celui de la Quercetine-3-B-D-Glycoside.

Le pic chromatographique correspondant à celui de l'Apigénine-7-Glycoside (au temps de rétention 10,223 min) est représenté au niveau de la figure 13.

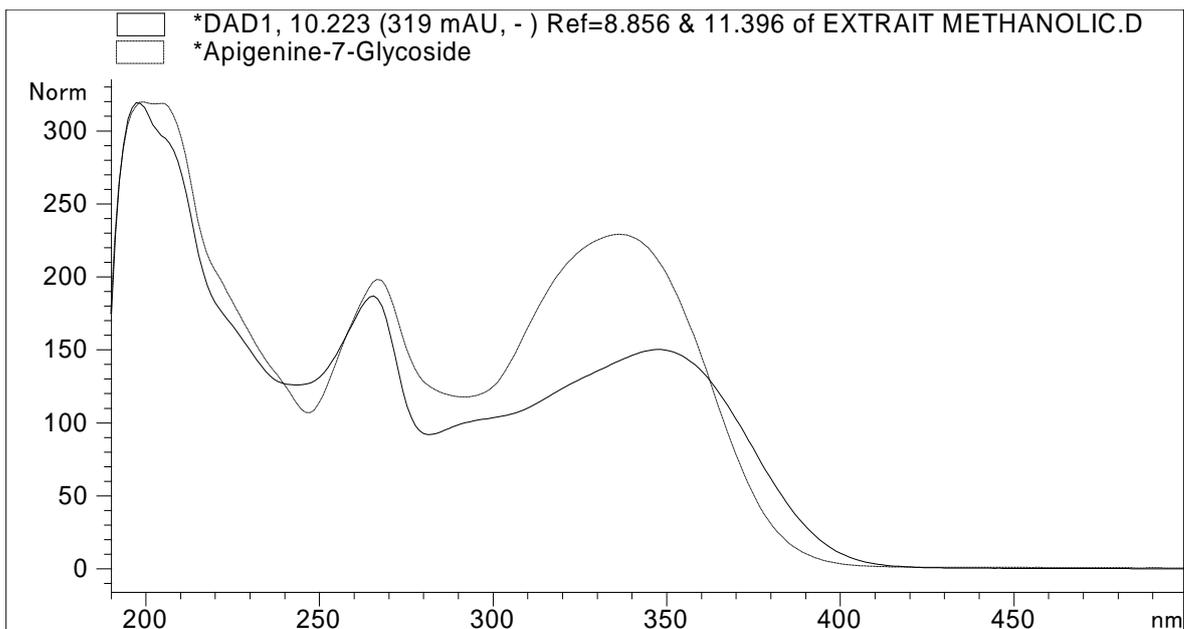


Figure 13 :Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Apigénine-7-Glycoside ».

Le pic chromatographique (au temps de rétention 10,49 min) correspondant à celui de la Spiracoside est représenté au niveau de la figure 14

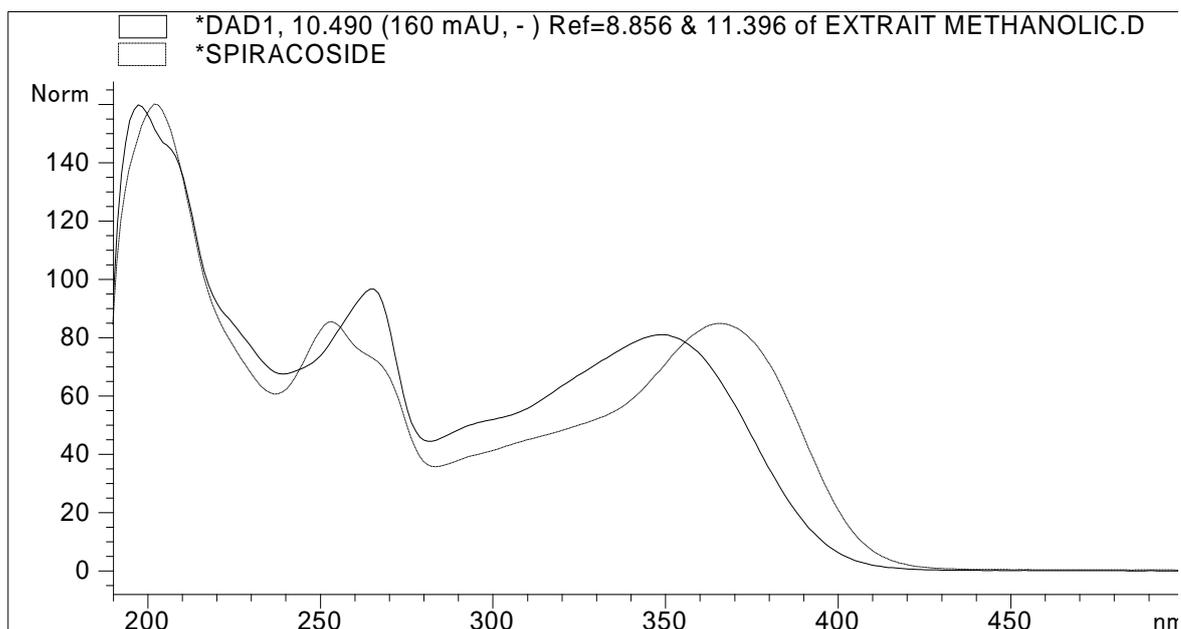


Figure 14 :Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Spiracoside ».

Le pic chromatographique (au temps de rétention 10,703 min) correspondant à celui de la Myricétine est illustré au niveau de la figure 15.

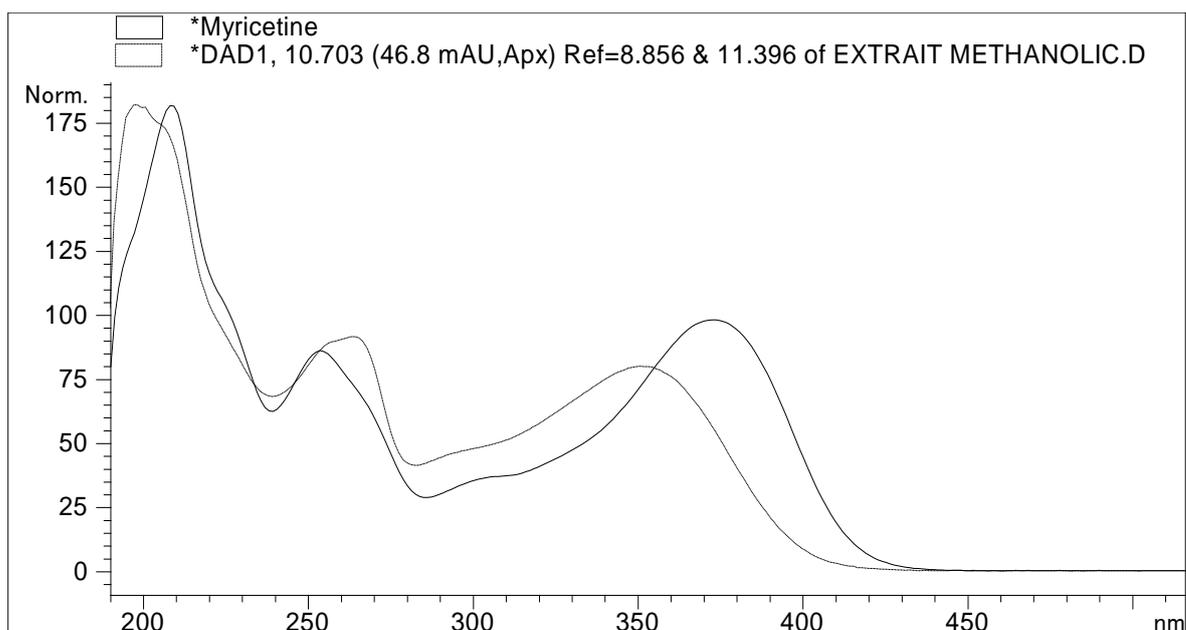


Figure 15 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui de l'étalon « Myricétine ».

Le pic chromatographique (au temps de rétention 12,810 min) correspondant à celui de la Quercétine et de la Lutéoline est illustré au niveau de la figure 16.

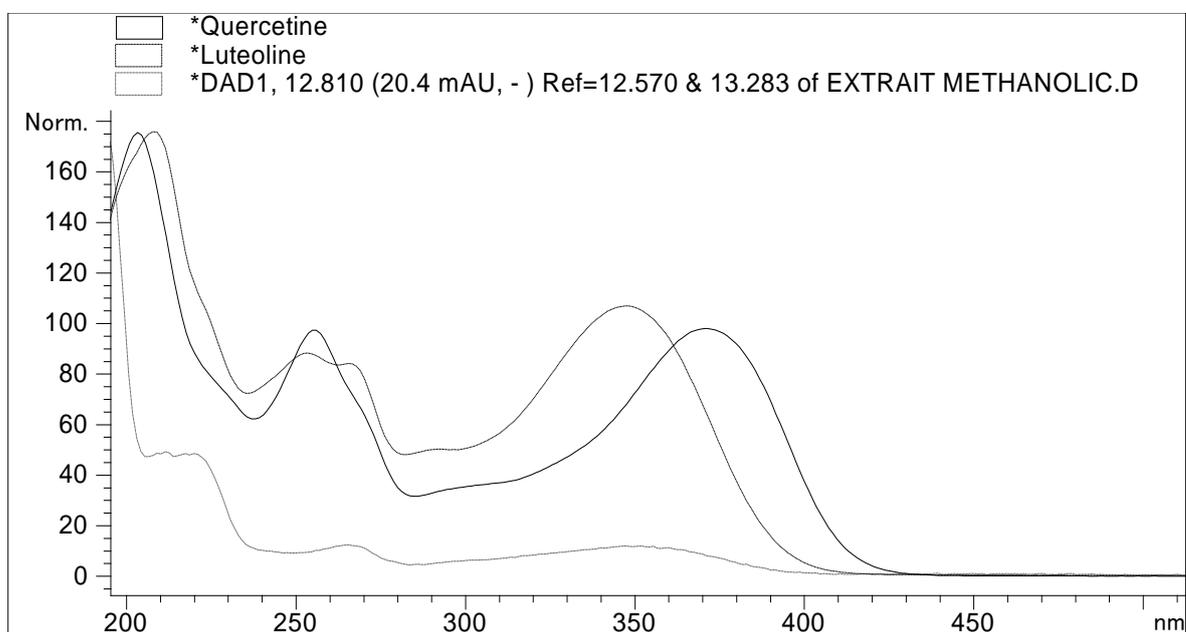


Figure 16 : Superposition du pic chromatographique du MEMOL avec celui des étalons « Quercétine » et « Lutéoline ».

1.14 Evaluation du bilan lipidique

1.14.1 Evaluation du taux de Cholestérol total sanguin

La distribution des valeurs de cholestérolémie chez les différents lots de souris est représentée par des boîtes à moustache (Boxplot) dans la figure 17

Groupe 1 : A servi de témoin normal ;

Groupe 2 : a été supplémenté en MEMOL (800 mg/kg de poids corporel p.o) ;

Groupe 3 : souris hypercholestérolémiques;

Groupe 4 : souris hypercholesterolémiques et qui ont reçu comme traitement du MEMOL (800 mg/kg de poids corporel p.o) ;

Groupe 5 : Souris hypercholestérolémiques et qui ont reçu comme traitement le médicament de référence Atorvastatine, à une dose de 10 mg/kg de poids corporel.

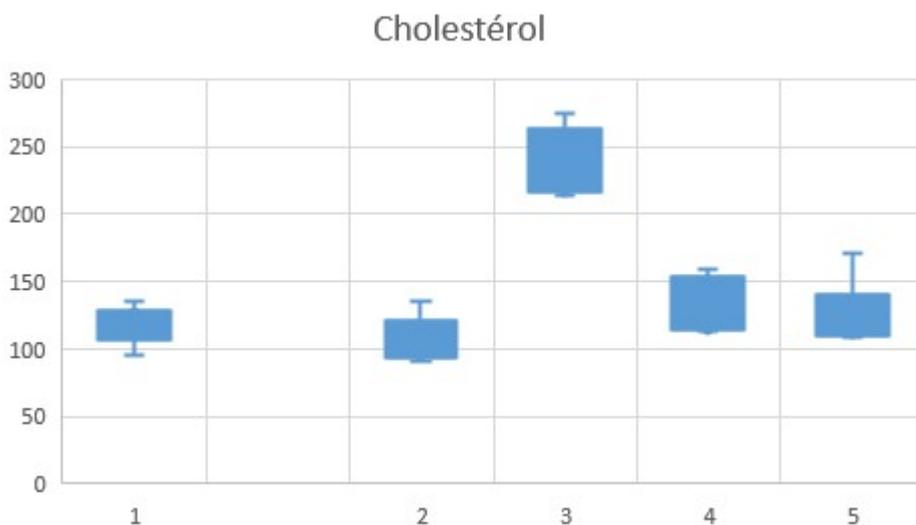


Figure 17 :Boxplot de la distribution des valeurs de la cholestérolémie chez les différents lots de souris.

1.14.2 Evaluation du taux de Chol-HDL sanguin

La distribution des valeurs de Chol-HDL sérique des différents lots de souris a été représentée par des boxplot au niveau de la figure 18.

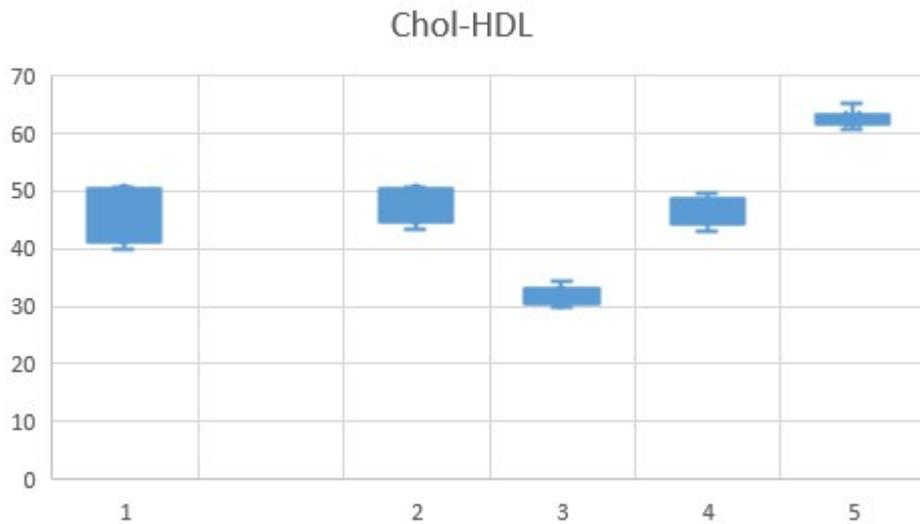


Figure 18: Boxplot de la distribution des taux de Chol-HDL sériques chez les différents lots de souris.

1.14.3 Evaluation du taux de Chol-LDL sanguin

Les taux sériques du Chol-LDL des différents lots de souris a été représentée par des boxplot au niveau de la figure 19

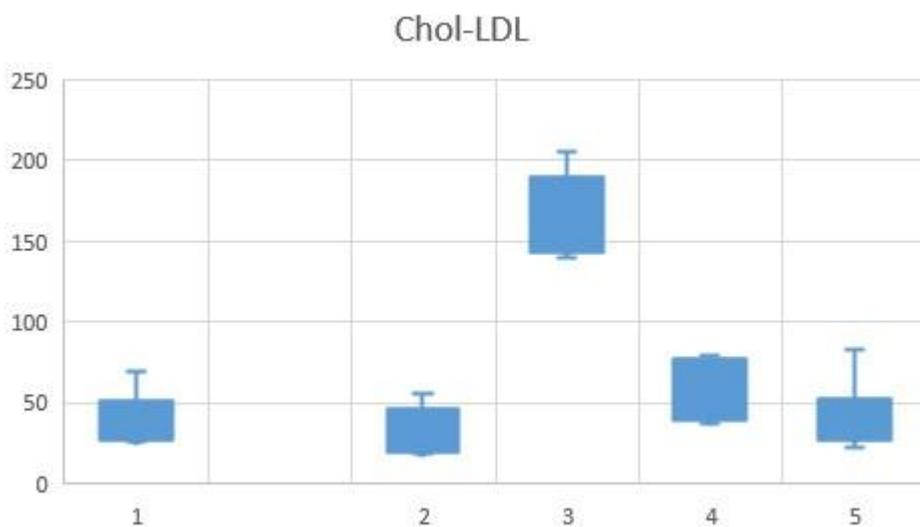


Figure 19 :Boxplot de la distribution des taux sériques du Chol-LDL chez les différents lots de souris.

1.14.4 Evaluation du taux de Chol-VLDL sanguin

La distribution des taux sériques du Chol-VLDL a été représentée par des boxplot au niveau de la figure 20

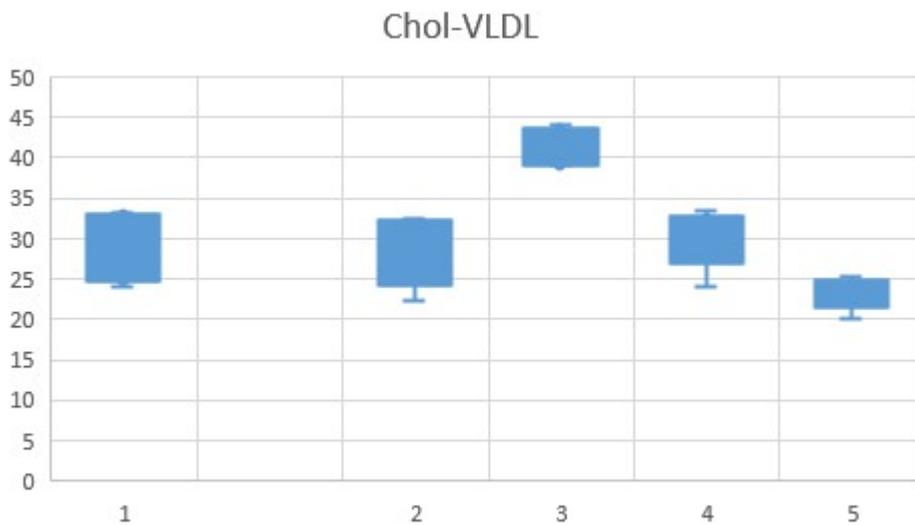


Figure 20 :Boxplot de la distribution des taux de VLDL sérique chez les différents lots de souris.

1.14.5 Evaluation de la Triglycéridémie

La distribution des taux de triglycéridémie chez les différents lots de souris a été représentée par des boxplot au niveau de la figure 21.

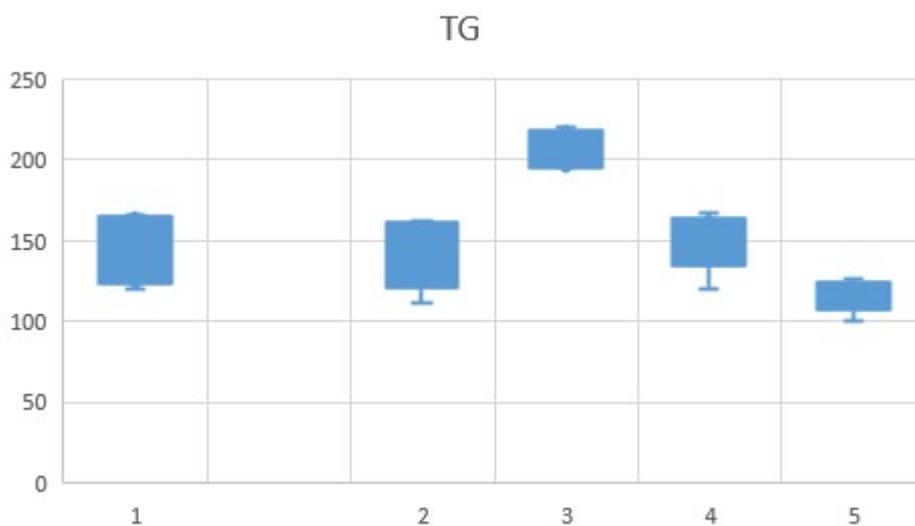


Figure 21 : Distribution de la Triglycéridémie chez les différents lots de souris.

1.14.6 Evaluation de l'indice d'athérogénéité

La distribution de l'indice d'athérogénéité chez les différents lots de souris a été représentée par des boxplots au niveau de la figure 22.

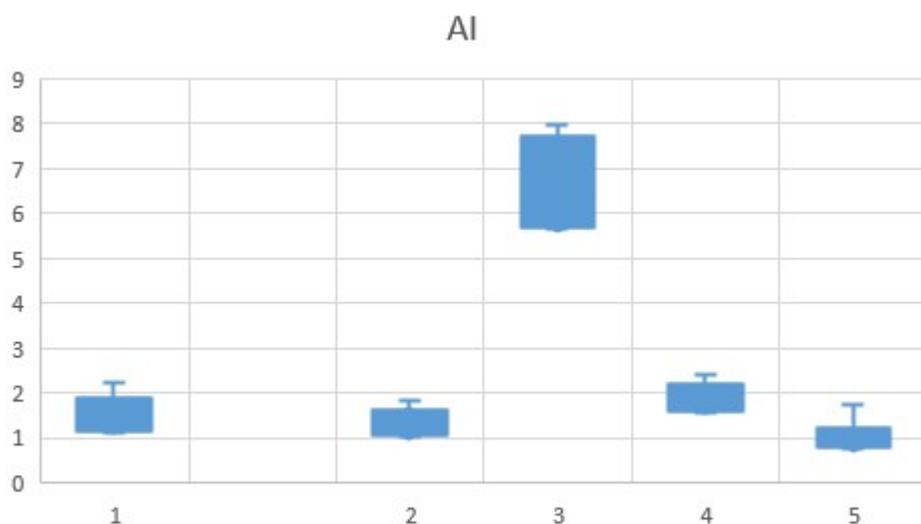


Figure 22 :Boxplots de la distribution de l'indice d'athérogénéité chez les différents lots de souris.

1.15 Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur le profil lipidique

L'effet de MEMOL sur les profils lipidiques sériques est présenté dans le tableau 5. Le groupe de souris traitées avec MEMOL a montré une réduction des taux de cholestérol total (136,5 mg/dl) et de Chol-LDL (60,65 mg/dl) par rapport au groupe hypercholestérolémique (242,13 et 168,9 mg/ dl pour TC et Chol-LDL, respectivement). Les taux de Chol-HDL des souris traitées avec le MEMOL et ceux traitées avec l'atorvastatine était similaires et supérieurs à celui des souris des autres groupes. Une augmentation significative du taux de Chol-HDL a été observée chez les souris traitées avec MEMOL (tableau 6). L'indice athérogène (AI) a été évaluée et s'est avérée significativement ($P < 0,05$) réduit chez les souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL par rapport aux souris hypercholestérolémiques.

Tableau 6 : Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur le profil lipidique.

	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	C-HDL (mg/dl)	C-LDL (mg/dl)	C-VLDL (mg/dl)	AI
G1	115,5 ± 13,64	143,3 ± 21,06	45,9 ± 4,47	40,95 ± 16,1	28,6 ± 4,21	1,54 ± 0,41
G2	108,64 ± 15,9	142,7 ± 21,03	47,01 ± 3,02	33,08 ± 14,4	28,54 ± 4,2	1,31 ± 0,31
G3	242,13 ± 24,8**	208,83 ± 10,7**	31,6 ± 1,67**	168,9 ± 26**	41,62 ± 2,14**	6,7 ± 1,07
G4	136,5 ± 19,5	148 ± 17	46,28 ± 2,3	60,65 ± 18,7*	29,6 ± 3,4*	1,94 ± 0,32*
G5	128,1 ± 22,34	115,14 ± 9,79	62,1 ± 1,47	42,75 ± 21,39	23,02 ± 1,95	1,05 ± 0,35

G1 (Group 1): Souris normales ; G2 (Group 2): Souris normales ayant reçu l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* MEMOL; G3 (Group 3) : Souris hypercholestérolémiques; G4 (Group 4) : Souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL; G5 (Group 5) : Souris hypercholestérolémiques traitées avec Atorvastatine. TC: Total Cholestérol; TG: Triglycérides; C-HDL: High Density Lipoprotein; C-LDL: Low Density Lipoprotein; C-VLDL: Very Low Density Lipoprotein; AI: Atherogenic Index. * p < 0.05 : Différence significative comparée au groupe de souris hypercholestérolémiques G3; ** p < 0.05 : Différence significative comparée au groupe de souris normales G1.

1.16 Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur l'histologie du foie

L'histologie des cellules hépatiques a montré une nécrose hépatocellulaire légère et une accentuation des sinusoides avec des cordons fins après l'induction de l'hyperlipidémie par rapport au contrôle normal qui a montré une architecture normale du parenchyme hépatique. Cependant, le traitement par MEMOL (800 mg/kg, po) et atorvastatine (10 mg/kg, po) a atténué les symptômes nécrotiques provoqués par l'induction de l'hyperlipidémie et les hépatocytes ont retrouvé leur morphologie normale.

La photomicrographie du tissu hépatique du 1^{er} lot de souris témoins est illustrée au niveau de la figure 23.

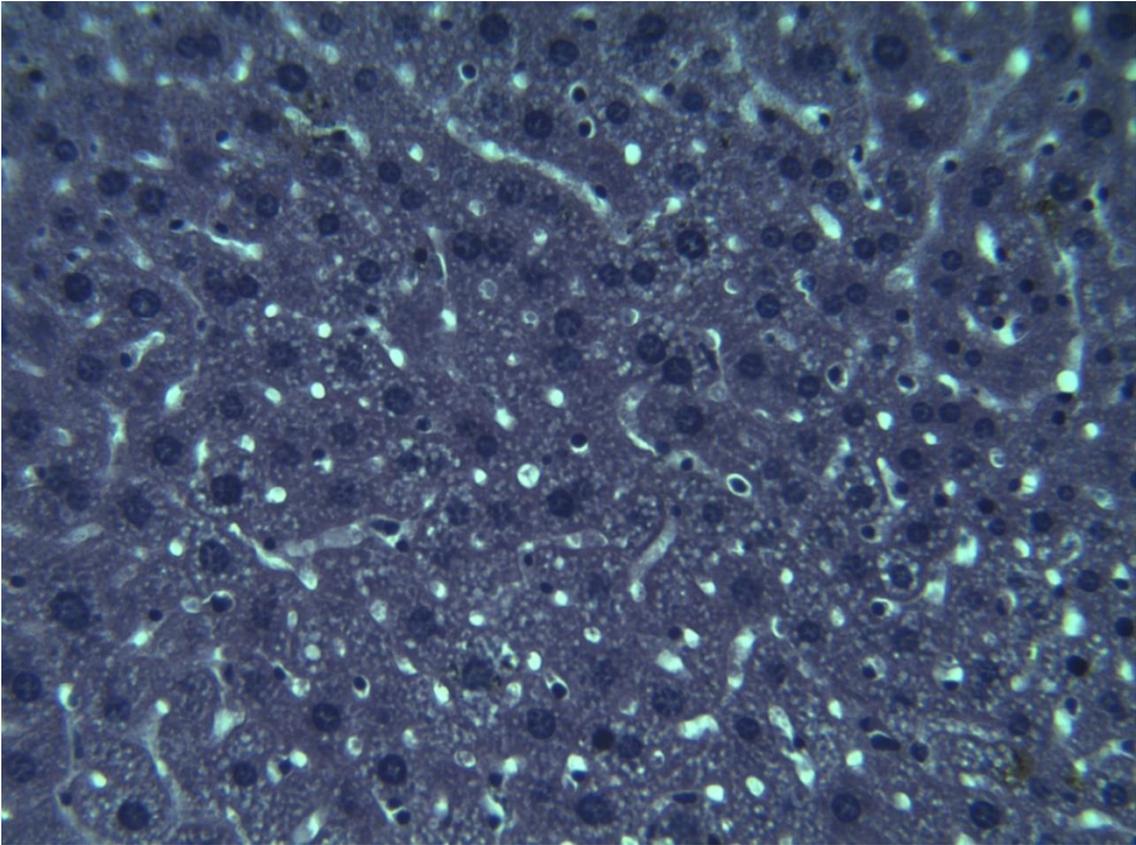


Figure 23 : Photomicrographie du tissu hépatique du 1^{er} lot de souris témoins, grossissement x 400.

La photomicrographie du tissu hépatique du 2^{ème} lot de souris normales, gavées avec l'extrait méthanolique du *Moringa* est illustrée au niveau de la figure 24.

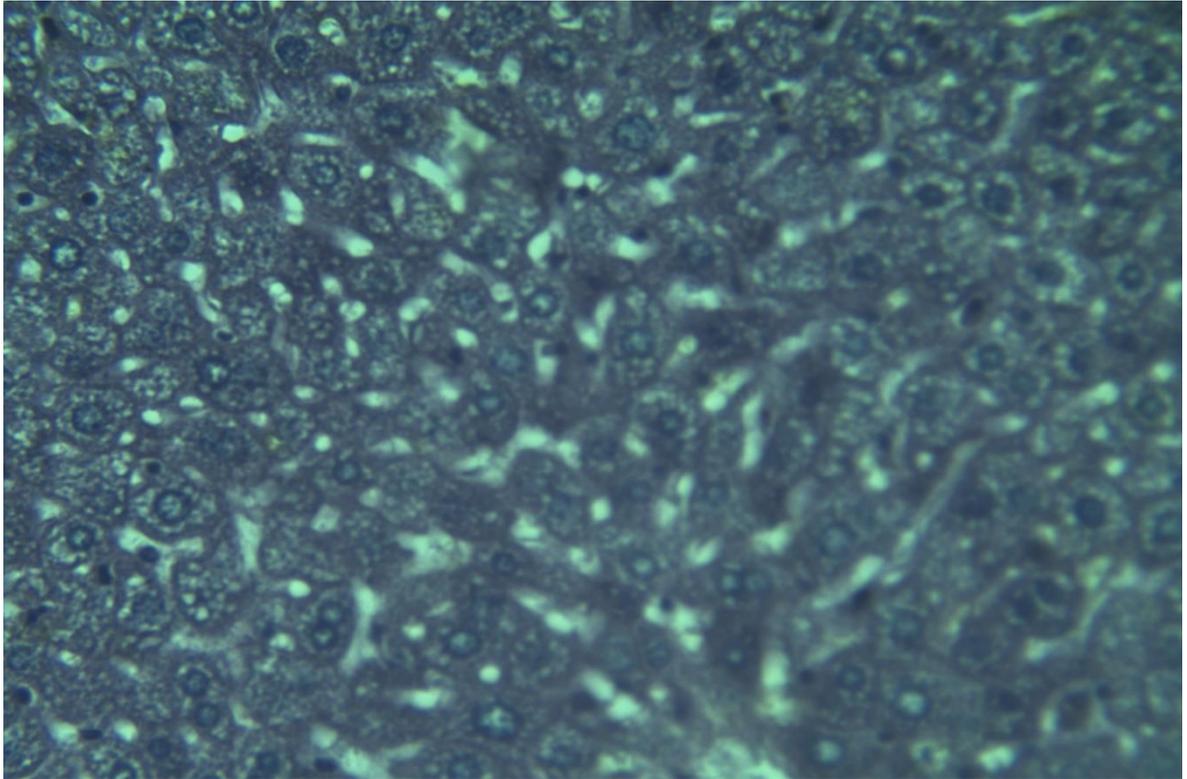


Figure 24 :Photomicrographie du tissu hépatique du 2ème lot de souris, grossissement x 400.

La photomicrographie du tissu hépatique du 3^{ème} lot de souris malades (rendues hypercholestérolémiques) est illustrée au niveau de la figure 25.

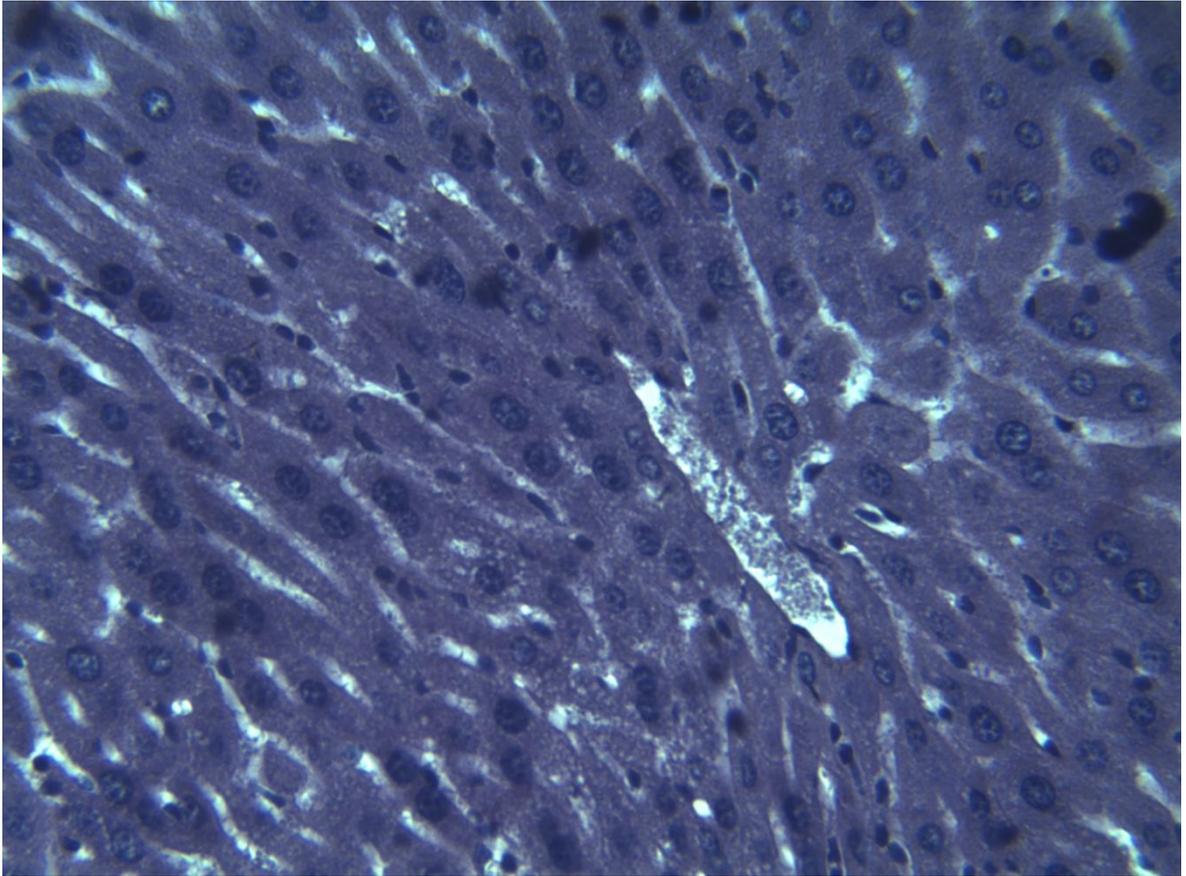


Figure 25 :Photomicrographie du tissu hépatique du 3ème lot de souris, grossissement x 400.

La photomicrographie du tissu hépatique du 4^{ème} lot de souris, hypercholestérolémiques et traitées avec l'extrait méthanolique de *Moringa* est illustrée au niveau de la figure 26.

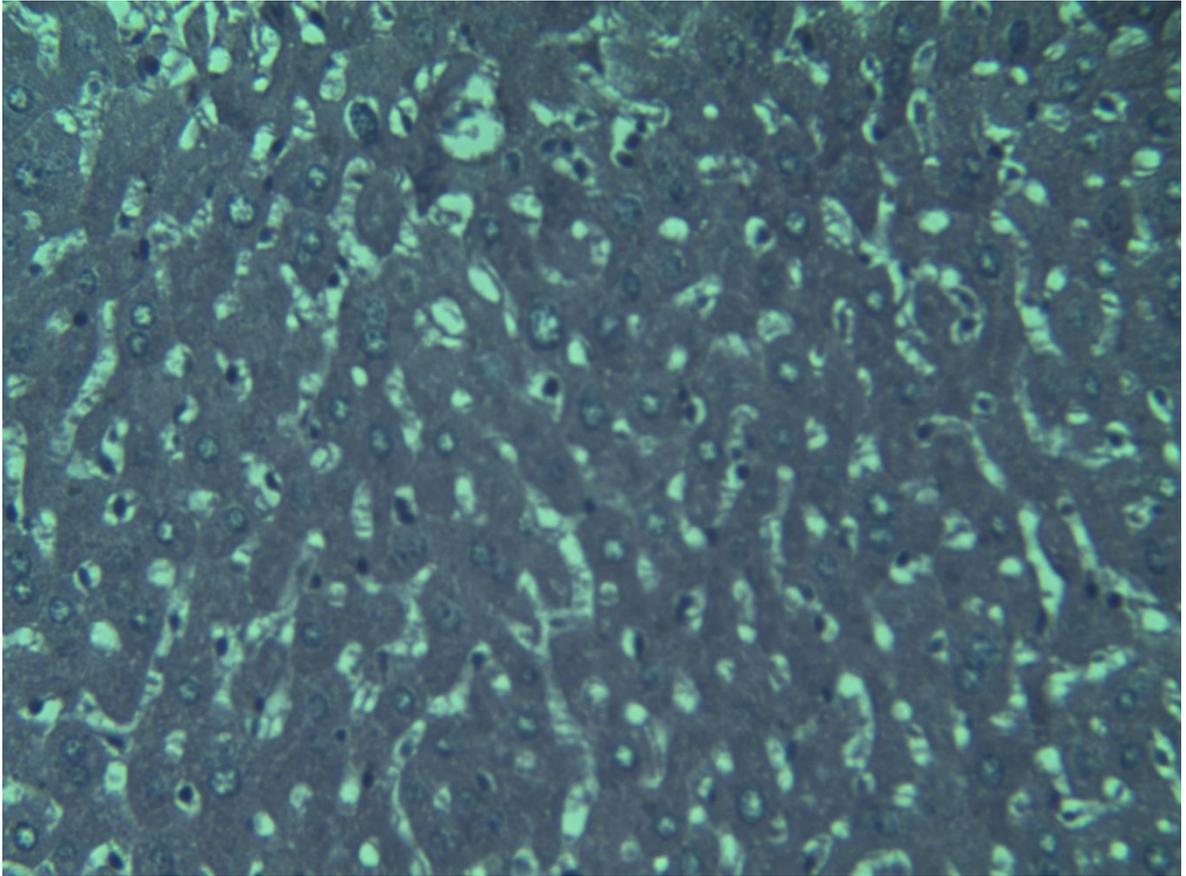


Figure 26 :Photomicrographie du tissu hépatique du 4ème lot de souris, grossissement x 400.

La photomicrographie du tissu hépatique du 5^{ème} lot de souris, rendues hypercholestérolémiques puis traitées avec le médicament de référence Atorvastatine est illustrée au niveau de la figure 27.

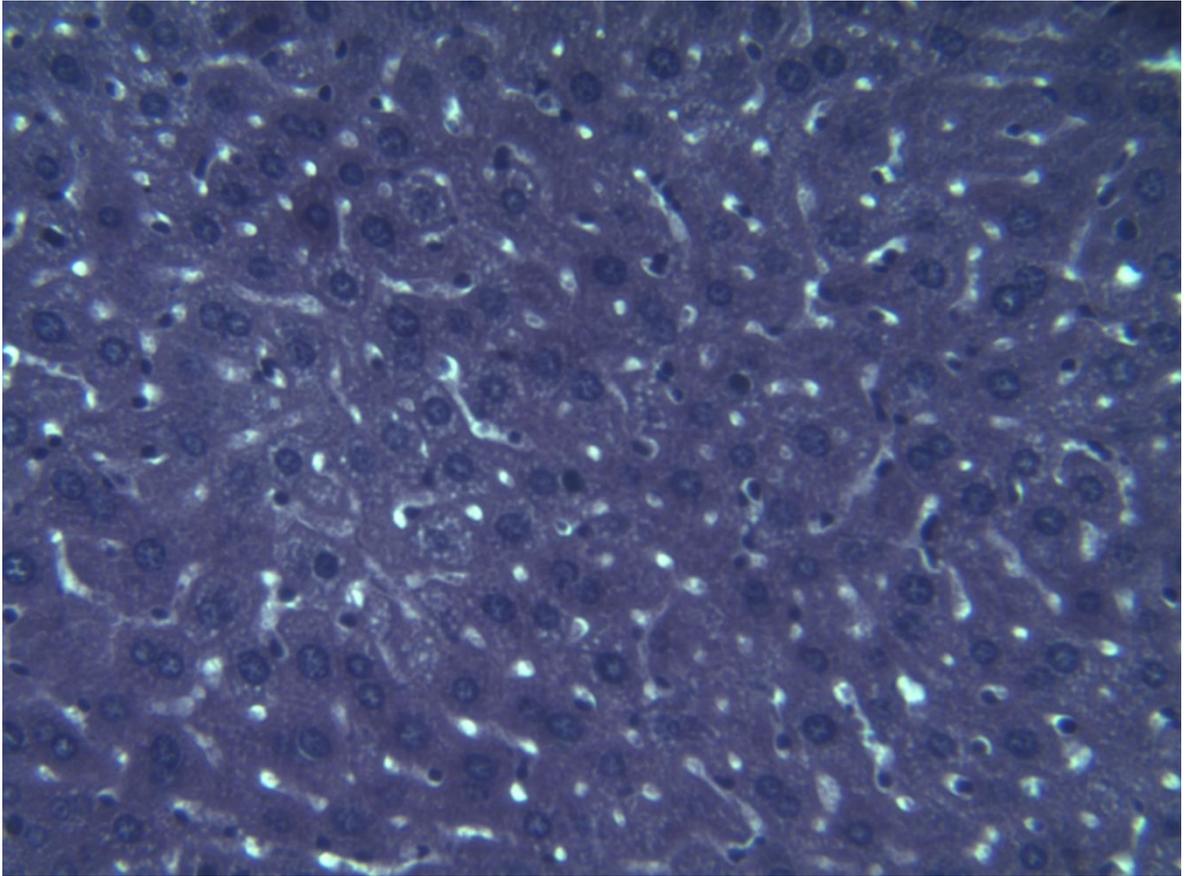


Figure 27 : Photomicrographie du tissu hépatique du 5ème lot de souris, grossissement x 400.

III- DISCUSSION

CHAPITRE 3 : DISCUSSION

1.17 Screening phytochimique de l'extrait de poudre de feuilles de *Moringa*

Le screening phytochimique de l'extrait de poudre de feuilles de *Moringa oleifera* a permis la mise en évidence de quelques métabolites secondaires comme les polyphénols, les flavonoides, les tanins et les alcaloides. Ce qui est en parfait accord avec les résultats obtenus par des études antérieures [89-93].

La quantité des composés phénoliques des extraits de la plante étudiée dépend essentiellement de leur origine [94].

La variété ;la saison de culture ;la saison de récolte ;les conditions climatiques et environnementales ; la localisation géographique ; les différentes maladies qui peuvent affecter la plante et la durée de conservation [95].

1.18 Analyse qualitative de l'extrait méthanolique de *Moringa*

Après avoir réalisé une extraction méthanolique, nous avons pu avoir un rendement égal à 12.5 %, ce pourcentage est légèrement inférieur à celui obtenu avec une extraction éthanolique par décoction de feuilles de *M.oleifera* en poudre récoltées dans la région de Dakar au Sénégal 14.14%[96].

D'autres auteurs affirment que la macération de feuilles séchées de *M.oleifera* dans l'éthanol à 70% donne le taux le plus élevé (40,50%) avec les teneurs totales en composés phénoliques et flavonoïdes les plus élevées [97].

Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs qui influencent sur le rendement de l'extraction, comme par exemple la méthode d'extraction utilisée, la nature du solvant, le rapport entre le volume du solvant et la masse de matière broyée, le temps de macération, la vitesse d'agitation, la taille des broyats, le temps nécessaire au séchage et le milieu de culture ou l'origine de l'échantillon [98].

Notre présente étude a rapporté la présence des métabolites secondaires suivants :

- Acide gallique,
- Acide tannique,
- Hydroxy-quinone,
- Resorcinol,
- Rutine,

- Lutéoline-7-glycoside,
- Quercetine-3-B-D-Glycoside,
- Apigenine-7-Glycoside,
- Spiracoside,
- Myricetine,
- Quercetine,
- Lutéoline.

Ceci est en accord avec une étude menée sur la composition des feuilles de *M. oleifera* en polyphénols, détectés par HPLC (Hitachi, Tokyo, Japon) où ils ont constaté que la Quercétine-3-glycoside se trouvait à la concentration la plus élevée (1494,2 µmol/100 g de poids sec), puis la rutine (1446,6 µmol/100 g de poids sec) [99].

Dans une autre étude, une analyse qualitative d'extrait de feuilles de *M.oleifera* par HPLC a révélé la présence de [100] :

- Kaempférol
- Quercétine
- Rutine
- Acide galique
- Acide chlorogénique
- Acide ellagique
- Acide férulique

Les plantes médicinales de toutes sortes contiennent des composés naturels efficaces qui diffèrent en termes de composition, et les composés phénoliques sont considérés comme des composés antioxydants naturels. Notamment, *Moringa oleifera* Lam., qui est connue récemment pour ses propriétés cicatrisantes et nutritionnelles et qui est de plus en plus étudiée pour ses propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes [101].

1.19 Evaluation de l'effet du MEMOL sur le profil lipidique

L'objectif principal de notre présente étude est d'étudier l'effet de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de *M. oleifera* sur l'hypercholestérolémie aigue, induite chez des souris.

L'hypercholestérolémie est l'un des facteurs de risque les plus importants pour le développement des maladies cardiovasculaires et de l'athérosclérose, qui se caractérise par l'accumulation croissante de lipides, principalement du cholestérol, dans l'intima des grosses artères [101].

Il a été démontré que la réduction de la concentration du cholestérol dans le sérum diminue le risque d'athérosclérose chez l'homme [102].

Dans plusieurs modèles animaux, les aliments riches en cholestérol ont souvent été utilisés pour induire une hypercholestérolémie, et pour corréler les changements métaboliques [103].

D'un autre côté, le Triton X-100 a été utilisé pour induire l'hypercholestérolémie aiguë en bloquant l'élimination des triglycérides et du cholestérol dans divers modèles animaux [84].

Dans la présente étude, nous avons pu induire une hypercholestérolémie aiguë avec succès avec une injection intra-péritonéale de Triton X-100 (100 mg/kg) chez les souris de la souche NMRI: car l'injection du Triton a provoqué une augmentation significative ($P \leq 0,05$) équivalente à 52 % de la cholestérolémie chez le groupe de souris traitées avec le Triton par rapport au groupe normo-cholestérolémique. De même, une augmentation significative équivalente à 31 % de Triglycérides a été observée chez les souris traitées avec le Triton par rapport aux souris normales.

Le profil lipidique sérique a été déterminé en estimant les taux de Chol-LDL, de Chol-VLDL, des triglycérides et de Chol-HDL. Les LDL sont les principales lipoprotéines transportant le cholestérol et sont considérées comme des lipoprotéines athérogènes [105].

D'autre part, les HDL ont un rôle défenseur dans les maladies cardiovasculaires, en particulier les maladies coronariennes. En effet, elles sont impliquées dans la captation du cholestérol des tissus périphériques et son transport inverse vers le foie [106].

L'effet de l'administration de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur les profils lipidiques sériques était le principal objectif de notre étude. Il en découle que le groupe de souris traitées avec MEMOL a montré une réduction des taux de

cholestérol total, de Triglycérides et de Chol-LDL par rapport au groupe hypercholestérolémique. Les taux de Chol-HDL des souris traitées avec le MEMOL et ceux traitées avec l'Atorvastatine étaient similaires et supérieurs à ceux des souris des autres groupes. Cependant, une augmentation significative du taux de Chol-HDL a été observée chez les souris traitées avec MEMOL par rapport à celles qui ne sont pas traitées.

Dans la présente étude, l'indice d'athérogénicité (IA) a été évalué et s'est avéré significativement réduit ($P < 0,05$) chez les souris hyper-cholestérolémiques traitées avec MEMOL, comparées aux souris hyper-cholestérolémiques non traitées. Cet indice IA est considéré comme un facteur de risque important pour le diagnostic de l'athérosclérose. Ces résultats indiquent que *Moringa oleifera* a un effet anti-hyper-cholestérolémiant. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature sur l'induction de l'hyperlipidémie chez des rats femelles par l'administration de régimes à base d'huile de palme [107].

Au vu de ces résultats, on peut affirmer sans risque que l'extrait méthanolique (800 mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg) sont tout aussi efficaces dans la prise en charge de l'hyperlipidémie. L'effet protecteur du MEMOL est probablement dû à son activité antioxydante, qui réduit les dommages oxydatifs en bloquant la production de radicaux libres et en inhibant ainsi la peroxydation lipidique.

En effet, comme cité plus haut, le screening phytochimique préliminaire a révélé la présence de flavonoïdes, de saponines et de polyphénols dans le MEMOL. Des études antérieures montrent que les saponines végétales sont connues pour leur activité hypo-lipidémiant [108].

Les flavonoïdes et les autres polyphénols ont également été suggérés pour leurs effets hypo-cholestérolémiants et hypo-lipidémiants [109,110].

Ces résultats ont recommandé que *M. oleifera* puisse être une source potentielle pour la prévention et la gestion de l'hyper-cholestérolémie et de ses complications, avec moins d'effets secondaires et une bonne tolérance. Ces données peuvent être utiles à l'avenir pour le traitement de l'hypercholestérolémie chez les patients.

Les statines sont le traitement de 1ère intention de l'hyper-cholestérolémie en raison de leur puissant effet hypo-cholestérolémiant. Cependant, elles ne sont pas

dénuées d'effets secondaires avec en particulier la survenue de troubles digestifs, une hyper-uricémie, des diarrhées, des nausées, une myosite, une irritation gastrique, des bouffées vasomotrices, une peau sèche et une fonction hépatique anormale [111].

D'autres études ont permis de conclure que l'engorgement en cholestérol des cellules β pancréatiques associé à des niveaux très élevés d'abondance du LDLR à la membrane suite à l'utilisation des statines et d'inhibiteurs de PCSK9 induit un dysfonctionnement cellulaire, une altération de la sécrétion d'insuline et à terme le diabète de type 2 [112].

Actuellement de nombreuses études font état d'une possible activité de certaines plantes (sauge officinale, Gingembre, ail, citrouille etc.) dans la diminution du cholestérol sanguin. Les principes chimiques issus de sources naturelles sont devenus beaucoup plus simples et ont contribué de manière significative au développement de nouveaux médicaments à base de plantes médicinales. Il serait plus judicieux de valoriser les plantes médicinales pour promouvoir la phytothérapie comme alternative ou comme compléments au traitement médicamenteux. Les plantes sont réputées pour présenter moins d'effets indésirables et de contre-indications que les thérapeutiques médicamenteuses, Ceci permettra de retarder le recours au traitement médicamenteux ou utilisées en association avec les médicaments, elles permettraient de diminuer leurs posologies et donc leurs effets secondaires [111].

Parmi ces plantes médicinales étudiées pour leur fort pouvoir hypocholestérolémiant, *M. oleifera* a fait ses preuves. Une étude similaire à la nôtre, menée sur des rats albinos Wistar qui ont reçu du cholestérol (400 mg/kg de poids corporel dans 5 ml d'huile de coco *per os*) et ont été testés par voie orale à des doses de 150, 300 et 600 mg/kg de poids corporel. L'extrait (300 mg/kg et 600 mg/kg) a montré une réduction significative des taux sériques totaux de cholestérol et de lipides par rapport au groupe témoin. L'étude a prouvé que les extraits éthanoliques d'écorce de tige de *M. oleifera* présentent une activité anti-cholestérolémiante et anti-lipidémique significative [113].

La principale cause de l'hyperlipidémie comprend les changements dans les habitudes de vie dans lesquels le facteur de risque est principalement une

mauvaise alimentation, c'est-à-dire avec un apport en graisses supérieur à 40 % des calories totales, un apport en graisses saturées supérieur à 10 % des calories totales ; et un apport en cholestérol supérieur à 300 milligrammes par jour ou des problèmes médicaux traitables. Les taux de cholestérol anormaux sont le résultat d'un mode de vie malsain, notamment d'un régime riche en graisses et d'autres facteurs liés au mode de vie, tels que le surpoids, le tabagisme excessif, la consommation excessive d'alcool et le manque d'exercice. D'autres facteurs incluent le diabète, les maladies rénales, la grossesse et l'hypothyroïdie.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Le cholestérol est un lipide indispensable à notre organisme, il joue un rôle dans la composition des membranes cellulaires et est également précurseur de nombreuses molécules.

L'hypercholestérolémie est un trouble du métabolisme lipidique aux différentes origines étiologiques. Des liens bien établis existent entre l'hypercholestérolémie et la survenue de maladies cardiovasculaires.

Le traitement d'une hypercholestérolémie repose avant tout sur des mesures hygiéno-diététiques, celles-ci doivent être appliquées pendant au moins trois mois. En cas d'efficacité insuffisante, un traitement médicamenteux peut être instauré, en complément de ces mesures. Plusieurs traitements médicamenteux existent, les plus couramment utilisés sont les statines et les fibrates. Ces traitements sont parfois mal tolérés et souvent critiqués. Des alternatives naturelles sont souvent utilisées, principalement les plantes médicinales.

La médecine traditionnelle indienne dite « Ayurvéda » emploie un nombre considérable de plantes médicinales à des fins thérapeutiques. Parmi, ces plantes médicinales, *Moringa oleifera* Lam, une espèce de la famille des Moringacées est utilisée comme traitement naturel contre l'hyperlipidémie et l'hypercholestérolémie.

Dans cette perspective, les résultats de notre présente étude révèlent que l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* Lam, à une dose de 800mg/kg de poids corporel, a un effet hypocholestérolémiant sur les souris rendues hypercholestérolémiques en diminuant les taux sériques de cholestérol total et de triglycérides. Ainsi, cet extrait corrige efficacement l'hypercholestérolémie aiguë expérimentale chez la souris, suggérant un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires. Ceci serait principalement dû au fait que cet extrait soit riche en métabolites secondaires. Cette même étude a révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines, de tanins et de phénols lors de la réalisation d'un screening phytochimique. Par la même occasion, une analyse qualitative du MEMOL a révélé la présence des polyphénols suivants : Acide tannique ; acide gallique ; Hydroxy-quinone ; Resorcinol ; Rutine ; Lutéoline-7-glycoside ; Quercétine-3-B-D-Glycoside ; Apigénine-7-Glycoside ; Spiracosite ; Myricétine ; Quercétine et la Lutéoline.

Son utilisation comme alternative aux médicaments par les personnes à risque doit être vivement encouragée et ainsi pour promouvoir le secteur de la phytothérapie.

Cependant, il serait judicieux de se pencher vers les plantes médicinales locales pour valoriser notre patrimoine végétal, notamment à travers la réalisation d'un inventaire exhaustif de toutes les espèces utilisées pour des fins médicinales traditionnellement par nos ancêtres. Par la suite, on devrait songer à la domestication des plantes sauvages pour préserver cette richesse végétale et assurer sa durabilité. Ceci mettra les plantes du terroir sous les feux des projecteurs du secteur de la recherche et du développement et contribuera à améliorer les connaissances concernant la médecine traditionnelle algérienne et à les confirmer à travers des études et des investigations scientifiques bien établies.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Poli, A., Marangoni, F., Corsini, A., Manzato, E., Marrocco, W., Martini, D., ... & Visioli, F. (2021).** Phytosterols, cholesterol control, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 13(8), 2810.
- [2] **Van der Wulp, M. Y., Verkade, H. J., & Groen, A. K. (2013).** Regulation of cholesterol homeostasis. *Molecular and cellular endocrinology*, 368(1-2), 1-16.
- [3] **García, J. L., Uhía, I., & Galán, B. (2012).** Catabolism and biotechnological applications of cholesterol degrading bacteria. *Microbial biotechnology*, 5(6), 679-699.
- [4] **Yahia-Berrouiguet, A., Benyoucef, M., Meguenni, K., & Brouri, M. (2011).** Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen (Algérie). *Médecine des maladies Métaboliques*, 5(4), 42-48.
- [5] **Kratz, M. (2005).** Dietary cholesterol, atherosclerosis and coronary heart disease. *Atherosclerosis: diet and drugs*, 195-213.
- [6] OMS
- [7] **Lambert, G., Chetiveaux, M., Sénard, G., Druil, D., & Krempf, M. (2004).** Du nouveau dans l'absorption intestinale du cholestérol: NPC1-L1.
- [8] **Lecerf, J. M., & de Lorgeril, M. (2008).** Cholestérol alimentaire: de la physiologie au risque vasculaire. *Sciences des aliments*, 28(1), 68.
- [9] **Ikonen, E. (2008).** Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(2), 125-138.
- [10] **Bodo, B. (2015).** La saga du cholestérol. *L'actualité chimique*, (399).
- [11] **Bukiya, A. N., & Dopico, A. M. (2017).** Common structural features of cholesterol binding sites in crystallized soluble proteins. *Journal of lipid research*, 58(6), 1044-1054.
- [12] **Maxfield, F. R., & Tabas, I. (2005).** Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature*, 438(7068), 612-621.
- [13] **Moon, J. Y., Choi, M. H., & Kim, J. (2016).** Metabolic profiling of cholesterol and sex steroid hormones to monitor urological diseases. *Endocrine-related cancer*, 23(10), R455–R467.
- [14] **Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1980).** Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating

isoprenoid synthesis and cell growth. *Journal of lipid research*, 21(5), 505-517.

- [15] **Cerqueira, N. M., Oliveira, E. F., Gesto, D. S., Santos-Martins, D., Moreira, C., Moorthy, H. N., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2016).** Cholesterol Biosynthesis: A Mechanistic Overview. *Biochemistry*, 55(39), 5483–5506.
- [16] **Mok, H. Y., von Bergmann, K., & Grundy, S. M. (1979).** Effects of continuous and intermittent feeding on biliary lipid outputs in man: application for measurements of intestinal absorption of cholesterol and bile acids. *Journal of lipid research*, 20(3), 389–398.
- [17] **Spady, D. K., & Dietschy, J. M. (1983).** Sterol synthesis in vivo in 18 tissues of the squirrel monkey, guinea pig, rabbit, hamster, and rat. *Journal of lipid research*, 24(3), 303–315.
- [18] **Stellaard, F., & Lütjohann, D. (2017).** The Interpretation of Cholesterol Balance Derived Synthesis Data and Surrogate Noncholesterol Plasma Markers for Cholesterol Synthesis under Lipid Lowering Therapies. *Cholesterol*, 2017, 5046294.
- [19] **Bloch, K. (1965).** The biological synthesis of cholesterol. *Science*, 150(3692), 19-28.
- [20] *Dietschy, J. M., & Siperstein, M. D. (1967).* Effect of cholesterol feeding and fasting on sterol synthesis in seventeen tissues of the rat. *Journal of lipid research*, 8(2), 97–104.
- [21] **Croft, D. N., & Cotton, P. B. (1973).** Gastro-intestinal cell loss in man. Its measurement and significance. *Digestion*, 8(2), 144–160.
- [22] **Grundy, S. M. (1983).** Absorption and metabolism of dietary cholesterol. *Annual review of nutrition*, 3(1), 71-96.
- [23] **Wang D. Q. (2007).** Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annual review of physiology*, 69, 221–248.
- [24] **Altmann, S. W., Davis, H. R., Jr, Zhu, L. J., Yao, X., Hoos, L. M., Tetzloff, G., Iyer, S. P., Maguire, M., Golovko, A., Zeng, M., Wang, L., Murgolo, N., & Graziano, M. P. (2004).** Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science (New York, N.Y.)*, 303(5661), 1201–1204.

- [25] **Sudhop, T., Lütjohann, D., Kodal, A., Igel, M., Tribble, D. L., Shah, S., Perevozskaya, I., & von Bergmann, K. (2002).**Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation*, 106(15), 1943–1948.
- [26] **Mardones, P., Quiñones, V., Amigo, L., Moreno, M., Miquel, J. F., Schwarz, M., Miettinen, H. E., Trigatti, B., Krieger, M., VanPatten, S., Cohen, D. E., & Rigotti, A. (2001).** Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice. *Journal of lipid research*, 42(2), 170–180.
- [27] **Bietrix, F., Yan, D., Nauze, M., Rolland, C., Bertrand-Michel, J., Coméra, C., Schaak, S., Barbaras, R., Groen, A. K., Perret, B., Tercé, F., & Collet, X. (2006).**Accelerated lipid absorption in mice overexpressing intestinal SR-BI. *The Journal of biological chemistry*, 281(11), 7214– 7219.
- [28] **Berge, K. E., Tian, H., Graf, G. A., Yu, L., Grishin, N. V., Schultz, J., Kwiterovich, P., Shan, B., Barnes, R., & Hobbs, H. H. (2000).** Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science (New York, N.Y.)*, 290(5497), 1771–1775.
- [29] **Woollett, L. A., Buckley, D. D., Yao, L., Jones, P. J., Granholm, N. A., Tolley, E. A., Tso, P., & Heubi, J. E. (2004).**Cholic acid supplementation enhances cholesterol absorption in humans. *Gastroenterology*, 126(3), 724–731.
- [30] **Ros E. (2000).** Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis*, 151(2), 357–379.
- [31] **Levy, E., Spahis, S., Sinnett, D., Peretti, N., Maupas-Schwalm, F., Delvin, E., Lambert, M., & Lavoie, M. A. (2007).** Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Current opinion in lipidology*, 18(3), 310–318.
- [32] **Kern F., Jr (1991).** Normal plasma cholesterol in an 88-year-old man who eats 25 eggs a day. Mechanisms of adaptation. *The New England journal of medicine*, 324(13), 896–899.
- [33] **Feingold KR. (2021).** Introduction to Lipids and Lipoproteins. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K,

Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Singer F, Stratakis CA, Trence DL, Wilson DP, editors. Endotext [Internet]. *South Dartmouth* (MA): MDText.com, Inc.; 2000–. PMID: 26247089.

- [34] **Castro Cabezas, M., Botham, K. M., Mamo, J. C., & Proctor, S. D. (2012).** Novel Aspects of Nonfasting Lipemia in relation to Vascular Biology. *International journal of vascular medicine*, 2012, 419015
- [35] **Havel R.J. (1975)** Lipoproteins and Lipid Transport. In: Kritchevsky D., Paoletti R., Holmes W.L. (eds) *Lipids, Lipoproteins, and Drugs. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 63. Springer, Boston, MA.
- [36] **Marinetti, G. V. (1990).** Dietary management of elevated blood lipids. In *Disorders of Lipid Metabolism* (pp. 135-168). Springer, Boston, MA.
- [37] **Choy, P. C., Siow, Y. L., Mymin, D., & O, K. (2004).** Lipids and atherosclerosis. *Biochemistry and cell biology Biochimie et biologie cellulaire*, 82(1), 212–224.
- [38] **Farzadfar, F., Finucane, M. M., Danaei, G., Pelizzari, P. M., Cowan, M. J., Paciorek, C. J., Singh, G. M., Lin, J. K., Stevens, G. A., Riley, L. M., Ezzati, M., & Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Cholesterol) (2011).** National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country-years and 3.0 million participants. *Lancet* (London, England), 377(9765), 578–586.
- [39] **Dacosta, Yves (2002).** Nutrition et athérosclérose : le point actuel sur un sujet complexe et de plus en plus controversé ; Paris, 334 p.
- [40] **Luc Gérard (1991).** Cholestérol et athérosclérose, Paris : Masson ; 246 p.
- [41] **Wadhera, R. K., Steen, D. L., Khan, I., Giugliano, R. P., & Foody, J. M. (2016).** A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *Journal of clinical lipidology*, 10(3), 472–489.

- [42] **Bays, H. E., Neff, D., Tomassini, J. E., & Tershakovec, A. M. (2008).** Ezetimibe: cholesterol lowering and beyond. *Expert review of cardiovascular therapy*, 6(4), 447-470.
- [43] **Ramachandran, C., Peter, K. V., & Gopalakrishnan, P. K. (1980).** Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic botany*, 34(3), 276-283.
- [44] **Sardarabadi, H., Darvishi, M. H., Zohrab, F., & Javadi, H. (2024).** Nanophytomedicine: A promising practical approach in phytotherapy. *Phytotherapy Research*.
- [45] **Bokri, E., Kouider, Y. B. H., Absi, S., Marzouki, N., Sellami, F., & Hasni, N. (2024).** Notification et analyse des effets indésirables médicamenteux dans un institut spécialisé en neurologie. *Le Pharmacien Clinicien*, 59(2), e173-e174.
- [46] **Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001).** The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. The miracle tree: The multiple attributes of Moringa, 45-76.
- [47] **Massal, E., and J. Barrau. 1956.** Food plants of the South Sea Islands. *Tech. Paper 94*. South Pacific Commission, Noumea, New Caledonia.
- [48] **Fawcett, W., and A. B. Rendle. 1914.** Flora of Jamaica. Vol. III. *British Mus. (Nat. Hist.)*, London
- [49] **Morton, J. F. (1991).** The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae)—a boon to arid lands?. *Economic botany*, 45(3), 318-333.
- [50] **Fuglie, L. J. (2001).** Combating malnutrition with *Moringa*. Development potential for *Moringa* products, 1(1), 1-4.
- [51] **Sengupta, A., & Gupta, M. P. (1970).** Studies on the seed fat composition of Moringaceae family. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 72(1), 6-10.
- [52] **Palada, M. C., & Chang, L. C. (2003).** Suggested cultural practices for *Moringa*. International Cooperators' *Guide AVRDC*. AVRDC pub, 03-545.

- [53] **Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2015).** Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 9(5), 2682-2700.
- [54] **Little Jr, E. L., & Wadsworth, F. H. (1964).** Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agric. Handb. US Dep. Agric., 249.
- [55] **Guha, S. R. D., Dhoundiyal, S. N., & Mathur, G. M. (1968).** Mechanical pulps for newsprint grade papers from *Moringa pterygosperma*. Indian Forester (India) v. 94 (8) p. 635-638.
- [56] **Mahajan, S., & Sharma, Y. K. (1984).** Production of rayon grade pulp from *Moringa oleifera*. Indian Forester, 110(3), 303-306.
- [57] **Nautiyal, B. P., & Venhataraman, K. G. (1987).** *Moringa* (drumstick)-an ideal tree for social forestry: growing conditions and uses-Part I. Myforest, 23(1), 53-58.
- [58] **Roloff, A., Weisgerber, H., Lang, U., & Stimm, B. (2009).** *Moringa oleifera* LAM., 1785. Sea, 10(10).
- [59] **Rao, R. R., George, M., & Pandalai, K. M. (1946).** Pterygospermin: the antibacterial principle of *Moringa pterygosperma*, Gaertn. Nature, 158(4021), 745.
- [60] **Guevara, A. P., Vargas, C., Sakurai, H., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., Maoka, T., ... & Nishino, H. (1999).** An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 440(2), 181-188.
- [61] **Bose, C. K. (2007).** Possible role of *Moringa oleifera* Lam. root in epithelial ovarian cancer. Medscape General Medicine, 9(1), 26.
- [62] **Yu, L., Parry, J., Zhou, K. (2005).** Oils from herbs, spices, and fruit seeds. Bailey's Industrial Oil and Fat Products.
- [63] **Yabesh, J.M., Prabhu, S., Vijayakumar, S. (2014).** An ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in silent valley of Kerala, India. Journal of Ethnopharmacology, 154, 774-789.

- [64] **Popoola, J.O., Obembe, O.O. (2013).** Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 682-691.
- [65] **Abe, R., & Ohtani, K. (2013).** An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. *Journal of ethnopharmacology*, 145(2), 554-565.
- [66] **Akinbamijo, O. O., Adediran, S. A., Nouala, S., & Saecker, J. (2004).** *Moringa* fodder in ruminant nutrition in The Gambia. International Trypanotolerance Centre, Banjul.
- [67] **Alidou, C., Salifou, A., Tchobo, F. P., & Soumanou, M. M. (2015).** Connaissance endogène et utilisations du *Moringa oléifera* pour les populations autochtones de huit départements du Bénin [Endogenous knowledge and applications of *Moringa oleifera* for indigenous peoples from eight departments of Benin]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 13(2), 316.
- [68] **Ashfaq, M., Basra, S.M., Ashfaq, U. (2012).** *Moringa*: a miracle plant for agro-forestry. *Journal of Agriculture and Social Sciences*. p 8.
- [69] **Anwar, F., Hussain, A.I., Iqbal, S. and Bhangar, M.I. (2007),** "Enhancement of the oxidative stability of some vegetable oils by blending with *Moringa oleifera* oil", *Food Chemistry*, Vol. 103 No. 4, pp. 1181-1191.
- [70] **Rani, E.A. and Arumugam, T. (2017),** "*Moringa oleifera* (Lam) – a nutritional powerhouse", *Journal of Crop and Weed*, Vol. 13 No. 2, pp. 238-246.
- [71] **Ganatra, T.J., Joshi, U.H., Bhalodia, P.N., Desai, T.R. and Tirgar, P.R. (2012),** "A panoramic view on pharmacognostic, pharmacological, nutritional, therapeutic and prophylactic values of *Moringa oleifera* Lam", *International Research Journal of Pharmacy*, Vol. 3 No. 6, pp. 1-7.
- [72] **Gopalakrishnan, L., Doriya, K. and Kumar, D.S. (2016),** "*Moringa oleifera*: a review on nutritive importance and its medicinal application", *Food Science and Human Wellness*, Vol. 5 No. 2, pp. 49-56.
- [73] **Su, B. and Chen, X. (2020),** "Current status and potential of *Moringa oleifera* leaf as an alternative protein source for animal feed", *Frontiers in Veterinary Science*, Vol. 7 No. 1, pp. 53-66.

- [74] **Rockwood, J.L., Anderson, B.G. and Casamatta, D.A. (2013)**, “Potential uses of *Moringa oleifera* and an examination of antibiotic efficacy conferred by *M. oleifera* seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to underserved indigenous populations”, *International Journal of Phytotherapy Research*, Vol. 3, pp. 61-71
- [75] **Aregheore, E.M. (2012)**, “Nutritive value and inherent anti-nutritive factors in four indigenous edible leafy vegetables in human nutrition in Nigeria: a review”, *Journal of Food Resource Science*, Vol. 1 No. 1, pp. 1-14.
- [76] **Mishra, S.P., Singh, P. and Singh, S. (2012)**, “Processing of *Moringa oleifera* leaves for human consumption”, *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, Vol. 2 No. 1, pp. 28-31
- [77] **Sanchez-Machado, D.I., Núñez-Gastélum, J.A., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B. and LopezCervantes, J. (2010)**, “Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*”, *Food Analytical Methods*, Vol. 3 No. 3, pp. 175-180. No
- [78] **Chhikara, N., Kaur, A., Mann, S., Garg, M. K., Sofi, S. A., & Panghal, A. (2021)**. Bioactive compounds, associated health benefits and safety considerations of *Moringa oleifera* L.: An updated review. *Nutrition & Food Science*, 51(2), 255-277.
- [79] **Mishra, G., Singh, P., Verma, R., Kumar, S., Srivastav, S., Jha, K.K. and Khosa, R.L. (2011)**, “Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: an overview”, *Der Pharmacia Lettre*, Vol. 3 No. 2, pp. 141.
- [80] **Harborne AJ. (1998)**. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. *Springer Science Business Media*; 302p.
- [81] **Trease GE., Evans WC. (1989)** Pharmacognosy. 11th edn, Baillere Tindoll, London,;45-50.
- [82] **Sofowara A. (1990)** Phytochemical Screening of Nigerian Medicinal Plants. Parts III, *Lioyeria*;41: 234-46.
- [83] **Ajayi AM., Diya OO., Adedapo ADA. (2020)** Hypolipidemic effect of *Chrysophyllum albidum* Peel extract and its underlying antioxidant mechanisms in Normal and triton-X-100-induced Hyperlipidemic rats. *J Dietary Suppl*;17(4): 365-83.

- [84] **Lateef T., SA Q. (2020).**Centratherumant helminticum and Withania coagulans improves lipid profile and oxidative stress in triton X-100 induced hyperlipidemic rabbits. *Group*;1(11.36): 1-
- [85] **Adedapo AA., Mogbojuri OM., Emikpe BO. (2009).**Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *J Medicinal Plants Res*;3(8): 586-91
- [86] Fiche technique Cobas integra (Roche)
- [87] **Friedewald WT., Levy RI., Fredrickson DS. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*;18:499-502
- [88] **Shahriar, M., Hossain, M. I., Bahar, A. N. M., Akhter, S., Haque, M. A., & Bhuiyan, M. A. (2012).** Preliminary phytochemical screening, in-vitro antioxidant and cytotoxic activity of five different extracts of *Moringa oleifera* leaf. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 65-68.
- [89] **Roopalatha, U. C., & Vijay, M. N. (2013).** Phytochemical analysis of succession re-extracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*. 5 (3): 629, 634.
- [90] **Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., & Ochola, F. O. (2016).** Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(4), 302-308.
- [91] **Sankhalkar, S., & Vernekar, V. (2016).** Quantitative and Qualitative analysis of Phenolic and Flavonoid content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. *Pharmacognosy research*, 8(1), 16.
- [92] **Udosen, I. E., Okwori, A. E. J., Ijebor, J. A., Jonson, P. O., & Adikwu, T. I. (2016).** Effects of *Moringa oleifera* leaf tea on salmonella typhi and Escherichia Coli. *IOSR J Dent Med Sci (IOSR-JDMS)*, 15(3), 62-66.
- [93] **Unuigbo, C. A., Okeri, H. A., Erharuyi, O., Oghenero, E. E., & Obamedo, D. A. (2014).** Phytochemical and antioxidant evaluation of *Moringa oleifera* (Moringaceae) leaf and seed. *Journal of Pharmacy and bioresources*, 11(2), 51-57.

- [94] **Pandey, V. N., Chauhan, V., Pandey, V. S., Upadhyaya, P. P., & Kopp, O. R. (2019).** *Moringa oleifera* Lam.: a biofunctional edible plant from India, phytochemistry and medicinal properties. *J. Plant Stud*, 8(10).
- [95] **Ayssiwede, S. B., Dieng, A., Bello, H., Chrysostome, C. A. A. M., Hane, M. B., Mankor, A., ... & Missohou, A. (2011).** Effects of *Moringa oleifera* (Lam.) leaves meal incorporation in diets on growth performances, carcass characteristics and economics results of growing indigenous Senegal chickens. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(12), 1132-1145.
- [96] **Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013).** Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial crops and products*, 44, 566-571.
- [97] **Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S. (2017).** Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchorneacordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridaxprocumbens* (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44, 15-22.
- [98] **Menor T, Morales-Soto A, Barrajon-Catalán E, Roldán-Segura C, Segura-Carretero A, Micol V (2013).** Corrélation entre l'activité antibactérienne et la composition d'extraits dérivés de différentes espèces de ciste espagnol. *Food Chem Toxicol*;55:313-22.
- [99] **Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., & Rao, C. V. (2009).** In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2196-2201.
- [100] **Boumaza-Hamladji, S., Benhabyles, N., Toubal, S., El Haddad, D., Bouchenak, O., Bellalemi, N., ... & Meziani, I. (2023).** Flavonoic content and antibacterial evaluation of *Moringa oleifera* Lam. leaves grow in Algeria. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 14(3), 191-195.
- [101] **Bäck, M., Yurdagul Jr, A., Tabas, I., Öörni, K., & Kovanen, P. T. (2019).** Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Cardiology*, 16(7), 389-406.

- [102] **Fujita, H., & Yamagami, T. (2008).** Antihypercholesterolemic effect of Chinese black tea extract in human subjects with borderline hypercholesterolemia. *Nutrition research*, 28(7), 450-456.
- [103] **Warden, C. H., & Fislser, J. S. (2008).** Comparisons of diets used in animal models of high-fat feeding. *Cell metabolism*, 7(4), 277.
- [104] **Orozco-Beltran, D., Gil-Guillen, V. F., Redon, J., Martin-Moreno, J. M., Pallares-Carratala, V., Navarro-Perez, J., ... & ESCARVAL Study Group. (2017).** Lipid profile, cardiovascular disease and mortality in a Mediterranean high-risk population: The ESCARVAL-RISK study. *PLoS One*, 12(10), e0186196.
- [105] **Berrougui, H., Momo, C. N., & Khalil, A. (2012).** Health benefits of high-density lipoproteins in preventing cardiovascular diseases. *Journal of clinical lipidology*, 6(6), 524-533.
- [106] **Okwari, O., Dasofunjo, K., Asuk, A., Alagwu, E., & Mokwe, C. (2013).** Anti-hypercholesterolemic and hepatoprotective effect of aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* in rats fed with thermoxidized palm oil diet. *J. Pharm. Biol. Sci*, 8, 57-62.
- [107] **Elekofehinti, O. O., Adanlawo, I. G., Saliu, J. A., & Sodehinde, S. A. (2012).** Saponins from *Solanum anguivi* fruits exhibit hypolipidemic potential in *Rattus norvegicus*. *Der Pharmacia Lettre*, 4(3), 811-814.
- [108] **Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2005).** Hypocholesterolemic effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2462-2466.
- [109] **Yang, D. J., Chang, Y. Y., Hsu, C. L., Liu, C. W., Lin, Y. L., Lin, Y. H., ... & Chen, Y. C. (2010).** Antiobesity and hypolipidemic effects of polyphenol-rich longan (*Dimocarpus longans* Lour.) flower water extract in hypercaloric-dietary rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 2020-2027.
- [110] **Lakhne, R., Gupta, R., & Gupta, R. S. (2015).** Active Phytoconstituents for Controlling Hypercholesterolemia: A Review. *Int J Clin Endocrinol Metab* 1 (1): 022, 30, 022.
- [111] **Martínez-Montoro, J. I., Generoso-Piñar, M., Ocaña-Wilhelmi, L., Gutiérrez-Repiso, C., Sánchez-García, A., Soler-Humanes, R., ... & Garrido-Sánchez, L. (2023).** Hypertension and hypercholesterolemia are

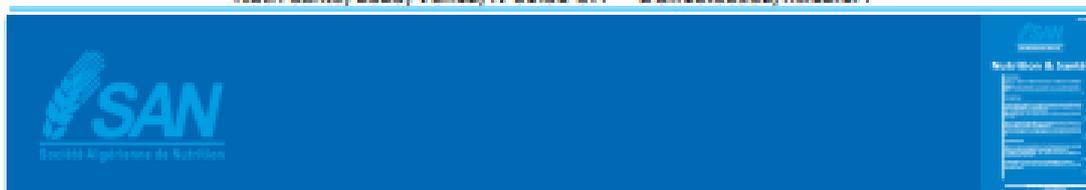
predictive factors associated with type 2 diabetes persistence after metabolic surgery: A prospective study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 199, 110650.

- [112] **Senecha C, Shama PK, D'Souza UP, Shastry CS (2012)** Anticholesteremic and Antilipidemic activity of Stem bark extracts of *Moringa oleifera* in Diet induced hyperlipidemia model in rats. *Int J PharmChemSci* 1: 567-574.

Annexes

Annexe 1 : Article scientifique

Nutr. Santé, 2023, Vol.12, N°01:31-37. DOI:10.30952/ns.12.1.4



Composés bioactifs

Activité anticholestérolémiante de l'extrait méthanolique de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sur l'hypercholestérolémie aiguë induite par le Triton X-100 chez des souris

Anticholesterolemic activity of *Moringa oleifera* leaves methanolic extract in Triton X-100 induced hypercholesterolemic mice

Yasmine R. SAIDI., Amel DOUMANDJI.

Laboratoire de recherche des Sciences, Technologies et Développement Durable, Département Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1, Blida, Algérie

Auteur correspondant : yasmine.saidi.usdb@gmail.com

Reçu le 25 octobre 2022, Révisé le 05 juin 2023, Accepté le 23 juin 2023

Résumé Introduction. *Moringa oleifera* L. est une plante médicinale ayant un pouvoir thérapeutique sur plusieurs pathologies. **Objectif.** Le but de ce travail est d'étudier l'effet de cette plante sur une hypercholestérolémie induite chez des souris à une dose de 800 mg/kg d'extrait de poudre de feuilles de *M. oleifera*. **Matériel et méthodes.** Trente souris mâles ont été utilisées et réparties au hasard en cinq groupes égaux (n = 5). Le Triton X-100 (100 mg/kg de poids corporel, l.p.) a été administré pour induire une hypercholestérolémie. Par la suite, un traitement oral d'Atorvastatine ou d'un extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* (MEMOL) a été administré quotidiennement aux groupes traités pendant 7 jours. Le profil lipidique a été déterminé à la fin du traitement. **Résultats.** Le groupe de souris traitées avec MEMOL présentait une réduction des taux de cholestérol total (CT) (136,5mg/dL) et de cholestérol des lipoprotéines de faible densité (C-LDL) (60,65mg/dL), comparé au groupe hypercholestérolémique (242,13 et 168,9mg/dL pour CT et C-LDL, respectivement). La valeur du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (C-HDL), chez les souris traitées soit avec MEMOL, soit avec atorvastatine, était comparable et supérieure à celle des souris des autres groupes. Une augmentation significative du taux de C-HDL est observée chez les souris traitées avec MEMOL. L'indice d'athérogénicité s'est avéré significativement plus faible ($P < 0,05$), chez les souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL, par rapport aux souris hypercholestérolémiques. **Conclusion.** Les résultats de cette étude indiquent que *M. oleifera* a un effet anti-hypercholestérolémiant, justifiant son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Mots clés : Souris, *Moringa oleifera* L., Cholestérol, Hypercholestérolémie, C-HDL, C-LDL

Abstract Introduction. *Moringa oleifera* L. is a medicinal plant reported to have thera-

peutic potency. **Objective.** The aim of this work was to study the effect of *M. oleifera* extract, at a dose of 800 mg/kg, on induced hypercholesterolemia in mice. **Material and methods.** Male mice (n=30) were used and randomly divided into five equal groups (n=5). Triton X-100 (100mg/kg body weight, i.p.) was administered to induce hypercholesterolemia. Then, oral treatment of Atorvastatin or methanolic extract of *M. oleifera* leaves (MEMOL) was given daily to treated groups for 7 days. Lipid profile was determined at the end of the treatment. **Results.** Results showed that mice group treated with MEMOL showed reduced total cholesterol (TC) (136.5 mg/dL), and low density lipoproteins cholesterol (LDL-C) (60.65 mg/dL) levels, when compared to hypercholesterolemic group (242.13 and 168.9 mg/dL for TC and LDL-C, respectively). High density lipoproteins cholesterol (HDL-C) value of treated mice by MEMOL and atorvastatine was comparable and higher than that of other groups. Significant increase in HDL-C level was observed in mice treated with MEMOL. Atherogenic index was significantly lower ($P<0.05$) in MEMOL treated hypercholesterolemic mice than hypercholesterolemic mice. **Conclusion.** Results indicate that *M. oleifera* has anti-hypercholesterolemic effect, justifying its use in ethnomedicine.

Key words: Mice, *Moringa oleifera* L., Cholesterol, Hypercholesterolemia, C-HDL, C-LDL

Introduction

Moringa oleifera L. appartenant au genre Moringaceae est originaire de la tribu sub-himalayenne de l'Inde, du Pakistan, du Bangladesh et de l'Afghanistan. *M. oleifera* est une plante potagère polyvalente et nutritive. Les humains ont utilisé cette plante comme aliment conventionnel depuis 5 000 ans et elle est actuellement cultivée dans le monde entier, à des fins industrielle et thérapeutique [1].

Toutes les parties de cette plante sont des sources renouvelables de tocophérols (γ et α), de composés phénoliques, de β -carotène, de vitamine C et de protéines totales, dont les acides aminés soufrés essentiels, la méthionine et la cystéine [2], ce qui lui confèrent divers usages médicaux, notamment antihypertenseur, anticancéreux, hépato-protecteur, anti-inflammatoire et antihyperlipémiant [3-6]. De plus, les propriétés attractives de cette plante en font une excellente alternative aux médicaments pour soigner les troubles hyperlipémiants. En effet, la consommation de médicaments peut entraîner d'innombrables troubles à savoir, une hyperuricémie, la diarrhée, des nausées, une myosite, une irritation gastrique, des bouffées vasomotrices, l'assèchement de la peau et un dysfonctionnement hépatique [7]. Les dernières études, menées sur des animaux nourris avec un régime riche en graisses, ont conclu que les feuilles de *M. oleifera* ont une activité hypocholestérolémiante [8-10].

Dans la même perspective, cette présente étude tente d'évaluer l'activité antihypercholestérolémiante de *M. oleifera*, après induction d'une hypercholes-

térolémie aigue, par injection de Triton X-100, chez des souris de souche NMRI. Pour ce faire, un extrait méthanolique de poudre de feuilles de *M. oleifera* (Methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves MEMOL) a été administré comme traitement à une dose de 800 mg/kg de poids corporel (PC) aux souris rendues hypercholestérolémiques.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Des feuilles fraîches de *M. oleifera* ont été récoltées sur une terre agricole de la Commune de Chekfa, Ijel (Algérie), puis séchées à l'ombre et broyées à l'aide d'un broyeur électrique (Brightsail BS-180). La poudre fine obtenue (600g de l'échantillon) a été macérée dans du méthanol à 80% à température ambiante pendant 24h. Le mélange macéré a été filtré à travers du papier filtre Whatman et évaporé à sec dans une étuve à 56°C pendant 72h. La poudre sèche résultante (rendement à 12,5%) a ensuite été dissoute dans de l'eau distillée pour l'utilisation finale.

Screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera*

Une analyse phytochimique du MEMOL a été réalisée afin de rechercher la présence des divers constituants, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les sucres réducteurs, les phénols et les glycosides, en utilisant des méthodes standard [11-13].

Alcaloïdes

Deux mL de chloroforme ont été ajoutés à 1 mL

Composés bioactifs

d'extrait. Environ 3 à 4 gouttes de réactif de Wagner ont été ajoutées au mélange et une coloration brun rougeâtre a confirmé la présence d'alcaloïdes.

Flavonoïdes

A 1 mL d'extrait, 1 mL d'une solution d'acétate de plomb à 10% a été ajouté. La formation d'un précipité jaune a été considérée comme un test positif pour la présence de flavonoïdes.

Saponines

Un mélange de 5 mL d'extrait avec 5 mL d'eau distillée ont été agités vigoureusement, puis réchauffés. La formation de mousse stable a été considérée comme une indication de la présence de saponines.

Tanins

Deux mL d'extrait ont été mis à ébullition pendant 2 min et laissés refroidir, puis 3 gouttes de solution de chlorure ferrique ont été ajoutées à l'extrait. La formation d'un précipité vert est une indication de la présence de tanins.

Glycosides

Un mélange de 2 mL d'extrait avec du HCl dilué et 2 mL de nitropruside de sodium dans une solution de pyridine et d'hydroxyde de sodium a été préparé. La formation d'une couleur rose à rouge sang indique la présence de glycosides cardiaques.

Sucres réducteurs

A 0,5 mL de l'extrait, 1 mL d'eau et 5 à 8 gouttes de solution de Fehling ont été ajoutés et chauffés au bain-marie.

Phénols

L'extrait (500mg) a été dissout dans 5 mL d'eau distillée. Quelques gouttes d'une solution neutre de chlorure ferrique à 5% ont été ajoutées. Une couleur vert foncé indique la présence de composés phénoliques.

Animaux et régimes

Trente souris de la souche NMRI mâles adultes, âgées entre 7 et 8 semaines, pesant entre 25 et 35 g, ont été obtenues auprès de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie. Les animaux sont répartis au hasard en cinq groupes de six animaux chacun, mis dans des cages en plastique dans une animalerie bien ventilée et exposés à un cycle lumière-obscurité de 12h. Les souris ont été manipulées selon le protocole standard suivant les lignes directrices générales sur l'utilisation

d'animaux vivants dans les enquêtes scientifiques par le Conseil des Communautés Européennes (1987). Les animaux ont été maintenus au niveau de l'animalerie pendant 2 semaines pour l'acclimatation et nourris avec l'aliment Standard Chow et de l'eau *ad-libitum*.

L'hypercholestérolémie a été induite par injection intra-péritonéale (i.p.) unique de 100 mg/kg PC de Triton X-100, préparé dans une solution saline normale. Cette solution a été utilisée avec succès pour induire une hypercholestérolémie sur des modèles animaux dans des études précédentes [14,15].

Les animaux ont été répartis en cinq groupes de 6 animaux chacun : Groupe 1 : Témoin normal ; Groupe 2 : a reçu l'extrait méthanolique de feuilles de Moringa (800 mg/kg PC par voie orale ; Groupe 3 : Souris rendues hypercholestérolémiques par injection de Triton X-100 ; Groupe 4 : Souris rendues hypercholestérolémiques traitées avec l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* (800 mg/kg PC) ; Groupe 5 : Souris rendues hypercholestérolémiques et traitées avec un médicament de référence l'Atorvastatine, à une dose de 10 mg/kg PC. La dose de 800mg d'extrait de *M. oleifera* a été choisie, sachant qu'elle est inférieure à la dose létale et qu'elle est sans danger pour les usages nutritionnels et médicaux antérieurs [16].

Après un traitement quotidien de 7 jours, les souris ont été mises à jeun pendant une nuit et des échantillons de sang ont été prélevés par ponction cardiaque avant le sacrifice lors de la dislocation cervicale. Le sang total a été centrifugé, le sérum a été recueilli dans des tubes Eppendorf et conservé à 4°C pour les analyses biochimiques.

Le foie de 2 souris par groupe a été prélevé en vue de réaliser des coupes histologiques pour l'étude histopathologique.

Analyse du profil lipidique

Les concentrations sériques du cholestérol total (TC), du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (C-HDL) et des triglycérides (TG) ont été déterminées par une méthode colorimétrique enzymatique (kits Roche), à l'aide d'un analyseur automatique (CobasIntegra 400 plus).

Le cholestérol des lipoprotéines de faible densité (C-LDL) et des lipoprotéines de très faible densité (C-VLDL) ont été calculés par la relation mathématique décrite précédemment [17].

$C\text{-LDL} = CT - (C\text{-HDL}) - 0,20(TG)$

$C\text{-VLDL} = TG/5$

L'indice d'athérogénicité (IA) a été calculé selon la relation mathématique suivante:

$$\text{Indice d'athérogénicité (IA)} = \frac{\text{Cholestérol Total} - \text{C-HDL}}{\text{C-HDL}}$$

Etude histopathologique

Une partie des tissus hépatiques a été fixée dans du formol tamponné à 10%, déshydratée dans de l'éthanol à 95% puis clarifiée dans du xylène avant d'être incluse dans de la paraffine. Des microsections (environ 4 µm) ont été préparées et colorées avec un colorant hématoxyline et éosine (H&E) et ont été examinées au microscope optique.

Analyse statistique

Les données présentées dans cette étude ont été analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS, version 20.0. Les résultats ont été présentés sous forme de moyennes et erreur standard. Un test ANOVA a été effectué pour détecter toute différence significative. La valeur $P < 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

Résultats

Screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera*

Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* a révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines, de tanins et de phénols (Tableau I), mais aucune trace de glycosides ni de sucres réducteurs.

Tableau I. Screening phytochimique de l'extrait de feuilles de *M. oleifera*

Phytoconstituants	Extrait méthanolique de feuilles de <i>M. oleifera</i>
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Saponines	+
Tanins	+
Glycosides	-
Sucres réducteurs	-
Phénols	+

+: Présents, -: Absents

Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *M.oleifera* sur le profil lipidique

L'effet de MEMOL sur le profil lipidiquesérique est présenté dans le Tableau II. Le groupe de souris traitées avec MEMOL a montré une réduction du taux de cholestérol total (136,5mg/dL) et de C-LDL (60,65 mg/dL) par rapport au groupe hypercholestérolémique (242,13 et 168,9 mg/dL pour le CT et C-LDL, respectivement). Les valeurs du C-HDL des souris traitées avec le MEMOL et celles traitées avec l'Atorvastatine étaient similaires et supérieures à celles des souris des autres groupes non traités. Une augmentation significative du taux de C-HDL a été observée chez les souris traitées avec MEMOL (Tableau II). L'indice d'athérogénicité évalué s'est avéré significativement plus faible ($P < 0,05$), chez les souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL, par rapport aux souris hypercholestérolémiques non traitées. En effet, les valeurs moyennes de l'IA représentent $1,94 \pm 0,32$ versus $6,7 \pm 1,07$.

Tableau II. Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur le profil lipidique

	CT (mg/dL)	TG (mg/dL)	C-HDL (mg/dL)	C-LDL (mg/dL)	C-VLDL (mg/dL)	IA
G1	115,5 ± 13,64	143,3 ± 21,06	45,9 ± 4,47	40,95 ± 16,1	28,6 ± 4,21	1,54 ± 0,41
G2	108,64 ± 15,9	142,7 ± 21,03	47,01 ± 3,02	33,08 ± 14,4	28,54 ± 4,2	1,31 ± 0,31
G3	242,13 ± 24,8**	208,83 ± 10,7**	31,6 ± 1,67**	168,9 ± 26**	41,62 ± 2,14**	6,7 ± 1,07
G4	136,5 ± 19,5	148 ± 17	46,28 ± 2,3	60,65 ± 18,7*	29,6 ± 3,4*	1,94 ± 0,32*
G5	128,1 ± 22,34	115,14 ± 9,79	62,1 ± 1,47	42,75 ± 21,39	23,02 ± 1,95	1,05 ± 0,35

G1 (Group 1): Souris normales ; G2 (Group 2): Souris normales ayant reçu l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* MEMOL; G3 (Group 3) : Souris hypercholestérolémiques ; G4 (Group 4) : Souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL ; G5 (Group 5) : Souris hypercholestérolémiques traitées avec Atorvastatine. CT: Cholestérol total ; TG: Triglycérides ; C-HDL: Cholestérol des lipoprotéines de haute densité ; C-LDL: Cholestérol des lipoprotéines de faible densité ; C-VLDL: Cholestérol des lipoprotéines de très faible densité ; IA: indice d'athérogénicité. * $P < 0,05$: Différence significative comparée au groupe de souris hypercholestérolémiques G3 ; ** $P < 0,05$: Différence significative comparée au groupe de souris normales G1.

Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. oleifera* sur l'histologie du foie

L'histologie des cellules hépatiques a montré une nécrose hépatocellulaire légère et une accentuation des sinusoides avec des cordons fins après l'induction de l'hyperlipidémie (Fig. 1) par rapport au contrôle normal qui a montré une architecture normale du parenchyme hépatique. Cependant, le traitement par MEMOL (800mg/kg) et Atorvastatine (10mg/kg) a atténué les symptômes nécrotiques provoqués par l'induction de l'hyperlipidémie et les hépatocytes ont retrouvé leur morphologie normale.

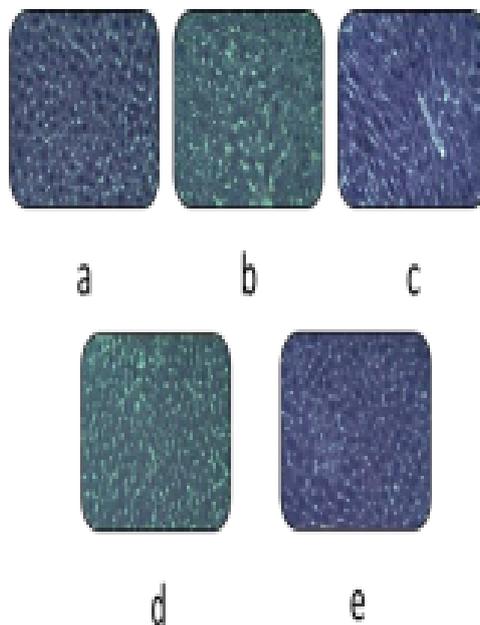


Fig. 1. Photomicrographies du tissu hépatique chez la souris

Grossissement $\times 400$. a (Group 1): Souris normales ; b (Group 2): Souris normales ayant reçu l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* MEMOL; c (Group 3): Souris hypercholestérolémiques; d (Group 4): Souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL; e (Group 5): Souris hypercholestérolémiques traitées avec Atorvastatine.

Discussion

L'objectif de notre étude est de voir l'effet de l'extrait méthanolique de poudre de feuilles de *M. oleifera* sur l'hypercholestérolémie aigüe, induite chez des souris. L'hypercholestérolémie est l'un des facteurs de risque les plus importants pour le développement des maladies cardiovasculaires et de l'athérosclérose, qui se caractérise par l'accumulation croissante de lipides,

principalement du cholestérol, dans l'intima des grosses artères [18]. Il a été démontré que la réduction de la concentration du cholestérol dans le sérum diminue le risque d'athérosclérose chez l'homme [19]. Dans plusieurs modèles animaux, les aliments riches en cholestérol ont souvent été utilisés pour induire une hypercholestérolémie, et pour corrélérer les changements métaboliques [20]. D'un autre côté, le Triton X-100 a été utilisé pour induire l'hypercholestérolémie aigüe en bloquant l'élimination des triglycérides et du cholestérol dans divers modèles animaux [14].

Dans notre étude, nous avons pu induire une hypercholestérolémie aigüe avec succès par injection intrapéritonéale de Triton X-100 (100 mg/kg PC), chez des souris de souche NMRI. En effet, l'injection du Triton a provoqué une élévation significative ($P < 0,05$) équivalente à 52% de la cholestérolémie chez le groupe de souris recevant le Triton par rapport au groupe normocholestérolémique. De même, une augmentation significative des triglycérides équivalente à 31% a été observée chez les souris avec le Triton par rapport aux souris normales. Le profil lipidique sérique a été déterminé en estimant les taux de C-LDL, de C-VLDL, des triglycérides et de C-HDL.

Les LDL sont les principales lipoprotéines transportant le cholestérol et sont considérées comme des lipoprotéines athérogènes [21]. D'autre part, les HDL ont un rôle protecteur dans les maladies cardiovasculaires, en particulier les maladies coronariennes. En effet, elles sont impliquées dans la captation du cholestérol des tissus périphériques et son transport inverse vers le foie [22].

L'effet de l'administration de l'extrait méthanolique de feuilles de *M. oleifera* sur les profils lipidiques sériques était le principal objectif de notre étude. Il en découle que le groupe de souris traitées avec MEMOL a montré une réduction des taux de CT, de TG et de C-LDL, comparé au groupe hypercholestérolémique. Les taux de C-HDL des souris traitées avec le MEMOL et celles traitées avec l'Atorvastatine étaient similaires et supérieurs à ceux des souris des autres groupes. Cependant, une augmentation significative du taux de C-HDL a été observée chez les souris traitées avec MEMOL, par rapport à celles non traitées.

Dans la présente étude, l'indice d'athérogénicité (IA) s'est avéré significativement réduit ($P < 0,05$) chez les souris hypercholestérolémiques traitées avec MEMOL, comparées aux souris hypercholestérolémiques non traitées. Cet indice IA est considéré comme un facteur de risque important pour le diagnostic de l'athérosclérose. Ces résultats indiquent que *Moringa*

oleifera a un effet anti-hypercholestérolémiant. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature sur l'induction de l'hyperlipidémie chez des rats femelles par l'administration de régimes à base d'huile de palme [23].

Au vu de ces résultats, on peut affirmer sans risque que l'extrait méthanolique (800mg/kg PC) et l'Atorvastatine (10mg/kg PC) sont tout aussi efficaces dans la prise en charge de l'hyperlipidémie. L'effet protecteur du MEMOL est probablement dû à son activité anti-oxydante, qui réduit les dommages oxydatifs, en bloquant la production de radicaux libres et en inhibant ainsi la peroxydation lipidique.

En effet, le screening phytochimique préliminaire a révélé la présence de flavonoïdes, de saponines et de polyphénols dans le MEMOL. Des études antérieures ont montré que les saponines végétales sont connues pour leur activité hypolipidémiant [24]. Les flavonoïdes et les autres polyphénols ont également été suggérés pour leurs effets hypocholestérolémiants et hypolipidémiant [25,26].

Ces résultats laissent suggérer que *M. oleifera* peut être une source potentielle pour la prévention et la gestion de l'hypercholestérolémie et de ses complications, avec moins d'effets secondaires et une bonne tolérance. Ces données peuvent être utiles à l'avenir pour le traitement de l'hypercholestérolémie chez les patients. Néanmoins, il serait judicieux d'explorer les constituants phénoliques de la plante, de les quantifier et de produire des médicaments pour contrôler diverses maladies.

Conclusion

Les résultats de cette étude révèlent que l'extrait méthanolique de feuilles de *Moringa oleifera*, à une dose de 800mg/kg PC, a un effet hypocholestérolémiant sur les souris rendues hypercholestérolémiques en diminuant les taux sériques de cholestérol total et de triglycérides. Ainsi, cet extrait corrige efficacement l'hypercholestérolémie aiguë expérimentale chez la souris, suggérant un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires. Son utilisation comme alternative aux médicaments par les personnes à risque doit être vivement encouragée.

Conflit d'intérêts

Aucun

Références

1. Chhikara N., Kaur A., Mann S., Garg MK., Sofi S. A., Panghal A. Bioactive compounds, associated health benefits and safety considerations of *Moringa oleifera* L.: an updated review. *Nutr Food Sci* 2021;2: 255-77.
2. Ferrelira PMP., Farlas DF., Oliveira JTDA., Carvalho ADFU. *Moringa oleifera*: bioactive compounds and nutritional potential. *Rev Nutr* 2008; 21(4): 431-7.
3. Dangi SY., Jolly CI., Narayanan S. Antihypertensive activity of the total alkaloids from the leaves of *Moringa oleifera*. *Pharmaceutical Biology* 2002;40(2): 144-8.
4. Barhol D., Upadhaya P., Barbhuiya SN., Giri A.,Giri S. Aqueous extract of *Moringa oleifera* exhibit potential anticancer activity and can be used as a possible cancer therapeutic agent: a study involving in vitro and in vivo approach. *J Am College Nutr* 2021;40(1): 70-85.
5. Toppo R., Roy BK., Gora RH., Baxla SL., Kumar P. Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* against cadmium toxicity in rats. *Veterinary World* 2015;8(4): 537.
6. Omodanisi EI., Aboua YG., Chegou NN., Oguntibaju OO. Hepatoprotective, antihyperlipidemic, and anti-inflammatory activity of *Moringa oleifera* in diabetic-induced damage in male wistar rats. *Pharmacognosy Res* 2017;9(2): 182.
7. Lakhne R., Gupta R., Gupta RS. Active Phytoconstituents for Controlling Hypercholesterolemia: A Review. *Int J Clin Endocrinol Metab* 2015;1(1): 022-30.
8. Ghasi S., Nwobodo E., Ofili JO. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. *J Ethnopharmacology* 2000;69(1): 21-5.
9. Jain PG., Patil SD., Haswani NG., Girase MV., Surana SJ. Hypolipidemic activity of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats. *Rev Bras Farmacogn* 2010;20(6): 969-73.
10. Reddy PV., Urooj A., Sairam S., Ahmed F., Prasad NN. Hypocholesterolemic effect of *Moringa oleifera* polyphenols in rats fed high fat-cholesterol diet. *Malaysian J Nutr* 2017;23(3): 473-8.
11. Harborne AJ. *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Science Business Media 1998; 302p.
12. Trease GE., Evans WC. *Pharmacognosy*. 11th edn, Baillere Tindall, London, 1989;45-50.
13. Sofowara A. *Phytochemical Screening of Nigerian Medicinal Plants*. Parts III, *Lloyeria* 1990;41: 234-46.
14. Ajayi AM., Diya OO., Adedapo ADA. Hypolipi-

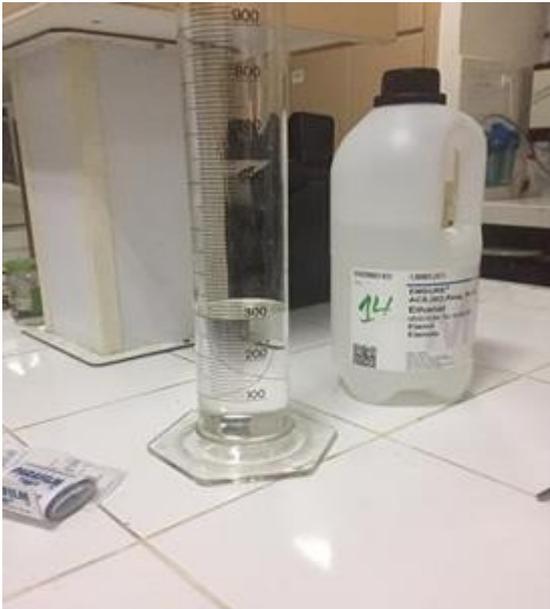
- demetic effect of *Chrysophyllum albidum* Peel extract and its underlying antioxidant mechanisms in Normal and triton-X-100-induced Hyper-lipidemic rats. *J Dietary Suppl* 2020;17(4): 365-83.
15. Lateef T., SA Q. *Centratherrumant helminiticum* and *Withania coagulans* improves lipid profile and oxidative stress in triton X-100 induced hyperlipidemic rabbits. *Group* 2020;1(11.36): 1-22.
 16. Adedapo AA., Mogbojuri OM., Emikpe BO. Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *J Medicinal Plants Res* 2009;3(8): 586-91.
 17. Friedewald WT., Levy RI., Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18: 499-502.
 18. Bäck M., Yurdagül A., Tabas L., Öörni K., Kovanen PT. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nature Rev Cardiology* 2019;16(7): 389-406.
 19. Fujita H., Yamagami T. Antihypercholesterolemic effect of Chinese black tea extract in human subjects with borderline hypercholesterolemia. *Nutr Res* 2008;28(7): 450-6.
 20. Warden CH., Fisler JS. Comparisons of diets used in animal models of high fat feeding. *Cell Metabolism* 2008;7(4): 277.
 21. Orozco-Beltran D., Gil-Guillen VF., Redon J., Martin-Moreno JM., Pallares-Carratala V., Navarro-Perez J. ESCARVAL Study Group. Lipid profile, cardiovascular disease and mortality in a Mediterranean high-risk population: The ESCARVAL-RISK study. *PLoS One* 2017;12(10): e0186196.
 22. Berrougui H., Momo CN., Khalil A. Health benefits of high-density lipoproteins in preventing cardiovascular diseases. *J Clin Lipidology* 2012;6 (6): 524-33.
 23. Okwari OA., Dasofunjo K., Asuka AA., Alagwu EA., Mokwe CM. Anti-Hypercholesterolemic and Hepatoprotective effect of Aqueous Leaf Extract of *Moringa oleifera* in Rats fed with Thermo-oxidized Palm Oil Diet. *J Pharmacy Biological Sci* 2012;8(2): 57-62.
 24. Elekofehinti OO., Adanlawo IG., SaliuJA., Sodehinde SA. Saponins from *Solanum anguivi* fruits exhibit hypolipidemic potential in *Rattus norvegicus*. *Der Pharmacia Lettre* 2012;4(3): 811-4.
 25. Zou Y., Lu Y., Wei D. Hypocholesterolemic effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in rats fed a cholesterol-rich diet. *J Agric Food Chem* 2005;53(7): 2462-6.
 26. Yang DJ., Chang YY., Hsu CL., Liu CW., Lin YL., Lin YH. Antiobesity and hypolipidemic effects of polyphenol-rich longan (*Dimocarpus longans* Lour.) flower water extract in hypercaloric-dietary rats. *J Agric Food Chem* 2010;58(3):2020-7.

Annexe 2: Préparation du matériel vegetal au niveau d'une terre Agricole dans la commune de CHEKFA à Jijel



Préparation du matériel végétal au niveau d'une terre agricole dans la commune de CHEKFA à Jijel. (Photographie originale)

Annexe 3: Extraction méthanolique de la poudre de feuilles de Moringa



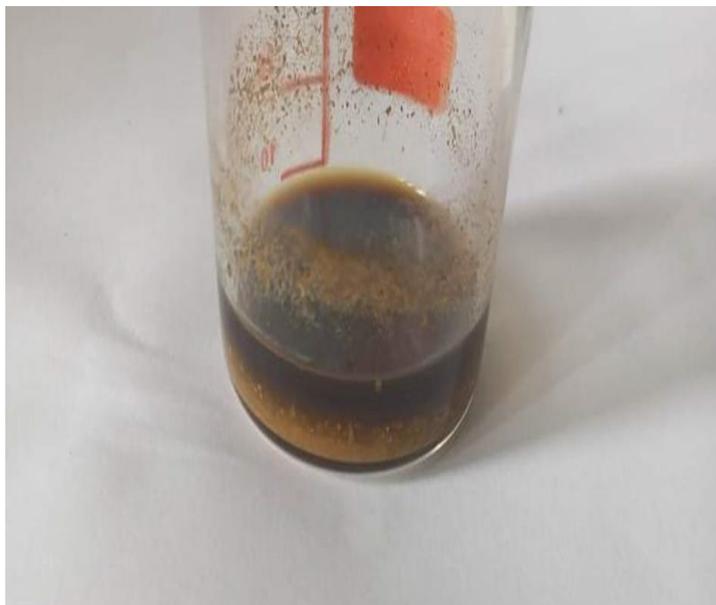
Annexe 4 : Screening phytochimique pour détecter la présence des alcaloïdes



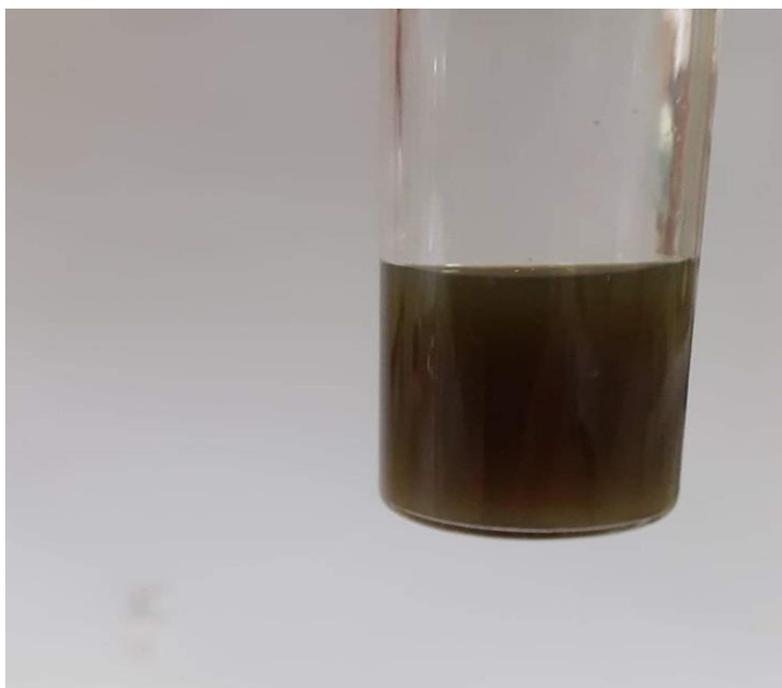
Annexe 5: Screening phytochimique pour détecter la présence des flavonoïdes



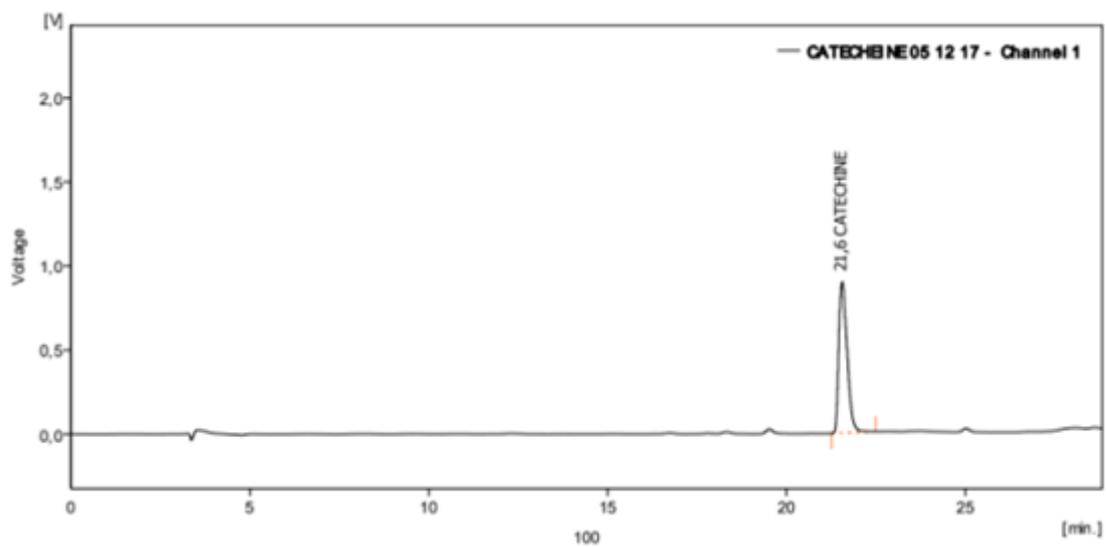
Annexe 6: Screening phytochimique pour détecter la présence des tanins



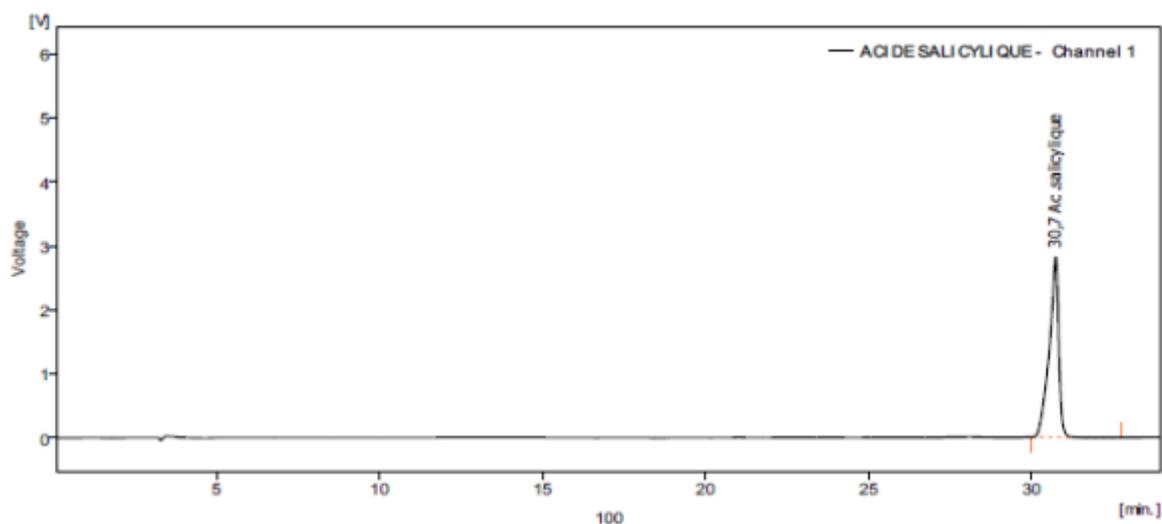
Annexe 7: Screening phytochimique pour détecter la présence de composés phénoliques



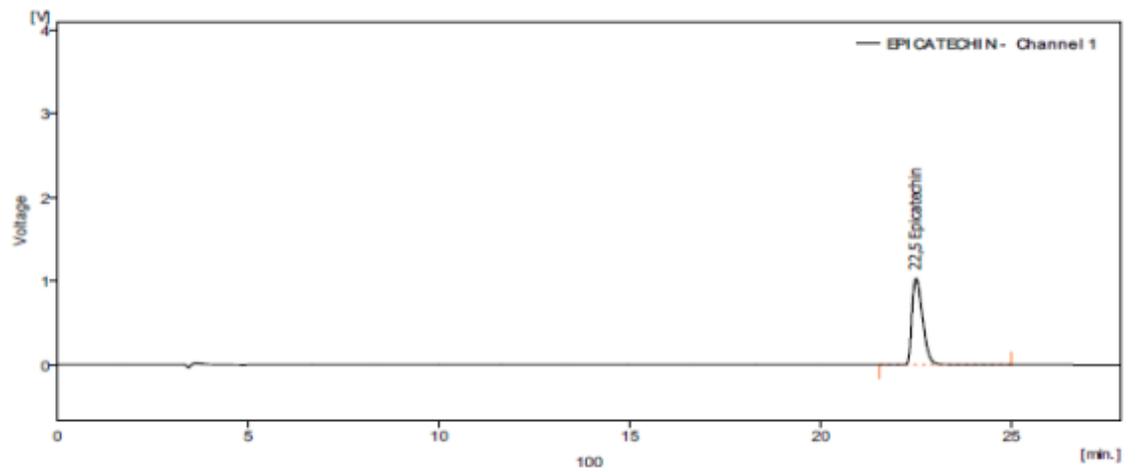
Annexe 8: Chromatographe de l'étalon "Catéchine" à une longueur d'ondes de 254 nm



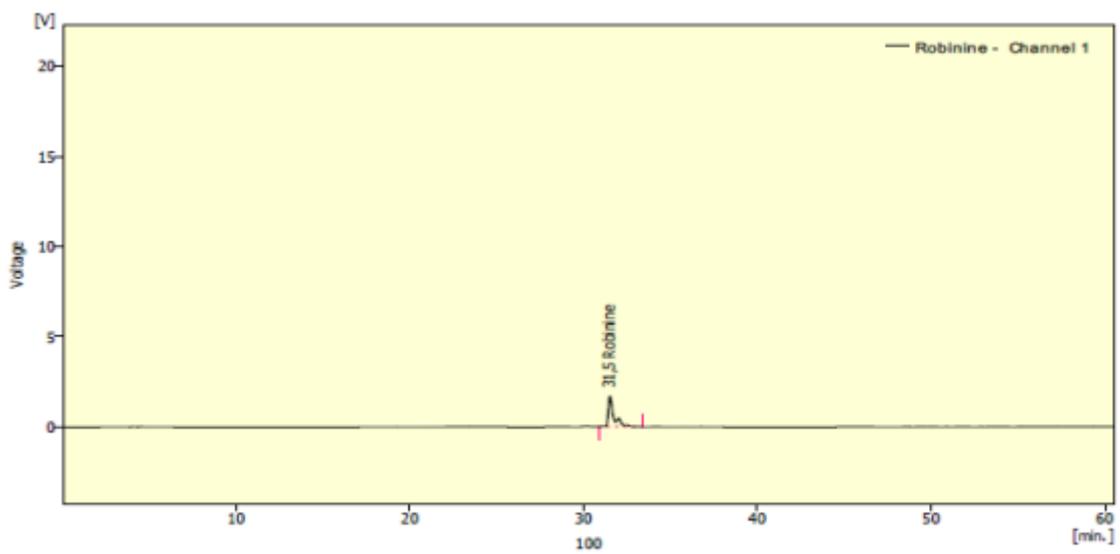
Annexe 9: Chromatographe de l'étalon "Acide salicylique" à une longueur d'ondes de 254 nm



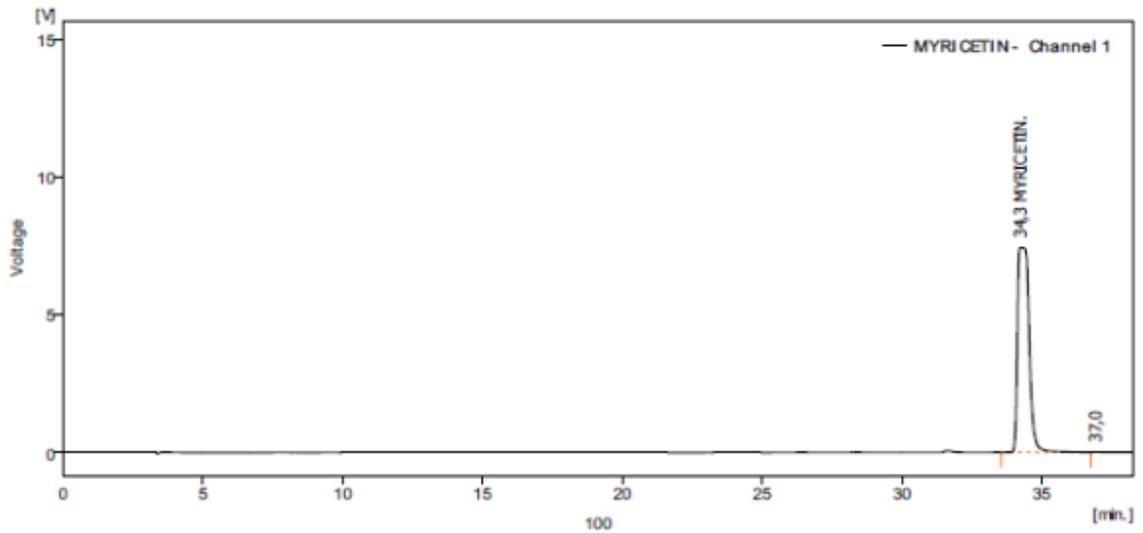
Annexe 10: Chromatographe de l'étalon "Epicatechine" à une longueur d'ondes de 254 nm



Annexe 11: Chromatographe de l'étalon "Robinine" à une longueur d'ondes de 254 nm



Annexe 12: Chromatographe de l'étalon de "Myricétine" à une longueur d'ondes de 254 nm



Annexe 13: Chromatographe de l'étalon "Acide ascorbique" à une longueur d'ondes de 254 nm

