



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire des sous-fractions méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) chez le rat

Awa NDIAYE SY^{1*}, Alioune Dior FALL², Mamadou NDIAYE¹, Amadou Omar SALL¹,
Guata Yoro SY¹, Emmanuel BASSÈNE² et Amadou Moctar DIÈYE¹

¹Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie, Faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

²Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie,
Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

*Auteur correspondant ; E-mail : andiayesy10@yahoo.fr

RESUME

Moringa oleifera est une plante de la pharmacopée africaine, très utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses applications thérapeutiques. L'objectif de la présente étude était de fractionner la fraction méthanolique de l'extrait hydro-alcoolique de ses feuilles dont les propriétés anti-inflammatoires avaient été démontrées antérieurement et d'identifier la sous-fraction méthanolique la plus active. La méthode de séparation liquide-liquide a été utilisée pour partitionner la fraction méthanolique. Trois sous-fractions méthanoliques (F1, F2 et F3) sont obtenues à l'issue du fractionnement. L'activité anti-inflammatoire de ces extraits a été testée sur un modèle pharmacologique d'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine en comparaison à celle de l'aspirine utilisée comme substance de référence. Après administration par gavage, l'aspirine (30 mg/kg) et les extraits (15 et 30 mg/kg) préviennent de manière significative, l'œdème de la patte des rats de la 1^{ère} à la 5^{ème} heure de l'expérience. L'étude montre globalement une activité anti-inflammatoire des sous-fractions F1, F2 et F3. L'effet le plus important est observé avec la F3 durant les trois premières heures de l'expérience avec une cinétique d'inhibition de l'œdème comparable à celle de l'aspirine. Ces résultats suggèrent que les feuilles de *Moringa oleifera* pourraient constituer une source potentielle d'anti-inflammatoires dans le traitement des pathologies ayant une composante inflammatoire.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Moringa oleifera*, feuilles, anti-inflammatoire, sous-fractions méthanoliques.

Study of the anti-inflammatory activity of methanolic sub-fractions of the leaves of *Moringa Oleifera* Lam. (Moringaceae) in rat

ABSTRACT

Moringa oleifera is an African pharmacopoeia plant, widely used in traditional medicine for its many therapeutic applications. This study aimed at partitioning the methanolic fraction of hydro-alcoholic leaves extract of which anti-inflammatory properties have been previously demonstrated and to identify the most active methanolic sub-fraction. The liquid/liquid fractionation method was used to partition the methanolic

fraction. Three methanolic sub-fractions (F1, F2 and F3) were obtained from the fractionation. Anti-inflammatory activity of extracts was tested using pharmacological model of carrageenan-induced acute paw oedema in rats compared to that of aspirin (reference). After oral administration, aspirin (30 mg/kg) and extracts (15 and 30 mg/kg) significantly prevented carrageenan-induced paw oedema in rats from the 1st to 5th hours of experimentation. Study showed overall anti-inflammatory activity of methanolic sub-fractions. The most important effect was observed with the F3 during the first three hours with a kinetic inhibition of oedema similar to that of aspirin. These results suggest that the leaves of *Moringa oleifera* could be a potential source of anti-inflammatory drugs in treatment of diseases with an inflammatory component.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Moringa oleifera*, leaves, anti-inflammatory, methanolic sub-fractions.

INTRODUCTION

L'inflammation est l'une des réponses biologiques complexes des tissus vasculaires de l'organisme à de nombreux stimuli (Ferrero-Miliani et al., 2007; Phanse et al., 2012). Etant largement impliqués dans de très nombreuses pathologies surtout chroniques, les phénomènes inflammatoires constituent réellement une préoccupation majeure de santé publique. La thérapie anti-inflammatoire fait appel aux médicaments anti-inflammatoires qui sont largement utilisés mais ceux-ci peuvent être à l'origine de nombreux effets indésirables notamment gastriques. Face à toutes ces contraintes, les plantes médicinales traditionnelles pourraient constituer une alternative du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité en général, vis-à-vis des médicaments classiques (Khalil et al., 2006).

Moringa oleifera est une plante retrouvée dans les pays tropicaux et subtropicaux (Kheraro et Adam, 1973; Khalafalla et al., 2010; Hannan et al., 2014). Ses feuilles sont historiquement très utilisées pour leurs vertus culinaires et leurs nombreuses applications thérapeutiques surtout dans le domaine de l'inflammation (Faizi et al., 1995; Fahey, 2005; Staples et Herbst, 2005; Anwar et al., 2007; Cheenpracha et al., 2010) en Asie et en Afrique.

Une étude antérieure avait montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Moringa oleifera* et ses fractions méthanolique et acétonique entraînent une activité anti-inflammatoire chez le rat

(Ndiaye-Sy et al., 2013). La présente étude avait pour objectif de fractionner la fraction méthanolique de l'extrait hydro-alcoolique dont l'activité anti-inflammatoire était plus importante que celle acétonique et d'évaluer celle des sous-fractions méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* chez le rat.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Les feuilles de *Moringa oleifera* ont été récoltées au Jardin d'Expérimentation des Plantes Utiles de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (UCAD). Elles ont été identifiées au laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la FMPO de l'UCAD où un échantillon a été déposé. Elles ont ensuite été séchées à l'air libre à l'abri du soleil dans l'enceinte du laboratoire et pulvérisées. Cette pulvérisation a donné une poudre fine utilisée pour l'extraction et le fractionnement.

Matériel animal

L'étude a porté sur des rats mâles adultes de souche Wistar, de poids variant entre 100 grammes (g) et 200 g. Les animaux ont été élevés à l'animalerie du département de Pharmacie de la FMPO de l'UCAD.

Réactifs et solvants

Les solvants utilisés pour le fractionnement ont été fournis par Carlo Erba Reactif SA, (ESP). La carraghénine et l'acide acétyl salicylique (Aspirine) proviennent de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Appareil de mesure

La mesure du volume de la patte de rat a été effectuée en utilisant un pléthysmomètre à eau (APELEX 05 - 7150, Allende Bagneux France).

Fractionnement liquide/liquide de la fraction méthanolique (FM)

La fraction méthanolique (57,3 g) de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Moringa oleifera* (EHAMO) obtenue lors de notre précédente étude (Ndiaye Sy et al., 2013) a été fractionnée par chromatographie sur colonne de silice (Figure 1). 190 g de silice mouillée par le mélange acétate d'éthyle/méthanol (AE/MeOH: 7/3) ont été introduits dans la colonne de chromatographie. La fraction FM a été introduite dans la colonne et l'élution a été effectuée en utilisant un gradient de mélange AE/MeOH (7/3, 6/4, 4/6, 2/8). La colonne a été rincée par du méthanol et les différentes éluions ayant permis de partitionner la fraction méthanolique sont récapitulées dans le Tableau 1. Les extraits secs des sous-fractions méthanoliques (F1, F2 et F3) des feuilles de *Moringa oleifera* dissouts dans l'eau distillée ont été utilisés pour les tests pharmacologiques.

Activité anti-inflammatoire

Avant l'expérimentation, les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures et répartis en 8 lots de 5 comme suit :

- un lot témoin recevant de l'eau physiologique,
- deux lots traités par la F1 de la FM aux doses de 15 et 30 mg/kg,
- deux lots traités par la F2 de la FM aux doses de 15 et 30 mg/kg,
- deux lots traités par la F3 de la FM aux doses de 15 et 30 mg/kg,
- un lot référence traité par l'aspirine à la dose de 30 mg/kg.

Le volume initial (V₀) de la patte arrière droite de chaque rat a été mesuré à l'aide du pléthysmomètre. La patte est plongée dans la cellule de mesure en perpex contenant de l'eau saline et on fait

correspondre la cheville du rat au trait de jauge de l'appareil. La valeur du volume de la patte de rat est affichée sur l'appareil numérique à l'aide d'un transducteur de conception.

L'administration des différents traitements a été réalisée par gavage à la sonde gastrique à raison de 1ml pour 100 g de poids corporel. Trente minutes après, 50 µl de la solution de carraghénine à 1% ont été injectés sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque rat (Winter, 1962). Les mesures pléthysmométriques ont été effectuées sur une cinétique de 5 heures après induction de l'œdème par la solution de carraghénine à 1%.

Expression des résultats de l'activité anti-inflammatoire

Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) de chaque rat a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ AUG} = \frac{(V_t - V_0)}{V_0} \times 100$$

V_t = Volume de la patte de rat au temps
V₀ = Volume initial

L'activité anti-inflammatoire des produits testés a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH):

$$\% \text{ INH} = \frac{(\% \text{ AUG témoin} - \% \text{ AUG traité})}{\% \text{ AUG témoin}} \times 100$$

Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne plus ou moins erreur standard à la moyenne (\pm ESM). La comparaison des pourcentages moyens d'augmentation et d'inhibition du volume de la patte des rats entre les lots a été réalisée par analyse de variance (ANOVA) pour vérifier l'homogénéité des lots. Une différence significative a été indiquée par une valeur de $p < 0,05$ ($n=5$ représente le nombre d'expériences par groupe).

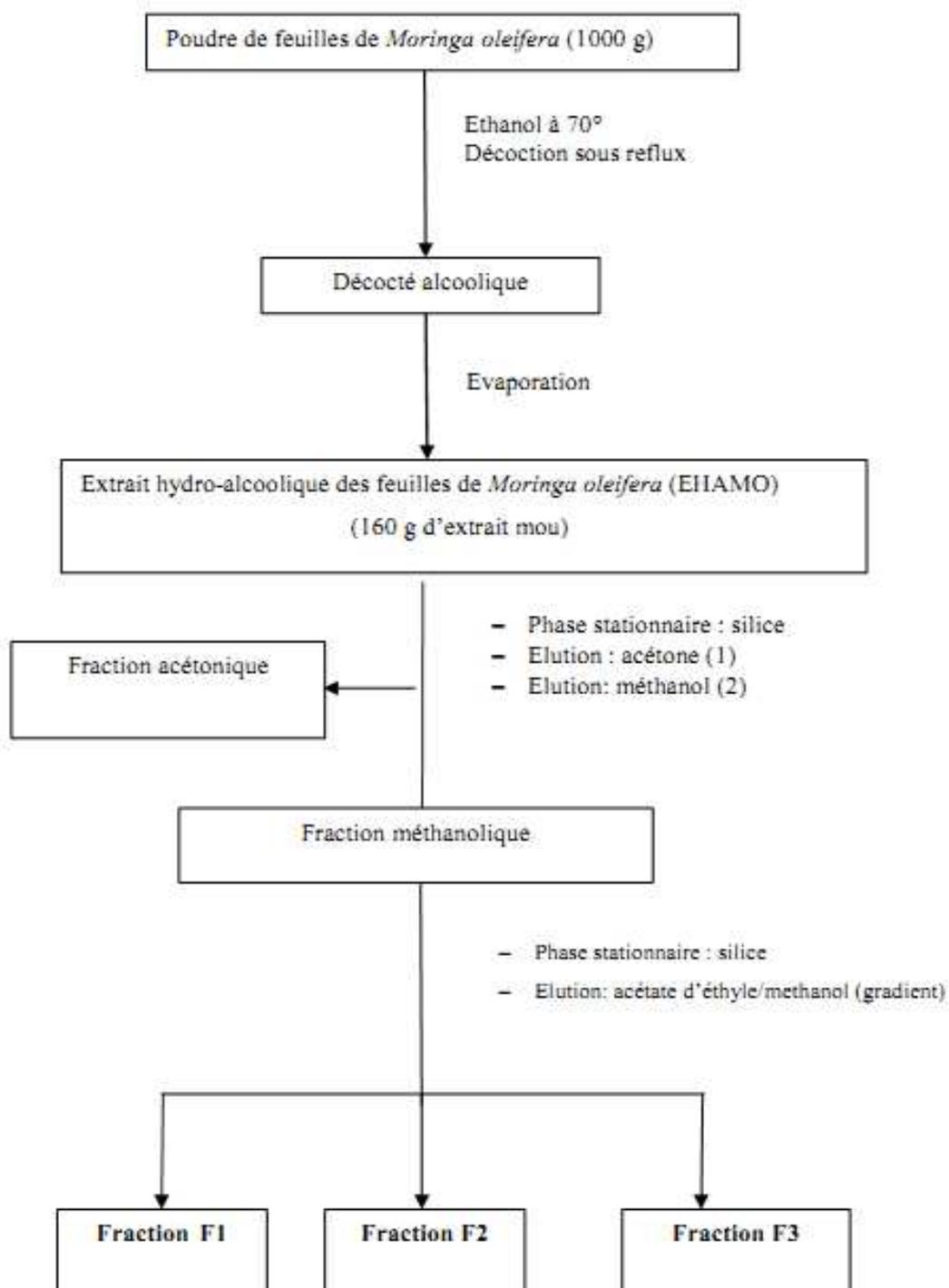


Figure 1: Obtention des différentes fractions à partir de l'EHAMO.

Tableau 1: Synopsis du fractionnement sur colonne de la FM.

Solvants	Proportions (%)	Volumes (ml)
AE/MeOH	70/30	350
AE/MeOH	60/40	200
AE/MeOH	40/60	200
AE/MeOH	20/80	200
MeOH	100	600

AE : acétate d'éthyle, MeOH : méthanol.

RESULTATS

Après fractionnement de la FM de l'EHAMO, 3 sous-fractions méthanoliques F1, F2 et F3 sont obtenues avec des rendements respectifs de 20,69%, 13,79% et 17,24%.

Avant l'expérimentation, la comparaison des volumes initiaux moyens des pattes de rats n'a montré aucune différence significative entre les différents lots. Après injection de la solution de carraghénine à 1%, une augmentation significative du volume de la patte des rats est observée dans le lot témoin ayant été traité par l'eau physiologique de la 1^{ère} à la 5^{ème} heure de l'expérience. Les sous-fractions méthanoliques F1, F2, F3, administrées *per os* aux doses de 15 et 30 mg/kg chacune et l'aspirine à 30 mg/kg, préviennent de manière significative ($p < 0,05$) l'œdème aigu de la patte de rat pendant toute la durée de l'expérience. Ces résultats sont

significativement différents de ceux du contrôle physiologique (Tableau 2).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre pour le produit de référence et pour toutes les sous-fractions testées, exceptée la F2 à 30 mg/kg, un effet anti-inflammatoire maximal dès la 1^{ère} heure qui décroît à la 2^{ème} heure mais qui se maintient jusqu'à la fin de l'expérience (Figure 2). Les pourcentages d'inhibition à la 1^{ère} heure sont de $92,53 \pm 0,82$ pour l'aspirine, de $56,69 \pm 4,8\%$; $61,75 \pm 6,08\%$ et $72,54 \pm 7,53\%$ respectivement pour F1, F2 et F3 à la dose de 15 mg/kg et de $56,24 \pm 6,4$ et $69,64 \pm 8,26\%$ pour F1 et F3 à la dose de 30 mg/kg. L'activité anti-inflammatoire maximale de la F2 à 30 mg/kg n'est obtenue qu'à partir de la 3^{ème} heure avec $58,66 \pm 6,98\%$ d'inhibition et elle diminue à partir de la 4^{ème} heure de l'expérience.

Tableau 2: Pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte de rat en fonction du temps.

Traitements (Doses)	%AUG 1H	%AUG 2H	%AUG 3H	%AUG 4H	%AUG 5H
Eau physiologique (1ml/100g)	45,23±10,73	65,62±13,58	89,24±20,35	96±12,11	103,42±8,95
F1 (15 mg/kg)	19,59±4,96*	30,77±5,3*	44,61±5,23*	63,92±7,1*	72,74±7,62*
F1 (30 mg/kg)	19,79±3,06	30,14±5,99	43,39±8,09	49,32±10,02*	57,82±10,72*
F2 (15 mg/kg)	17,3±3,44*	28,53±3,13*	43,98±4,31	52,67±4,17*	61±4,06*
F2 (30 mg/kg)	20,07±3,34*	30,11±5,56*	36,89±4,48*	42,92±3,5*	56,2±4,83*
F3 (15 mg/kg)	12,42±1,7*	20,39±3,26*	39,52±3,43*	49,43±3,97*	58,79±3,27*
F3 (30 mg/kg)	13,73±1,5*	22,1±2,78*	37,28±5,1*	48,77±3,3*	58,1±4,64*
Aspirine (30 mg/kg)	3,38±0,82*	7,74±2,3*	16,26±5,63*	24,1±6,14*	31,9±5,4*

n = 5 dans chaque lot. ; Chaque valeur représente la moyenne ± EMS (Erreur Moyenne Standard) ; * = $p < 0,05$ indique une différence significative par rapport au lot témoin.

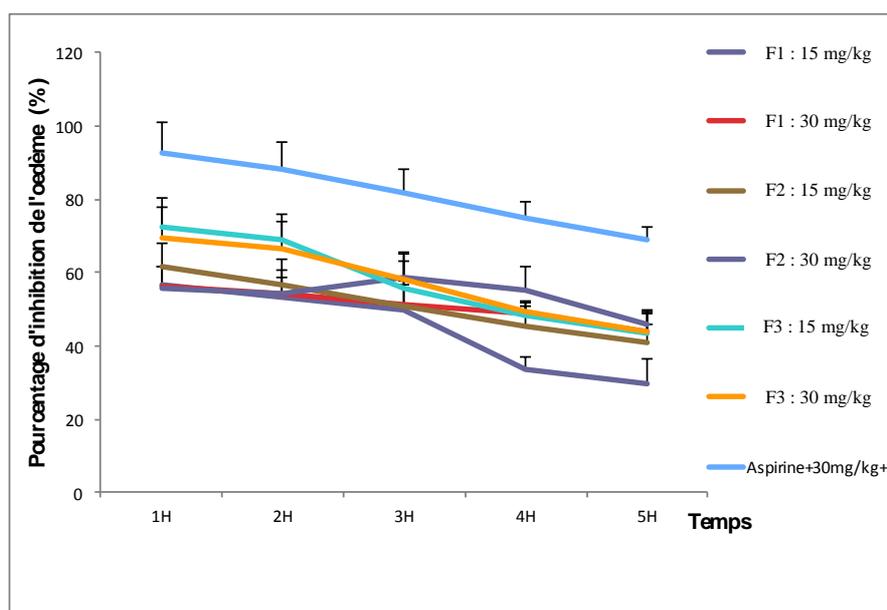


Figure 2: Evolution du pourcentage d'inhibition de l'œdème des sous-fractions méthanoliques (F1, F2, F3) des feuilles de *Moringa oleifera* et de l'aspirine en fonction du temps chez le rat.

DISCUSSION

Dans une précédente étude, l'activité anti-inflammatoire de l'EHAMO et de ses fractions méthanolique et acétonique avait été montrée dans un modèle expérimental d'œdème aigu de la patte des rats induit par la carraghénine. L'étude est poursuivie en procédant à un fractionnement de la FM dont l'activité anti-inflammatoire était plus importante que celle de la FA (Ndiaye-Sy et al., 2013). La méthode de séparation liquide-liquide de la FM a permis d'obtenir trois sous-fractions F1, F2 et F3. L'étude de l'administration *per os* de F1, F2 et F3 à 15 et 30 mg/kg chacune et de l'aspirine à 30 mg/kg entraîne un effet inhibiteur significatif sur l'augmentation du volume de la patte des rats pendant toute la durée de l'expérimentation. Pour la plupart des sous-fractions testées de même que pour l'aspirine, l'activité anti-inflammatoire la plus importante est obtenue à la 1^{ère} heure. Cependant, une décroissance de leur activité est observée dès la 2^{ème} heure mais, elle se maintient jusqu'à la fin de

l'expérience. Concernant la sous-fraction F2 à 30 mg/kg, c'est à la 3^{ème} heure de l'expérience que son activité anti-inflammatoire est maximale et elle décroît à partir de la 4^{ème} heure.

Des auteurs ont montré que l'inflammation est caractérisée par une succession de phases dont la 1^{ère} qui dure 1H à 1H30 min est la phase initiale suivie d'une 2^{ème} phase tardive qui va de 2H à plus de 5H (Spector et Willoughby, 1960; Vinegar et al., 1969; Crunkhon et Meacock, 1971; Di Rosa et al., 1971; Holsapple et al., 1980; Morris, 2003; Khan et al., 2009). Nos résultats permettent de constater que les sous fractions méthanoliques F1, F2 et F3 tout comme l'aspirine agissent sur la phase initiale de l'inflammation due à la libération de nombreux médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, le facteur d'activation plaquettaire (Crunkhon et Meacock, 1971) mais aussi sur la phase tardive principalement caractérisée par une infiltration cellulaire dans le foyer

inflammatoire et par la libération de prostaglandines dans les tissus (Di Rosa et al., 1971; Morris, 2003). Cette seconde phase est également attribuée à l'induction de la cyclo-oxygénase de type II sur l'œdème de la patte de rat (Nantel et al., 1999) et les médicaments anti-inflammatoires tels que l'aspirine agissent en bloquant cette enzyme au niveau de la cascade arachidonique.

Cette étude montre de manière globale un effet anti-inflammatoire pour les sous-fractions testées des feuilles de *Moringa oleifera*. Il ressort, d'après l'analyse statistique, qu'il n'existe pas de différence d'action anti-inflammatoire significative entre les deux doses testées de chaque fraction. Les résultats permettent en outre de remarquer que l'activité anti-inflammatoire la plus importante entre les différentes sous-fractions méthanoliques est obtenue avec la F3 surtout aux trois 1^{ères} heures de l'expérience montrant une cinétique d'effet anti-inflammatoire similaire à celle de l'aspirine. Par contre, la sous-fraction méthanolique F2 semble plus efficace à partir de la 3^{ème} heure.

En comparant ces résultats avec ceux de notre précédente étude (Ndiaye Sy et al., 2013), il est constaté que les sous-fractions F1, F2 et F3 sont plus ou moins actives que l'EHAMO et la FM. Cette diminution sensible de leur efficacité sur l'œdème de la patte des rats pourrait résulter du fractionnement de la FM qui entraînerait une répartition des composés chimiques bioactifs contenus dans l'extrait de manière isolée entre les différentes sous-fractions.

Des travaux ont démontré que les substances chimiques polaires sont plus actives dans la phase aiguë de l'inflammation alors que celles apolaires le sont plus dans la phase tardive (Singh et Pandey, 1997). Par ailleurs, il est apparu que l'activité anti-inflammatoire de plusieurs plantes est corrélée à leur teneur importante en substances chimiques phénoliques telles que les flavonoïdes, les terpénoïdes (Parmar and Ghosh, 1978; Ahmad et al., 1983; Calixto et al., 2000). Nos résultats vont dans le même

sens et supposent que les sous-fractions méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* qui, pour la plupart, exercent un effet anti-inflammatoire maximal une heure après induction de l'œdème seraient plus de nature polaire et que celles qui entraînent une activité maximale à partir de la 3^{ème} heure, seraient plus apolaires. Il est suggéré que la sous-fraction F3 de la FM renfermerait plus de composants chimiques polaires, qui seraient responsables de l'activité anti-inflammatoire, que les autres sous-fractions F1 et F2.

Conclusion

Il ressort de cette étude que les feuilles de *Moringa oleifera* possèdent majoritairement des substances chimiques polaires à activité anti-inflammatoire qui sembleraient agir aussi bien sur la phase initiale que sur la phase tardive de l'inflammation. La sous-fraction F3 montre une meilleure activité anti-inflammatoire par rapport aux sous-fractions F1 et F2.

CONFLIT D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent que ce travail n'est sujet à aucun conflit d'intérêt concernant la contribution de chaque auteur.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Ce travail a été réalisé en collaboration entre les différents auteurs. ANS et ADF ont initié les travaux. ANS a été responsable de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*, de l'exploitation des résultats et de la rédaction du manuscrit. ADF a supervisé et AOS a réalisé l'extraction et le fractionnement. EB a autorisé la réalisation de la partie chimique dans son laboratoire. AMD, MN, GYS et AOS ont contribué à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les responsables des laboratoires de Pharmacologie et Pharmacodynamie et de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de

Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et les techniciens pour leur aide à la bonne réalisation des travaux.

REFERENCES

- Ahmad MM, Qureshi S, Shah A, Qazi NS, Rao RM, Al Bakiri M. 1983. Anti-inflammatory activity of *Caralluma tuberculata* alcoholic extract. *Fitoterapia*, **46**: 357-360.
- Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. Res.*, **21**(1): 17-25. DOI: 10.1002/ptr.2023
- Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Cechinel Filho V, Yunes RA. 2000. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother. Res.*, **14**: 401-418. DOI: 10.1002/1099-1573(200009)14:63.0.
- Cheenpracha S, Park EJ, Yoshida WY, Barit C, Wall M Pezzuto JM, Chang LC. 2010. Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant *Moringa oleifera* fruits. *Bioorg. Med. Chem.*, **18**: 6598-6602. DOI: 10.1016/j.bmc.2010.03.057
- Crunkhon P, Meacock SER. 1971. Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenan. *Br. J. Pharmacol.*, **42**: 392-402.
- Di Rosa M, Giroud JP, Willoughby DA. 1971. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.*, **104**: 15-29. DOI: 10.1002/path.1711040103.
- Fahey JW. 2005. *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for Life Journal*, **1**: 5.
- Faizi S, Siddiqui BS, Saleem R, Siddiqui S, Aftab K, Gilani AH. 1995. Fully acetylated carbamate and hypotensive thiocarbamate glycosides from *Moringa oleifera*. *Phytochemistry*, **38**(4): 957-963. DOI: 10.1016/0031-9422(94)00729-D
- Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. 2007. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin. Exp. Immunol.*, **147**: 227-235. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x
- Hannan Md A, Kang JY, Mohibullah M, Hong, YK, Lee HS, Choi JS. 2014. *Moringa oleifera* with promising neuronal survival and neurite outgrowth promoting potentials. *J. Ethnopharmacol.*, **152**: 142-150. DOI: 10.1016/j.jep.2013.12.036.
- Holsapple MP, Schuner M, Yim GKW. 1980. Pharmacological modulation of oedema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine. *Agents and Actions*, **10**: 368-373. DOI: 10.1007/BF01971442
- Khalafalla MM, Abdellatif E, Dafalla HM, Nassrallah AA, Aboul-Enein KM, Lightfoot DA, El-Deeb FE, El-Shemy HA. 2010. Active principle from *Moringa oleifera* Lam leaves effective against two leukemias and a hepatocarcinoma. *African J. Biotechnol.*, **9**(49): 8467-8471. DOI: 10.5897/AJB10.996
- Khalil NM, Sperotto JS, Manfron MP. 2006. Anti-inflammatory activity and acute toxicity of *Dodonaea viscosa*. *Fitoterapia*, **77**: 478-480. DOI: 10.1016/j.fitote.2006.06.002
- Khan I, Nisar M, Ebad F, Nadeem S, Saeed M, Khan H. 2009. Anti-inflammatory activities of Sieboldogenin from *Smilax china* Linn.: experimental and computational studies. *J. Ethnopharmacol.*, **121**(1): 175-177. DOI: 10.1016/j.jep.2008.10.009
- Kheraro J, Adam JG. 1973. *La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle : Plantes Médicinales et Toxiques*. Edition Vigot et Frères: Paris: 597-602.

- Morris CJ. 2003. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.*, **225**: 115-121. DOI: 10.1385/1-59259-374-7:115
- Nantel F, Denis D, Gordon R, Northey A, Cirino M, Metters KM, Chan CC. 1999. Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *Br. J. Pharmacol.*, **28**: 853-859. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702866
- Parmar NS, Ghosh MMN. 1978. Current trends in flavonoid research. *Ind. J. Pharm.*, **12**: 213-228.
- Phanse MA, Patil MJ, Chaudhari AKPD, Patel B. 2012. *In-vivo* and *in-vitro* screening of medicinal plants for their anti-inflammatory activity : an overview *J. Appl. Pharm. Sci.*, **2**(6): 19-33. DOI: 10.7324/JAPS.2012.2704
- Singh RK, Pandey BL. 1997. Further study of anti-inflammatory effects of *Abies pindrow*. *Phytother. Res.*, **11**: 535-537. DOI: 10.1002/(SICI)1099-1573(199711)11:7<535::AID-PTR146>3.0.CO;2-F
- Spector WG, Willoughby DA. 1960. The suppression by antiesterases of increased capillary permeability in acute inflammation. *J. Pathol. Bacteriol.*, **79**: 21-35. DOI: 10.1002/path.1700790104
- Staples GW, Herbst DRA. 2005. *Tropical Garden Flora, Plants Cultivated in the Hawaiian Islands and Other Tropical Places*. Bishop Museum Press: Honolulu; 413p.
- Sy Ndiaye A, Fall AD, Ndiaye M, Gassama BK, Dièye AM, Sy GY, Faye B. 2013. Etude de l'activité antiinflammatoire et de l'effet sur la muqueuse gastrique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*) chez le rat. *Dakar Médical*, **58**(3): 235-242.
- Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. 1969. Biphasic development of carrageenan oedema in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **166**(1): 96-103.
- Winter CA, Risley EA, Nussg W. 1962. Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**: 544-547. DOI: 10.3181/00379727-111-27849