



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2023-2024

N° D'ORDRE : 119

THESE DE DOCTORAT

Mention : Biologie-Santé

Spécialité : Biochimie-Pharmacologie

Etude phytochimique et biologique d'un remède à base de *Ficus capensis* Thunb., *Newbouldia laevis* P. Beauv. et *Carpolobia lutea* G. Don, utilisé par les tradipraticiens de la région du Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire).

CANDIDAT

Nom : SIBRI

Prénoms : Jean François

JURY

- Président :** M. AYOLIE Koutoua,
Professeur Titulaire, Université Jean Lorougnon Guédé
- Directeur :** M. OKOU Obou Constantin,
Maître de Conférences, Université Jean Lorougnon Guédé
- Rapporteur :** M. DIOMANDE Massé,
Maître de Conférences, Université Jean Lorougnon Guédé
- Examineur :** M. KPOROU Kouassi Elisée,
Maître de Conférences, Université Jean Lorougnon Guédé
- Examineur :** M. TRA BI Irié Otis,
Maître de Conférences, Ecole Normale Supérieur-Abidjan

Soutenue publiquement
le : ...14/12/2024.....

Table des matières

DEDICACE	v
AVANT-PROPOS	vi
REMERCIEMENTS	vii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	x
LISTE DES TABLEAUX	xii
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES ANNEXES	xv
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	5
1. Drépanocytose	6
1.1. Définition	6
1.2. Historique	7
1.3. Epidémiologie et distribution géographique	8
1.4. Modes de transmissions	9
1.5. Syndromes drépanocytaires	10
1.6. Mécanisme physiopathologique de la drépanocytose	11
1.6.1. Fonction de l'hémoglobine humaine	11
1.6.2. Polymérisation : Caractéristiques de l'hémoglobine S	12
1.6.3. Effets de l'hémoglobine fœtale sur la polymérisation de l'hémoglobine S	12
1.6.4. Conséquences de la polymérisation	13
1.7. Anomalies structurales du globule drépanocytaire	13
1.7.1. Altération des lipides	13
1.7.2. Altération des protéines	14
1.8. Anomalies fonctionnelles	15
1.8.1. Déshydratation des globules rouges	15
1.8.2. Anomalies hémorhéologiques	15
1.8.3. Viscosité sanguine	16
1.8.4. Déformabilité érythrocytaire	16
1.8.5. Agrégation érythrocytaire	16
1.9. Acteurs de la physiopathologie	16

1.9.1. Adhérence cellulaire : Interactions cellulaires	17
1.10. Stress oxydant.....	21
1.10.1. Espèces réactives de l’oxygène.....	21
1.10.2. Sources du stress oxydant dans la drépanocytose.....	23
1.10.3. Système de défense antioxydant	25
1.11. Manifestations cliniques de la drépanocytose.....	27
1.11.1. Crises vaso-occlusives	28
1.11.2. Anémie hémolytique.....	28
1.11.3. Accident vasculaire cérébrale.....	29
1.11.4. Susceptibilité accrue aux infections.....	29
1.11.5. Autres complications chroniques de la drépanocytose	30
1.12. Prise en charge de la drépanocytose.....	30
1.12.1. Analgésiques	30
1.12.2. Hydroxy-urée.....	30
1.12.3. Transfusion sanguine	31
1.12.4. Greffe de la moelle osseuse.....	31
1.12.5. Prévention	31
2. Cellules sanguines	33
2.1. Hématopoïèse.....	33
2.2. Sang.....	33
2.2.1. Composition et fonction du sang	33
3. Plantes étudiées	34
3.1. Description des plantes et leurs positions systématiques	34
3.1.1. Position systématique de <i>Newbouldia laevis</i>	36
3.1.2. Position systématique de <i>Ficus capensis</i>	38
3.1.3. Position systématique de <i>Carpolobia lutea</i>	39
3.2. Utilisations ethnomédicales.....	40
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES.....	42
1. Matériel.....	43
1.1. Matériel biologique	43
1.1.1. Matériel végétal.....	43
1.1.2. Matériel animal.....	43

1.1.3. Sang de personnes drépanocytaires	43
1.2. Matériel technique.....	44
2. Méthodes.....	45
2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	45
2.2. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique.....	46
2.3. Tri phytochimique des différents extraits	46
2.3.1. Mise en évidence qualitative des composés chimiques	46
2.3.2. Etude quantitative des composés chimiques.....	49
2.4. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	50
2.4.1. Test au DPPH.....	50
2.4.2. Test FRAP	51
2.5. Détermination de la teneur en protéines.....	52
2.6. Détermination de la teneur en lipides totaux	53
2.7. Détermination de la teneur en fibres.....	53
2.8. Détermination de la teneur en glucides totaux.....	54
2.9. Détermination de la valeur énergétique.....	54
2.10. Technique de minéralisation et mise en solution de l'échantillon	54
2.10.1. Dosage du Calcium	55
2.10.2. Dosage du Magnésium.....	56
2.10.3. Dosage du Fer.....	56
2.10.4. Dosage du Sodium.....	56
2.10.5. Dosage du Zinc	57
2.10.6. Dosage du Cuivre	57
2.11. Test de la fragilité membranaire des érythrocytes	57
2.12. Détermination de l'activité analgésique.....	58
2.13. Activité anti-inflammatoire.....	59
2.14. Analyses statistiques.....	60
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	61
1. Résultats.....	62
1.1. Rendement	62
1.2. Métabolites secondaires des différents extraits	62
1.2.1. Analyse qualitative (Criblage phytochimique).....	62

1.2.2. Analyse quantitative.....	63
1.3. Composition minérale des extraits (EAR et EHR)	64
1.4. Composition en macromolécules des extraits (EAR et EHR)	66
1.5. Activité anti-oxydante des différents extraits	67
1.5.1. Pouvoir inhibiteur du radical DPPH.....	67
1.5.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique en ion ferreux.....	68
1.6. Effet des concentrations de NaCl, de phenylalanine et les extraits sur la fragilité membranaire des érythrocytes SS	69
1.6.1. Effet des concentrations de NaCl.....	69
1.6.2. Effet de la phénylalanine	69
1.6.3. Effet des différents extraits	69
1.6.4. Effet des extraits sur la fragilité corpusculaire moyenne	73
Lors des tests de la fragilité membranaire, il a été obtenu pour l'extrait EAR aux doses suivantes : 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL, des valeurs de CI ₅₀ respectivement de : 2,19 ; 2,41 ; 2,80 ; 3,04 et 3,43. Quant à l'extrait EHR à ces mêmes doses, il a permis d'avoir des valeurs de CI ₅₀ respectivement de : 2,48 ; 2,75 ; 3,10 ; 3,47 et 3,98. Cependant, étant donné que la fragilité corpusculaire est liée à la CI ₅₀ qui a été déterminée graphiquement, alors, lorsque celle-ci est plus faible, la substance utilisée est bonne. Par conséquent, il est possible de dire que l'extrait EAR a donné les meilleures CI ₅₀ aux différentes doses.	
1.7. Activité anti-inflammatoire des différents extraits	73
1.8. Activité analgésique des différents extraits.....	76
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	96
ANNEXES	123
PUBLICATIONS	131

DEDICACE

A

Dieu l'éternel

Éternel mon Dieu, tu m'as donné le souffle de vie et tu ne m'as jamais abandonné quelles que soient les circonstances. Tu m'as toujours guidé sur les sentiers du succès. Rien de bon sur cette terre ne peut s'accomplir sans ton consentement. Je reconnais que ce travail est l'œuvre de tes mains. Gloire et honneur te soient rendus !

Mon père feu Sibri Yagba Ernest et à ma mère feu Blé Sonia Sylvie

Vous aviez pour devise : « la réussite de tous vos enfants par les études ». Vos vœux se réalisent en votre absence. J'aurais tellement voulu que vous soyez présents pour goûter au fruit de votre semence. C'est le Seigneur qui a décidé ainsi, que son nom soit béni.

Ma fille SIBRI Namani Bérénice Victoire et sa mère LAGO Yohou Barbara Rachelle

Vous avez été une source de motivation et d'inspiration.

Mon oncle Blé Wanda Christian

Tu n'as jamais failli à ton projet, celui de me soutenir financièrement comme moralement jusqu'à ma réussite totale dans les études. Tu as joué le rôle d'un père en m'inculquant la persévérance, l'optimisme et la foi dans toute entreprise. Que Dieu te le rende au centuple.

Mes frères et mes sœurs

Puisse ce mémoire récompenser les difficiles années que nous avons traversées ensemble. Merci pour votre soutien et vos encouragements. Que Dieu fasse que nous soyons toujours unis.

Mes autres Parents

Que ce travail soit une consolation pour tous les sacrifices que vous avez faits à mon égard.

AVANT-PROPOS

La réalisation de ce travail a bénéficié de la collaboration du Laboratoire de Biologie et Santé de l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY et de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Il s'inscrit dans le vaste programme de valorisation scientifique de la pharmacopée traditionnelle africaine. Il vise à mettre au point des médicaments à base de plantes médicinales efficaces, à prix certainement abordables et pouvant aider dans le traitement de certaines maladies telle que la drépanocytose. Une telle recherche scientifique a l'avantage de permettre de connaître les propriétés biochimiques, pharmacologiques et toxicologiques des médicaments issus des plantes médicinales. Mais, elle peut permettre également de trouver sûrement d'autres nouvelles séries de médicaments.

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette thèse a été un voyage semé d'expériences enrichissantes et de soutien inestimable. C'est avec une gratitude immense que je souhaite exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui ont apporté leur contribution, qu'elle ait été directe ou indirecte, à l'élaboration de ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à Madame ADOHI KROU Viviane, Professeur Titulaire en Physique Atomique, et Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour la qualité de son enseignement, la pertinence de ses conseils et son engagement dévoué pour le progrès de notre université.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers Monsieur SORO Dogniméton, Professeur Titulaire en Agropédologie, et Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, en charge de la Pédagogie, de la Vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique, pour son implication dans les réformes académiques bénéfiques à notre cursus et pour sa disponibilité sans faille.

Un grand merci à Monsieur KONE Issiaka, Professeur Titulaire en Sociologie des organisations, et Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, chargé de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures, pour son soutien, la richesse de ses enseignements, ses conseils avisés et son travail acharné pour l'amélioration continue de l'université.

Je suis profondément reconnaissant envers Madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences en Phytopathologie, et Directrice de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie, pour ses efforts inlassables visant à garantir une formation de qualité au sein de l'UFR.

Ma reconnaissance est adressée à Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire en Biochimie-Nutrition, et Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation pour m'avoir permis d'utiliser les installations et équipements du laboratoire pendant mes recherches.

Un grand merci à Monsieur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie et Responsable de la Filière Biologie Santé à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour son altruisme, ses précieux conseils, sa disponibilité constante et son habilité remarquable à surmonter les obstacles.

Mes sincères remerciements à Monsieur AYOLIE Koutoua, Professeur Titulaire en Agro-physiologie, pour l'honneur que vous me faites, en présidant ce jury, malgré un emploi du temps chargé.

J'adresse ma profonde gratitude à Monsieur OKOU Obou Constantin, Maître de Conférences en Biochimie-Pharmacologie, et Directeur Scientifique de cette thèse, anciennement Responsable de la Filière SVT à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour sa générosité, ses conseils avisés, sa disponibilité et son efficacité à la résolution des problèmes.

Je suis reconnaissant envers Monsieur DIOMANDE Massé, Maître de Conférences en Biochimie-Technologie des Aliments, pour avoir accepté de superviser cette thèse, ainsi qu'à Monsieur KPOROU Kouassi Elisée, Maître de Conférences en Pharmacologie-Biochimie et Monsieur TRA BI Irié Otis, Maître de Conférences en Biochimie-Pharmacologie, pour avoir consenti à évaluer ce travail en tant que membres du jury.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers Monsieur AKAKPO-Akué Joel, Maître de Recherches en Biochimie-Microbiologie à l'Université Félix Houphouët Boigny, pour sa confiance, son exigence professionnelle, sa disponibilité et ses conseils judicieux lors des travaux de Laboratoire et de la rédaction de ce mémoire. Je lui suis également reconnaissant pour son soutien financier, ses orientations et son assistance durant la rédaction de ce mémoire. Que le TOUT PUISSANT vous accorde ses bénédictions.

Je remercie Monsieur OBOUAYEBA Abba Pacôme, Maître de Conférences en Biochimie et Pharmacologie, et Responsable du Parcours de Biologie-Santé à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour son soutien tout au long de ce parcours.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur KPOROU Kouassi Elisée, Maître de Conférences en Pharmacologie-Biochimie, et Coordinateur du GeRProPhaT, pour avoir mis à notre disposition un espace de travail adapté à nos besoins de recherche.

J'exprime ma gratitude à l'ensemble de mes enseignants en Biologie-Santé, en particulier les Docteurs OUATTARA Abou, KOFFI Allali Eugène, COULIBALY Bakary, GBOGBO Moussa AKRE Djako Sosthène Thierry, pour la qualité de leurs enseignements et la pertinence de leurs conseils.

Un merci spécial à Madame KPLE Tatiana Kangah Mireille Epouse Coulibaly, Docteur au Laboratoire de Biologie et Santé pour son assistance précieuse, sa disponibilité, sa rigueur et pour

avoir été un guide exemplaire durant l'accomplissement de ces travaux. Que le TOUT PUISSANT vous bénisse.

Je suis reconnaissant envers le Laboratoire de Biologie et Santé de l'Université Felix HOUPHOUET-BOIGNY pour m'avoir permis d'utiliser leurs salles et leur matériel lors de mes expérimentations.

Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude à ma famille :

- à mon oncle BLE Wanda Christian, Adjudant de la Gendarmerie National de Côte d'Ivoire et à son épouse, pour avoir financé mes études depuis le lycée jusqu'au Doctorat. Que le TOUT PUISSANT vous bénisse ;
- à mon oncle BLE William, pour ses conseils avisés et son soutien constant ;
- à ma tante BAI Yohou Ana et son époux BOUAKE Traoré pour leur aide financière et leurs conseils éclairés ;
- à tous les autres membres de ma famille, pour leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours académique, qui a été essentiel à la réalisation de ce mémoire.

Je remercie également certaines personnes qui ont joué un rôle crucial dans l'élaboration de ce travail :

- aux docteurs SORO M'béfèhè, ABOLI Tano-Bla Félicité, YAO Jean-Jaurès ;
- aux étudiants de Biologie-Santé pour leur soutien et leur solidarité.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

APG : Angiosperms Phylogeny Group (classification phylogénétique)

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CI₅₀ : Concentration inhibitrice 50

DO : Densité Optique

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EAR : Extrait Aqueux de la Recette

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette

EQ : Equivalent de Quercétine

ERA : Espèces Réactives de l'Azote

ERO : Espèces réactives de l'Oxygène

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Parameter

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

Hb A : Hémoglobine A

Hb F : Hémoglobine fœtale

Hb S : Hémoglobine S

IgG : Immunoglobuline G

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit

NO : Monoxyde d'azote

NOS : Nitriques Oxydes Synthases

O²⁻ : Anion superoxyde

OH[•] : Radical hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PC : Phosphatidylcholine

PE : Phosphatidyléthanolamine

pH : Potentiel hydrogène

PS : Phosphatidylserine

SM : Sphingomyéline

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont AS..... 9

Tableau II : Statut hémoglobinique des enfants lorsqu'un parent est AS et l'autre SS..... 9

Tableau III : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont SS 10

Tableau IV : Rendement des extraits aqueux et hydro-éthanolique 62

Tableau V : Phytocomposés des extraits EAR et EHR..... 62

Tableau VI : Composition minérale des extraits EAR et EHR en mg/100 g..... 65

Tableau VII : Composition en macroélément et en valeur énergétique des extraits EAR et EHR
..... 66

Tableau VIII : Nombre de spasmes et taux d'inhibition de la douleur par les extraits EAR, EHR
et l'ibuprofène 77

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Globules rouges normaux et falciformés.....	6
Figure 2 : Répartition géographique de l'hémoglobine S (Mpiana <i>et al.</i> , 2012).....	9
Figure 3 : Molécule d'hémoglobine.....	11
Figure 4 : Feuilles et fleurs de <i>Newbouldia laevis</i>	36
Figure 5 : Feuilles de <i>Ficus capensis</i>	37
Figure 6 : Feuilles et fruits de <i>Carpolobia lutea</i>	39
Figure 7 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits (EAR et EHR).	63
Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits (EAR et EHR).	64
Figure 9 : Pouvoir inhibiteur du DPPH par les extraits (EAR et EHR).....	67
Figure 10 : Pouvoir réducteur des extraits EAR et EHR.....	68
Figure 11 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 0,625 mg/mL d'extrait	70
Figure 12 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 1,25 mg/mL d'extrait	71
Figure 13 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 2,5 mg/mL d'extrait	71
Figure 14 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 5 mg/mL d'extrait	72
Figure 15 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 10 mg/mL d'extrait	72
Figure 16 : Variation du taux de croissance de l'œdème des rats traités avec l'extrait EHR	74
Figure 17 : Variation du taux de croissance de l'œdème des rats traités avec l'extrait EAR	75
Figure 18 : Variation du taux d'inhibition de l'œdème des rats traités avec du diclofénac et de l'extrait EHR.....	75
Figure 19 : Variation du taux d'inhibition de l'œdème des rats traités avec du diclofénac et de l'extrait EAR.....	76
Figure 20 : Nombre de torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EAR	78
Figure 21 : Nombre de torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EHR	79
Figure 22 : Taux d'inhibition des torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EAR.....	80

Figure 23 : Taux d'inhibition des torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EHR..... 81

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'enquête : identification de plantes médicinales pour traitement d'une pathologie..... xvi

Annexe 2 : Fiche d'enquête sur les personnes drépanocytaires xix

Annexe 3 : Matériel technique et biologique xxiii

INTRODUCTION

La drépanocytose est une maladie génétique du sang qui affecte la structure et la fonction de l'hémoglobine, une molécule responsable du transport de l'oxygène dans les globules rouges (Kugler, 2020). Elle est causée par une mutation ponctuelle du gène de la chaîne bêta de l'hémoglobine, qui entraîne le remplacement d'un acide aminé (acide glutamique) par un autre (valine) (Lamine *et al.*, 2017). Cette modification rend l'hémoglobine sensible à la désoxygénation, ce qui provoque sa polymérisation et la déformation des globules rouges en forme de faucille (falciformation) (Huynh-Moynot *et al.*, 2011 ; Aubry & Gaüzère, 2019). Les globules rouges falciformés sont plus rigides, fragiles et adhérents aux vaisseaux sanguins que les globules rouges normaux. Cet état de fait entraîne une anémie hémolytique chronique et des crises vaso-occlusives douloureuses (Lamarre, 2013). La drépanocytose est également associée à un état inflammatoire et oxydatif chronique, ce qui contribue au dysfonctionnement endothélial et à la pathologie vasculaire. Les formes graves de drépanocytose sont rencontrées chez les individus homozygotes SS ou les doubles hétérozygotes composites, c'est-à-dire si les individus possèdent l'allèle HbS et une autre hémoglobinopathie, comme par exemple l'hémoglobine C ou β -thalassémie (Koudougou, 2004 ; Eaton & Bunn, 2017). La drépanocytose est surtout répandue dans les zones tropicales. Elle se transmet par hérédité et est influencée par des facteurs comme les migrations, les unions entre parents et le manque de connaissance du statut génétique. Elle affecte plus de 5 % de la population mondiale (OMS, 2011). En Afrique Subsaharienne et Centrale, 15 % à 25 % des gens portent le gène responsable de la drépanocytose (Aubry & Gaüzère, 2019). Chaque année, 275 000 enfants naissent avec cette maladie en Afrique, dont 85 % en Afrique Subsaharienne (Weatherall & Clegg, 2001 ; Piel, 2017). C'est une maladie hétérogène, dont la sévérité et les manifestations cliniques varient selon le génotype, l'environnement et les facteurs individuels. Ainsi, la prise en charge de la drépanocytose repose sur la prévention et le traitement des complications aiguës et chroniques, ainsi que sur la correction de l'anémie par la transfusion sanguine ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Toutefois, malgré les progrès thérapeutiques, la drépanocytose reste une maladie grave qui réduit l'espérance et la qualité de vie des patients. En raison de sa fréquence et de sa gravité, elle constitue un problème de santé publique dans de nombreuses régions. En Afrique, où l'on enregistre, dans au moins 40 pays, des taux de prévalence du gène β s variant entre 2 % et 30 %, la mortalité et la morbidité dues à la drépanocytose sont élevées (OMS, 2010). En Côte d'Ivoire, la prévalence du gène de la drépanocytose varie de 10 % à 30 % (Sangaré *et al.*, 1998 ; Kouakou, 2017). Selon l'OMS, les

décès dus aux complications de la drépanocytose touchent principalement les enfants de moins de cinq ans, les adolescents et les femmes enceintes. Cette maladie monogénique grave, qui se manifeste de manière très variable, présente une physiopathologie compliquée, des options thérapeutiques limitées, et suscite de nombreuses questions. Au plan physiopathologique, la drépanocytose implique deux changements significatifs : la transformation en gel de l'HbS désoxygénée et la déformation en faucille des globules rouges, facteurs déclencheurs de la crise douloureuse. Elle est considérée comme une maladie grave avec des symptômes cliniques principalement caractérisés par des crises vaso-occlusives extrêmement douloureuses, des complications liées à l'anémie, l'ischémie et les infections. Actuellement, plusieurs maladies génétiques comme la drépanocytose ne connaissent pas de traitement curatif avéré (Lesage *et al.*, 2015). Cependant, plusieurs solutions thérapeutiques sont proposées pour lutter contre cette maladie, notamment la greffe de moelle osseuse, la chimiothérapie et la thérapie génique. Des traitements symptomatiques, tels que les transfusions sanguines et les analgésiques, sont également utilisés (Mellouli & Bejaoui, 2008). Ces méthodes sont souvent coûteuses et très spécialisées, nécessitant des infrastructures sanitaires et des moyens financiers, ce qui les rend peu accessibles aux populations à faibles revenus. Ainsi, la difficulté d'accéder aux soins de santé primaire oriente les trois quarts des populations vers les plantes médicinales (Ngbolua *et al.*, 2011). Les plantes médicinales jouent un rôle important dans les soins, offrant des remèdes traditionnels pouvant être une alternative médicale. Ces plantes sont riches en composés chimiques bioactifs et facilement accessibles (Ngbolua *et al.*, 2019). Elles ont des propriétés antioxydante (Diomandé *et al.*, 2018), antimicrobienne (Yousseu *et al.*, 2019), antipyrétique (Murugalakshmi *et al.*, 2014) et anti-plasmodiale (Evelyne *et al.*, 2020). En Afrique et en Côte d'Ivoire, plusieurs études ont été menées pour évaluer l'activité anti-drépanocytaire de plantes médicinales utilisées en milieu traditionnel (Kouakou, 2017 ; Ramdé-Tiendrébéogo *et al.*, 2019 ; Wembonyama, 2021 et Kplé, 2023). Certaines recettes utilisées contre la drépanocytose n'ont pas encore fait l'objet d'études scientifiques prouvant leur efficacité. Dans ce même ordre d'idée, Sibiri *et al.* (2021) ont réalisé une enquête ethnobotanique et testé une recette constituée de *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* et *Carpolobia lutea* sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges érythrocytaires. Cette recette a toujours été utilisée par certains tradipraticiens de la Région du Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire) comme anti-drépanocytaire. Ainsi, l'objectif général de cette étude est d'évaluer et de valider l'efficacité de la recette à base de plantes médicinales dans la prévention et le traitement de

la drépanocytose, en fournissant une base scientifique pour son utilisation en milieu traditionnel. Cette étude vise à approfondir les connaissances sur le potentiel anti-drépanocytaire accordé à cette recette de trois espèces de plantes. Elle donnera une base scientifique à son utilisation en milieu traditionnel pour le traitement de la drépanocytose.

Pour mener à bien cette étude, plusieurs objectifs spécifiques ont été définis. Il s'est agi de :

Caractériser les métabolites secondaires de la recette anti-drépanocytaire proposée par les naturothérapeutes,

Doser quelques oligoéléments et déterminer certaines macromolécules issues de la recette,

Évaluer les activités antioxydante, analgésique et anti-inflammatoire de la recette,

Et évaluer l'effet de la recette sur la fragilité et la stabilité membranaire des érythrocytes (globules rouges falciformés).

Outre l'introduction, la conclusion et les perspectives, le présent manuscrit est structuré en trois parties. La première est consacrée aux généralités, la seconde au matériel et aux méthodes, et la dernière est réservée aux résultats obtenus suivis de la discussion.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. Drépanocytose

1.1. Définition

La drépanocytose est une affection génétique récessive qui affecte principalement les globules rouges. Elle est due à une mutation spécifique du gène β -globine sur le chromosome 11, qui engendre la substitution de l'acide glutamique par la valine en sixième position de la chaîne β -globine, conduisant à la production l'hémoglobine S.

Quand les globules rouges perdent leur oxygène, la valine hydrophobe induit une modification de la structure de l'hémoglobine S, réduisant sa solubilité et favorisant la polymérisation de la désoxyhémoglobine S. Cela augmente l'interaction hydrophobe entre les tétramères d'hémoglobine S et stimule la création de fibres tubulaires. Ces fibres confèrent aux globules leur aspect en faucille, une déformation mécanique typique de la maladie (figure 1).

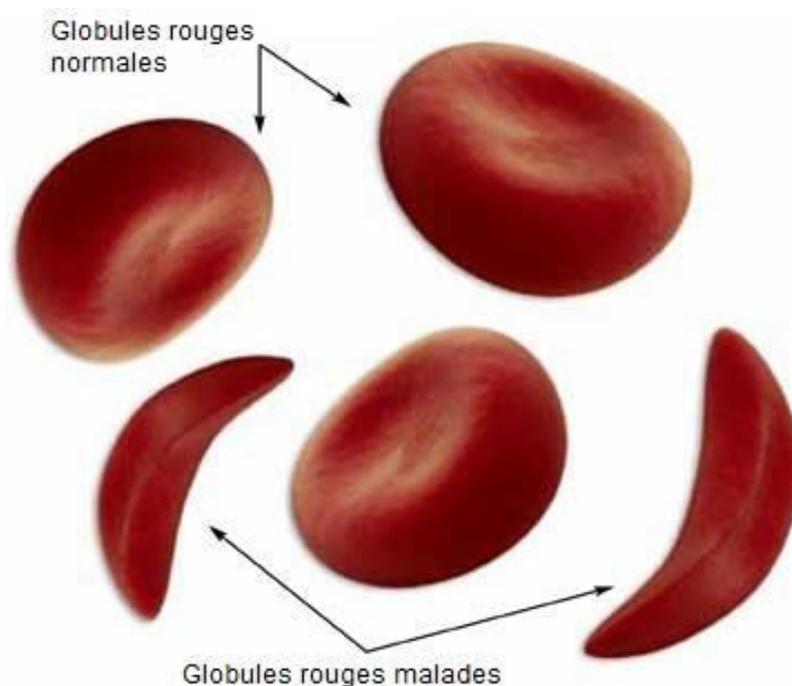


Figure 1 : Globules rouges normaux et falciformés (Kouakou, 2017)

Dans ce cas, les globules rouges perdent alors leur élasticité et ne peuvent plus se déformer pour passer à travers les microvaisseaux sanguins. Ils deviennent rigides et se bloquent dans les capillaires, provoquant des ischémies locales et des crises vaso-occlusives douloureuses. La

répétition de ces crises peut entraîner des dommages graves aux organes. De plus, les globules rouges rigides sont plus fragiles, ce qui entraîne une hémolyse de ces cellules et cause une anémie chronique chez la plupart des patients atteints de drépanocytose.

1.2. Historique

La drépanocytose a été découverte en 1910 par le Dr Herrick aux États-Unis, qui a observé des globules rouges déformés, ressemblant à des faucilles, dans le sang d'un étudiant caribéen noir souffrant d'anémie chronique. Cette forme de faucille, ou "drepanon" en grec, a donné son nom à la maladie (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).

Ci-dessous quelques dates clés dans l'étude et les découvertes sur la drépanocytose :

- En 1917, Emmel a suggéré que la drépanocytose était héréditaire (Emmel, 1917).
- En 1927, Hahn et Gillespie ont démontré que la déformation en faucille des globules rouges était due à la désoxygénation de l'hémoglobine (Beyeme-Owono & Chiabi, 2004).
- En 1933, Diggs a identifié deux symptômes cliniques distincts : des enfants présentant des signes d'anémie sévère et leurs parents asymptomatiques. Il a alors introduit le concept de "trait" drépanocytaire (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).
- En 1947, Neel a décrit ces deux tableaux cliniques différents comme les formes homozygotes et hétérozygotes d'une même anomalie, transmise selon les lois de Mendel (Embury, 1997).
- En 1949, Linus Pauling et Harvey Itano ont utilisé la nouvelle technique d'électrophorèse pour mettre en évidence la migration électrophorétique spécifique de l'hémoglobine S chez les patients atteints de drépanocytose (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).
- En 1956, Vernon Ingram a démontré que la seule différence entre l'hémoglobine S et l'hémoglobine A est un acide aminé en position 6, où l'acide glutamique est remplacé par la valine. Il s'agit de la première maladie génétique dont la structure moléculaire a été identifiée (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).
- En 1970, Chien a démontré que la viscosité sanguine chez les drépanocytaires est anormalement élevée, même lorsque la pression en oxygène est normale (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).

- En 1973, Eaton a prouvé que la perméabilité membranaire des globules rouges HbSS est différente de celle des globules rouges HbAA face au calcium (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).
- En 1984, la première transplantation de moelle osseuse chez un enfant atteint de drépanocytose a entraîné sa guérison complète. Cette transplantation a été réalisée pour traiter une leucémie aiguë, et la guérison de la drépanocytose était un événement inattendu (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).
- En 1995, l'hydroxyurée est devenue le premier médicament prouvé pour prévenir les complications de la drépanocytose. Elle permet la réactivation de la synthèse de l'hémoglobine fœtale (Hb F) (Beyeme-owono & Chiabi, 2004).

1.3. Epidémiologie et distribution géographique

La drépanocytose, affecte des millions d'individus et est la maladie génétique la plus courante au monde. À l'origine, elle était principalement présente dans les régions où le paludisme est endémique, comme l'Afrique Subsaharienne, le Bassin Méditerranéen, le Moyen-Orient, certaines régions du sous-continent indien et la péninsule arabique (Lapie, 2010 ; Piel *et al.*, 2010). Cependant, en raison de mouvements de population importants, la drépanocytose s'est répandue bien au-delà de ces régions, indépendamment du paludisme. Elle est maintenant courante le long des côtes des Amériques, en Caraïbes et l'Europe de l'Ouest (Piel, 2013). Les migrations récentes ont également contribué à faire de la drépanocytose l'hémoglobinopathie la plus courante au monde, avec environ 50 millions de personnes atteintes (Arnal & Girot, 2002). En tant que maladie omniprésente, la drépanocytose a une distribution qui varie selon les continents (Roberts & De Montalembert, 2007) (figure 2).

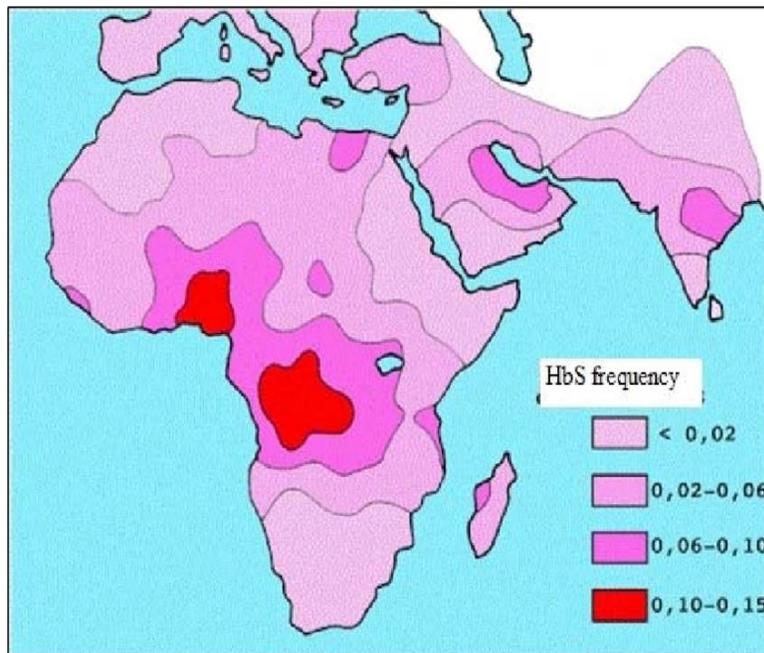


Figure 2 : Répartition géographique de drépanocytose (Mpiana *et al.*, 2012)

1.4. Modes de transmissions

La drépanocytose est une maladie génétique transmise principalement par un mode de transmission autosomique récessif et affecte les individus des deux sexes. Le niveau de risque principal dépend des génotypes des parents. Les tableaux I, II et III illustrent le profil hémoglobinique des enfants en relation avec les phénotypes de leurs parents (Kouakou, 2017).

Tableau I : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont AS

Phénotypes des parents	A	S
A	AA	AS
S	AS	SS

Le risque d'avoir des enfants drépanocytaires est de 25 % pour ce cas de figure.

Tableau II : Statut hémoglobinique des enfants lorsqu'un parent est AS et l'autre SS

Phénotypes des parents	S	S
A	AS	AS
S	SS	SS

Le risque d'avoir des enfants drépanocytaires est de 50 % pour ce cas de figure.

Tableau III : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont SS

Phénotypes des parents	S	S
S	SS	SS
S	SS	SS

Le risque d'avoir des enfants drépanocytaires est de 100 % pour ce cas de figure.

1.5. Syndromes drépanocytaires

La drépanocytose homozygote SS, qui est la forme la plus courante et la plus sévère, n'est pas la seule manifestation de cette maladie. En effet, la maladie peut également se manifester sous différentes formes, qui associent l'allèle S à un second allèle muté du gène β -globine. Ci-dessous quelques exemples de ces syndromes drépanocytaires :

- S/C : Il s'agit de l'hétérozygotie composite la plus courante. Elle est due à une mutation ponctuelle du codon 6, qui entraîne la substitution de l'acide glutamique par la lysine dans le gène β -globine ;
- S/ β O -thalassémie : Dans cette situation, le gène de la β -thalassémie n'est pas exprimé et les symptômes sont comparables à ceux d'un homozygote SS ;
- S/ β^+ -thalassémie : Ici, le gène β -thalassémique est partiellement exprimé et la gravité des symptômes dépend en partie du taux résiduel d'Hb A.

Il existe également des hétérozygoties composites plus rares, telles que :

- SD Punjab : Cette forme symptomatique de la maladie est due à une mutation sur le codon 121, qui entraîne le remplacement d'un acide glutamique par une glutamine ;
- SE ou SLe pore : Ces hétérozygotes composites correspondent respectivement à une hémoglobine anormale liée à un phénotype thalassémique et à une globine issue d'un crossing-over inhabituel entre les gènes δ - et β -globine.

Il existe également des variantes plus rares qui associent une deuxième mutation en cis de la mutation β S :

- S Oman : Cette variante implique une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 121, qui conduit au remplacement d'un acide glutamique par une lysine ;
- S Antilles : Cette variante est causée par une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 23, où une valine substituée par une isoleucine.

Enfin, il est important de souligner que les sujets hétérozygotes AS sont porteurs et transmetteurs du gène de la drépanocytose, mais ne subissent pas les complications de la maladie car ils sont asymptomatiques (Seck *et al.*, 2021).

1.6. Mécanisme physiopathologique de la drépanocytose

1.6.1. Fonction de l'hémoglobine humaine

Les globines, qui sont des protéines, ont une importance capitale dans le stockage et le transport du dioxygène. L'hémoglobine mature, généralement dissoute dans le cytosol aqueux des érythrocytes sous forme d'une solution très concentrée, facilite le transport du dioxygène des poumons vers les tissus. Un érythrocyte humain, d'un diamètre de 7 à 8 μm , contient environ 280 millions de molécules d'hémoglobine. Chaque molécule d'hémoglobine est un tétramère, formée par l'ensemble de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux : deux chaînes alpha, chacune composée de 141 acides aminés, et deux chaînes beta, composées de 146 acides aminés. Chaque chaîne adopte une structure tridimensionnelle qui lui confère une forme globulaire et crée une poche superficielle où se loge l'hème. L'hème est constitué d'une porphyrine complexée à un atome de fer, ce qui permet la fixation réversible de l'oxygène. La stabilité du tétramère d'hémoglobine est assurée par des liaisons entre les chaînes latérales hydrophobes *via* des acides situés à la périphérie de chaque globine (Hierso, 2015) (figure 3).

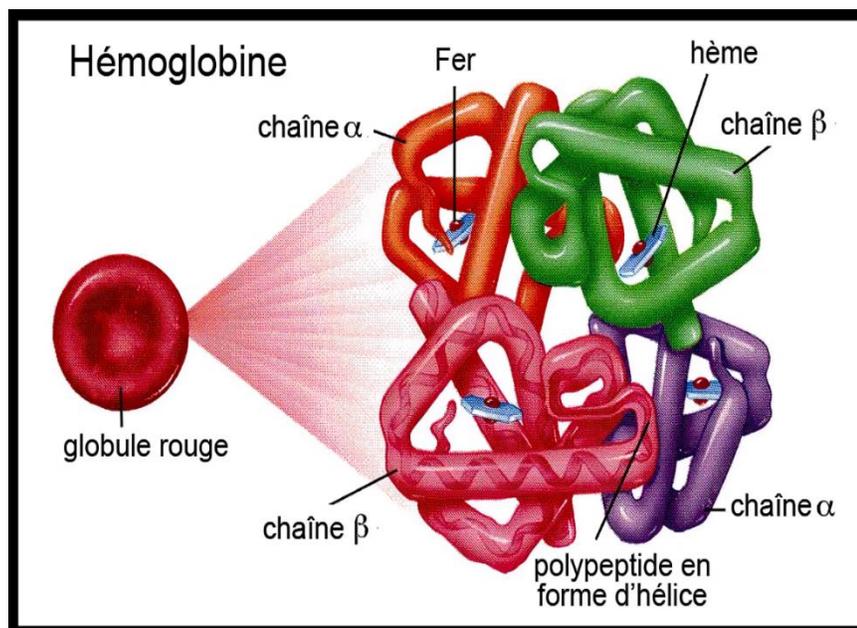


Figure 3 : Molécule d'hémoglobine (Nader, 2021)

1.6.2. Polymérisation : Caractéristiques de l'hémoglobine S

➤ Structure du polymère

La polymérisation de l'Hb S est le résultat du remplacement de l'acide glutamique, une molécule hydrophile, par une valine, une molécule hydrophobe, en position 6 de la β -globine. Lorsque l'hémoglobine est désoxygénée, des interactions hydrophobes se produisent entre la leucine 88 et la phénylalanine 85 du brin β d'une molécule d'hémoglobine, et la valine 6 du brin β d'une molécule d'hémoglobine adjacente (Murayama, 1996). Cela conduit à la formation d'une structure cristalline fibreuse. Au niveau des globules rouges, cela provoque une falciformation, caractérisée par une diminution de leur capacité à se déformer, une propriété essentielle pour ces cellules qui doivent circuler dans des vaisseaux sanguins plus petits que leur propre diamètre. La polymérisation de l'hémoglobine est un processus rare et très complexe. Elle est déclenchée par trois conditions :

1. Une pression en dioxygène faible, qui favorise une prédominance de désoxy-Hb S, la seule forme d'Hb S qui présente le site correspondant à la séquence hydrophobe de la valine, et par conséquent qui encourage l'évènement de polymérisation.
2. Une concentration élevée en hémoglobine, qui favorise naturellement les contacts entre les molécules et leurs interactions.
3. Une température élevée, qui témoigne d'une forte agitation thermique, et qui favorise également la polymérisation (Murayama, 1996).

1.6.3. Effets de l'hémoglobine fœtale sur la polymérisation de l'hémoglobine S

L'hémoglobine fœtale (Hb F) a la faculté de perturber la polymérisation de l'Hb S en s'intégrant dans le polymère de désoxyhémoglobine S, ce qui entrave le développement de la formation des fibres d'Hb S et diminue donc la rigidité cellulaire (Sebastiani *et al.*, 2008 ; Ngo *et al.*, 2012). Une augmentation du niveau d'Hb F chez les patients souffrant de drépanocytose SS entraîne une diminution notable de l'inflammation et de la peroxydation lipidique, soulignant ainsi le rôle bénéfique et protecteur de l'hémoglobine fœtale chez les individus atteints de drépanocytose (Bhagat *et al.*, 2012).

1.6.4. Conséquences de la polymérisation

La membrane du globule rouge subit des modifications structurales qui entraînent le dysfonctionnement. Ces changements affectent également la capacité du globule rouge à circuler dans les vaisseaux sanguins. Ces problèmes sont dus à des épisodes récurrents de polymérisation de l'Hb S et de falciformation (Callahan *et al.*, 2000 ; Manodori *et al.*, 2000 ; Setty & Betal, 2008).

1.7. Anomalies structurales du globule drépanocytaire

1.7.1. Altération des lipides

Les lipides présents dans la membrane des globules rouges jouent un rôle crucial dans leur structuration et leurs interactions avec le plasma. Les phospholipides, qui en sont le composant majeur, sont disposés en bicouche. Dans cette bicouche, la représentation des lipides n'est pas homogène : la sphingomyéline (SM) et la phosphatidylcholine (PC) se situent dans la couche externe, tandis que la phosphatidyléthanolamine (PE) et la phosphatidylsérine (PS) se trouvent dans la couche interne (Zachowski *et al.*, 1986). Cette asymétrie est conservée par un complexe enzymatique transmembranaire :

- la translocase ou flippase achemine la PS et la PE de la couche externe vers la couche interne. Son activité est inhibée par une hausse des ions Ca^{2+} ;
- la flippase a pour fonction de déplacer les phospholipides de l'intérieur vers l'extérieur de la membrane, et ce, de manière non spécifique ;
- la scramblase permet un mouvement bidirectionnel des phospholipides à travers la bicouche lipidique.

La PS, habituellement située dans la couche intérieure de la bicouche lipidique, est transférée à l'extérieur lors de la sénescence des globules rouges et des processus d'apoptose. Dans le cas de la drépanocytose, les cycles de falciformation/défalciformation provoquent également une externalisation de la PS. Les macrophages identifient exclusivement la PS à la surface cellulaire et les retirent de la circulation (Callahan *et al.*, 2000 ; Zwaal *et al.*, 2005). L'externalisation de la PS peut encourager la formation de thrombose (Chiu *et al.*, 1981) en activant les facteurs de coagulation. Elle participe aussi à l'augmentation des interactions entre les drépanocytes et les cellules endothéliales (Setty *et al.*, 2002), favorisant l'adhésion des globules rouges à l'endothélium vasculaire *via* la Thrombospondine 1 (TSP-1), cela se fait également par

l'intermédiaire d'un récepteur spécifique à la PS qui est exprimé sur la membrane des cellules endothéliales (Manodori *et al.*, 2000 ; Setty & Betal, 2008).

1.7.2. Altération des protéines

Les protéines qui se trouvent dans la membrane des globules rouges humains sont généralement réparties en deux catégories majeures : les protéines de la membrane érythrocytaire et les protéines du cytosquelette érythrocytaire. Les protéines de la membrane ont de multiples fonctions, y compris le transport, l'adhésion aux cellules circulantes et endothéliales, et des fonctions de récepteur de signalisation.

Parmi les protéines membranaires qui assurent des fonctions de transport, on compte l'aquaporine ; la protéine Glut-1 ; la rhAG ; la Na⁺ ; le K⁺ ; ATPase ; le Ca²⁺ ; ATPase ; les cotransporteurs Na⁺ ; K⁺ ; Na⁺ ; Cl⁻ ; Na⁺ ; K⁺ et la protéine bande 3. Cette dernière est une protéine échangeuse d'anions transmembranaires qui agit comme un canal pour le transfert passif des ions bicarbonates et des ions chlorures à travers la membrane des érythrocytes (Hunter, 1977). Elle a une importance capitale dans le processus global de transport du CO₂ (Hamasaki, 2006).

Des recherches sur l'interaction entre l'hémoglobine et la bande 3 montrent que ces deux protéines semblent dépendre de l'oxygène, car la désoxyhémoglobine montre une plus grande affinité pour la protéine bande 3 que l'oxyhémoglobine (Campanella *et al.*, 2000). Le domaine N-terminal de la protéine bande 3 semble s'insérer à travers la cavité de fixation du 2, 3-DPG au milieu du tétramère de désoxyhémoglobine. Les résidus de la protéine bande 3 établissent un contact majeur le long des parois de la désoxyhémoglobine (Richard *et al.*, 1993).

Pour ce qui est des protéines du cytosquelette érythrocytaire, la spectrine et l'actine constituent le réseau filamenteux protéique majeur du squelette membranaire. La protéine stabilise la liaison spectrine-actine et représente un premier point d'ancrage du squelette membranaire sur la face intérieure de la membrane, en interagissant avec la glycophorine C.

Dans les hémoglobinopathies telles que la drépanocytose, des agrégats de protéines bande 3 se forment précocement, en raison de l'auto-oxydation de l'hémoglobine S, de l'accumulation de fer dans la membrane des érythrocytes et des dommages oxydatifs membranaires. Cela entraîne une durée de vie réduite des drépanocytes (Nagababu *et al.*, 2008 ; Rifkind & Nagababu, 2013).

En condition physiologique, les interactions entre protéines ou entre protéines et lipides sont étroitement régulées par des phosphorylations. Dans la drépanocytose, on observe une perturbation

du niveau de phosphorylation, soit une augmentation (pour la protéine bande 3), soit une diminution (pour la spectrine et l'ankyrine), ce qui altère l'intégrité de la membrane érythrocytaire. Cette perturbation provoque la dissociation du squelette érythrocytaire du reste de la membrane et contribue également aux anomalies des transports ioniques ((Liu *et al.*, 1991 ; Fathallah *et al.*, 1995).

1.8. Anomalies fonctionnelles

1.8.1. Déshydratation des globules rouges

On observe une déshydratation intracellulaire chez les réticulocytes et les globules rouges matures dans le cas de la drépanocytose, qui est principalement due à une perte importante de potassium. Cette perte peut être attribuée à deux facteurs principaux :

1. Une activation excessive du co-transport K-Cl qui dépend du Mg^{2+} . Ce mécanisme de transport est déclenché lorsque le niveau de magnésium à l'intérieur des globules rouges diminue (Brugnara & Tosteson, 1987). C'est précisément ce qui se passe chez les drépanocytaires, qui présentent une perméabilité membranaire accrue au magnésium (De Franceschi *et al.*, 1997).
2. L'activation du canal Gardos, qui est provoquée par une augmentation de la perméabilité membranaire. Cette augmentation est induite par la désoxygénation du drépanocyte, ce qui permet une entrée de calcium. Et cela entraîne une perte de potassium et d'eau (Durpès *et al.*, 2010). Lorsque le drépanocyte est déshydraté, la concentration d'hémoglobine à l'intérieur des globules augmente, ce qui facilite la polymérisation de l'Hb S et le processus de falciformation de la cellule.

1.8.2. Anomalies hémorhéologiques

Les drépanocytes déshydratés deviennent rigides et perdent leur capacité à se déformer. L'atténuation de la flexibilité des drépanocytes, ainsi que d'autres anomalies telles que la viscosité, l'agrégation et le seuil de désagrégation, ont été identifiées grâce à l'avancement des outils hémorhéologiques qui mesurent le flux sanguin et les caractéristiques biophysiques du sang et de ses éléments. En fait, les globules rouges en forme de faucille, qui ne peuvent pas circuler dans les petits vaisseaux sanguins, augmentent également la viscosité du sang, ce qui conduit à des complications vaso-occlusives (Zandecki, 2006).

1.8.3. Viscosité sanguine

Les individus homozygotes SS atteints de drépanocytose ont une viscosité sanguine inférieure à celle des individus en bonne santé en raison de leur anémie. Par contre, les hétérozygotes SC ont une viscosité sanguine plus élevée que celle des individus en bonne santé. L'anémie relativement légère de ces patients ne compense pas les autres anomalies rhéologiques typiques de la maladie, ce qui entraîne une hyperviscosité sanguine chronique chez les individus SC (Tripette *et al.*, 2009). La viscosité sanguine est influencée par deux propriétés rhéologiques des globules rouges : leur capacité à se déformer et leurs propriétés d'agrégation/désagrégation (Tripette *et al.*, 2009).

1.8.4. Déformabilité érythrocytaire

La capacité des globules rouges à se déformer est cruciale pour leur circulation dans les vaisseaux sanguins. Les globules rouges ont un diamètre plus grand que celui des plus petits vaisseaux, il est donc nécessaire qu'ils puissent se déformer pour traverser les capillaires les plus étroits. Il est désormais bien établi que les globules rouges des patients atteints de drépanocytose présentent une capacité de déformation réduite par rapport à celle des individus en bonne santé (Brandão *et al.*, 2003 ; Tripette *et al.*, 2009).

1.8.5. Agrégation érythrocytaire

L'agrégation érythrocytaire est un phénomène où les globules rouges se superposent pour former des structures linéaires (Tripette *et al.*, 2009). Même si un lien fort a été établi entre les diverses complications de la maladie et les changements hémorhéologiques observés dans la drépanocytose, les mécanismes responsables des variations dans l'expression de la maladie, sa gravité et l'apparition préférentielle d'une complication par rapport à une autre chez les patients drépanocytaires demeurent mal compris. L'idée que le stress oxydant pourrait être un facteur expliquant une partie de cette variabilité a été récemment suggérée (Connes *et al.*, 2014).

1.9. Acteurs de la physiopathologie

La physiopathologie de la drépanocytose est rendue complexe par de nombreux facteurs. Le principal mécanisme de la vaso-occlusion est la polymérisation de l'hémoglobine S, qui provoque la déformation des globules rouges. Cependant, cette polymérisation nécessite un temps plus long que celui requis pour que les globules rouges traversent la microcirculation. En théorie, les cellules devraient revenir dans l'artère principale avant que leur déformation ne provoque un blocage dans

les micro-vaisseaux (Mozzarelli *et al.*, 1987). Cela suggère l'existence d'autres mécanismes qui ralentissent la circulation, permettant aux globules rouges de rester dans les micro-vaisseaux assez longtemps pour se déformer (Mozzarelli *et al.*, 1987).

1.9.1. Adhérence cellulaire : Interactions cellulaires

1.9.1.1. Interaction entre globules rouges et cellules endothéliales

En ce qui concerne l'adhérence cellulaire et les interactions entre cellules, une interaction existe entre les globules rouges et les cellules endothéliales. Ces processus d'adhérence engagent des interactions moléculaires complexes. Le mécanisme de vaso-occlusion se déroulerait en deux phases : d'abord l'adhérence des réticulocytes, qui quittent prématurément la moelle osseuse, et/ou celle des globules rouges matures, puis le blocage par les globules rouges déformés et les drépanocytes irréversibles (Labie & Elion, 2005). Les globules rouges matures et les drépanocytes interagissent avec l'endothélium *via* des immunoglobulines G (IgG), dont les niveaux sont anormalement élevés chez les drépanocytaires (Hebbel & Miller, 1984 ; Hebbel *et al.*, 1987). Les immunoglobulines G (IgG) peuvent se lier aux domaines extracellulaires des protéines de bande 3 agglutinées dans la membrane des globules rouges drépanocytaires. Cette liaison entraîne la destruction prématurée du globule rouge par la rate, aggravant ainsi l'anémie chez les patients (Schlüter & Drenckhahn, 1986). De plus l'externalisation de la phosphatidylsérine favorise l'adhérence des globules rouges à la thrombospondine-1 (TSP-1), aussi qu'à un récepteur spécifique de la PS récemment identifié, exprimé à la membrane des cellules endothéliales lors de leur activation (Manodori *et al.*, 2000 ; Setty & Betal, 2008).

1.9.1.2. Interactions cellulaires entre leucocytes et cellules endothéliales

Les polynucléaires neutrophiles tendent à adhérer de façon accrue à l'endothélium vasculaire pendant les crises vaso-occlusives (Fadlon *et al.*, 1998). Ces résultats accentuent ainsi la fonction de ces cellules dans la vaso-occlusion.

1.9.1.3. Interaction des plaquettes

L'implication précise des plaquettes dans les processus vaso-occlusifs nécessite encore des éclaircissements. Une étude menée par Wood et ses collègues a mis en évidence l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales des micro-veinules cérébrales chez les souris atteintes de

drépanocytose (Wood *et al.*, 2004). En outre, des études *in vitro* ont démontré l'interaction entre les plaquettes et les monocytes, ainsi qu'entre les plaquettes et les drépanocytes chez les patients atteints de drépanocytose (Wun *et al.*, 1999 ; Brittain & Parise, 2008). En général, l'activation des plaquettes semble influencer la surexpression de molécules et de récepteurs d'adhérence (Wun *et al.*, 1999 ; Chiang & Frenette, 2005).

1.9.1.4. Interaction entre cellules circulantes

Des études *in vitro* ont montré que les drépanocytes adhèrent de manière anormale aux monocytes et aux polynucléaires neutrophiles (Chiang *et al.*, 2007 ; Chang *et al.*, 2008). Il a également été observé que les polynucléaires neutrophiles des patients drépanocytaires sont moins déformables que ceux d'un individu normal (Chiang & Frenette, 2005), ce qui favorise l'occlusion des vaisseaux sanguins. Les recherches menées par de Char et ses collègues ont montré que chez les patients drépanocytaires, des agrégats se forment entre les monocytes périphériques et les globules rouges circulants, grâce à l'interaction entre la protéine Lu-BCAM érythrocytaire et l'intégrine $\alpha 4 \beta 1$ monocyttaire (Char *et al.*, 2010). Ces agrégats pourraient contribuer au processus de vaso-occlusion.

1.9.1.4.1. Activation cellulaire

➤ Phénotype pro-inflammatoire

L'inflammation a un rôle essentiel dans la pathophysiologie de la drépanocytose. L'inflammation est la réaction des tissus vivants vascularisés à une attaque. Cette réaction implique des phénomènes d'immunité, c'est-à-dire de résistance aux attaques. Les cellules endothéliales recrutent alors les leucocytes pour localiser et réparer les lésions. L'augmentation du nombre de leucocytes (hyperleucocytose) et leur état d'activation sont des indicateurs de l'état pro-inflammatoire associé à la drépanocytose (Lard *et al.*, 1999 ; Belcher *et al.*, 2000). Parmi les médiateurs de l'inflammation, on peut mentionner :

- les chimiokines, protéines qui activent les leucocytes et présentent des propriétés chimiotactiques qui attirent ces cellules vers le site de l'inflammation ;
- les cytokines, protéines produites par les leucocytes qui assurent la communication entre les cellules ;
- les molécules d'adhérence.

L'inflammation récurrente et les cytokines inflammatoires augmentent la capacité d'adhérence des leucocytes (Francis & Haywood, 1992 ; Croizat, 1994). En effet, l'hypoxie, les infections et les cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , IL-1 et IL-6 activent l'endothélium vasculaire. Ces stimuli activent les leucocytes qui à leur tour activent l'endothélium vasculaire, créant ainsi un cercle vicieux. Cette double activation de l'endothélium et des leucocytes conduit à une expression beaucoup plus importante des molécules adhésives ou à leur activation, comme les intégrines, les sélectines et les ICAM (Molécules d'Adhésion Intercellulaire), qui contribuent davantage à l'obstruction des vaisseaux sanguins (Chies & Nardi, 2001).

1.9.1.4.2. Anomalies du tonus vasculaire

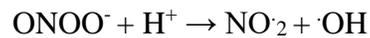
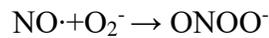
L'endothélium joue un rôle fondamental dans le contrôle local de l'activité vasculaire en synthétisant des substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices. Les acteurs majeurs de cette vaso-régulation sont le monoxyde d'azote (NO) et l'endothéline-1 (ET-1). La drépanocytose fait assister à une dérégulation de l'expression de ces deux molécules vaso-régulatrices.

➤ Anomalies du métabolisme du NO et de l'ET-1 dans la drépanocytose

Dans la drépanocytose, la régulation vasculaire de l'endothélium est modifiée en faveur d'un phénotype vasoconstricteur. En effet, de nombreuses recherches ont montré que les niveaux plasmatiques de l'ET-1 sont anormalement élevés chez les patients drépanocytaires au repos, et exacerbés lors des crises vaso-occlusives (Graido-Gonzalez *et al.*, 1998). Des études sur des souris drépanocytaires ont montré qu'une inhibition pharmacologique des récepteurs de l'endothéline pouvait prévenir le déclenchement des crises vaso-occlusives et les dommages aux organes chez ces dernières (Sabaa *et al.*, 2008). De plus, dans la drépanocytose, une diminution de la biodisponibilité du NO (vasodilatateur) a été démontrée et pourrait expliquer certaines complications vasculaires liées à la maladie. Différents facteurs contribuent à la diminution de la biodisponibilité du NO :

- L'endothélium joue un rôle essentiel dans la régulation locale de l'activité vasculaire en produisant des substances qui dilatent ou rétrécissent les vaisseaux sanguins. Les principaux acteurs de cette régulation vasculaire sont le monoxyde d'azote (NO) et l'endothéline-1 (ET-1). Dans le cas de la drépanocytose, l'on observe une perturbation de l'expression de ces deux molécules impliquées dans la régulation vasculaire.

- Les radicaux libres produits par le stress oxydant. La réaction entre le NO et des radicaux libres tels que l'ion superoxyde O_2^- produit l'anion peroxyde ONOO⁻ qui, en milieu acide H⁺ donne deux radicaux (Lapoumériou *et al.*, 2005).



Ces diminutions de la biodisponibilité du NO participent aux dysfonctionnements de l'endothélium en limitant fortement les dilatations vasculaires nécessaires à l'ajustement de la pression sanguine et en favorisant les constriction *via* la levée de l'inhibition de l'ET-1. En plus de favoriser les processus occlusifs des vaisseaux sanguins, la diminution de la biodisponibilité du NO est étroitement associée à l'hémolyse intravasculaire à l'origine d'un relargage excessif d'hémoglobine extracellulaire dans le plasma (Saba *et al.*, 2008).

1.9.1.4.3. Hémolyse intravasculaire

De nombreuses recherches mettent en évidence l'hémolyse chez les patients atteints de drépanocytose, qui s'intensifie lors des crises vaso-occlusives et des événements hémolytiques aigus (Naumann *et al.*, 1971 ; Reiter *et al.*, 2002 ; Zhou *et al.*, 2009 ; Connes, 2011). Lorsque l'hémoglobine est libérée, elle forme un complexe avec l'haptoglobine qui se lie à CD163 sur la surface des macrophages et des leucocytes en circulation (Philippidis *et al.*, 2004 ; Schaer *et al.*, 2007). Toutefois, lorsque la capacité de liaison de l'haptoglobine est saturée, l'hémoglobine libre s'accumule dans le plasma, entraînant diverses dysfonctions endothéliales. Elle piège le NO qui est consommé en excès, provoquant une vasoconstriction (Reiter *et al.*, 2002). La diminution de la biodisponibilité du NO peut également provoquer des coagulopathies intravasculaires, car le NO interagit avec les composants de la cascade de la coagulation, régulant ainsi négativement la formation de caillots sanguins (Kayanoki *et al.*, 1999 ; Shao *et al.*, 2001). De plus, l'accumulation d'hémoglobine libre dans le plasma contribue également à l'activation plaquettaire et à l'apparition de thrombose (Radomski *et al.*, 1993 ; Studt *et al.*, 2005). Des études ont montré que l'hémolyse intravasculaire et la diminution subséquente de la biodisponibilité du NO sont associées à des complications cliniques dans la drépanocytose, telles que l'hypertension artérielle pulmonaire, le priapisme, les ulcères de jambes et les AVC (Champion *et al.*, 2005 ; Nolan *et al.*, 2006 ; Kato *et al.*, 2007).

1.9.1.4.4. Oxydation tissulaire

Les interactions entre l'endothélium vasculaire et les cellules circulantes (globules rouges, globules blancs et plaquettes) sont favorisées par un contexte oxydatif résultant de l'instabilité inhérente de l'Hb S (Klings & Farber, 2001). Des études ont démontré que les globules rouges drépanocytaires produisent davantage de radicaux libres que les globules rouges normaux (Repka & Hebbel, 1991). De plus, les processus oxydatifs entraînent la dénaturation de l'hémoglobine, formant des hémichromes et des espèces réactives de l'oxygène (Misra & Fridovich, 1972). Les globules rouges drépanocytaires subissent une lyse exacerbée, entraînant l'accumulation de fer dans le plasma, ce qui favorise également la production de radicaux libres (Dröge, 2002). Une fois exposé au contact du fer, les globules rouges, les plaquettes et les polynucléaires neutrophiles augmentent la production d'espèces réactives de l'oxygène (Amer *et al.*, 2003 ; Amer & Fibach, 2005) et sont plus vulnérables aux dommages occasionnés par ceux-ci. Par exemple, une déficience de la vitamine E (antioxydante) augmente la peroxydation lipidique membranaire des globules rouges (Aslan *et al.*, 2000). L'activation des plaquettes est favorisée par le stress oxydant (Blockmans *et al.*, 1995 ; Iuliano *et al.*, 1997), ce qui pourrait expliquer l'état d'hypercoagulabilité observé chez les patients drépanocytaires (Eldor, 1978). Dans un contexte oxydatif, les polynucléaires neutrophiles perdent leurs aptitudes de défense antibactérienne, ce qui favoriserait la sensibilité aux infections des patients drépanocytaires (Amer & Fibach, 2005). Enfin, les processus oxydants semblent augmenter l'adhérence anormale des cellules circulantes à l'endothélium vasculaire, car des taux plus élevés d'espèces réactives de l'oxygène ont été mesurées pendant des épisodes de reperfusion ou lorsque les polynucléaires sont activées ou adhèrent à l'endothélium (Mohamed *et al.*, 1993 ; Hofstra *et al.*, 1996). Le stress oxydant favoriserait donc les mécanismes vaso-occlusifs dans la drépanocytose.

1.10. Stress oxydant

1.10.1. Espèces réactives de l'oxygène

Le stress oxydant est un élément clé de la maladie drépanocytaire, contribuant significativement aux processus d'hémolyse, de vaso-occlusion et aux dommages subis par divers organes (Nur *et al.*, 2011 ; Nur *et al.*, 2012). Le stress oxydant est caractérisé par un déséquilibre entre les agents pro-oxydant et les anti-oxydants, avec une prédominance des premiers, entraînant des dommages cellulaires irréparables. Dans des conditions normales, les espèces réactives de l'oxygène (ERO),

constamment produites par l'organisme, sont neutralisées par un système de défense anti-oxydant efficace qui régule leur surproduction (Halliwell & Gutteridge, 1984). Toutefois, chez les patients atteints de drépanocytose, ce système de défense est affaibli en raison d'une production réduite et/ou d'une consommation excessive d'anti-oxydant, rompant ainsi cet équilibre (Nur *et al.*, 2012). Le globule rouge est également soumis à l'action du NO et du nitrite. Le NO peut réagir avec l'anion superoxyde pour produire du peroxy-nitrite. Le nitrite, un produit de l'oxydation du NO par l'oxygène ou les métalloprotéines plasmatiques, peut réagir avec l'hémoglobine pour produire de la méthémoglobine. Ces réactions impliquant le NO et le nitrite sont à l'origine de nouvelles réactions oxydatives générant des espèces réactives de l'azote (ERA), une source supplémentaire de dommages pour le globule rouge (Rifkind & Nagababu, 2013). La chaîne respiratoire mitochondriale est la principale source de production d'anions superoxydes dans les cellules non phagocytaires (Turrens, 2003 ; Carrière *et al.*, 2006). En plus de la production cytosolique des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les cellules phagocytaires *via* les membres de la famille de la NADPH oxydase, une enzyme localisée au niveau de la membrane plasmique et interagissant avec le substrat intracellulaire (NADH,H⁺, ou NADPH,H⁺). Ces ERO sont impliqués dans l'activation de l'apoptose, la production de cytokines, les réactions inflammatoires et antimicrobiennes. En plus de ces deux sources principales d'ERO, d'autres sources cytosoliques peuvent jouer un rôle dans la modulation de la signalisation cellulaire telles que la xanthine oxydase (Ono *et al.*, 2009), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochromes P450) ou encore les nitriques oxydes synthases (NOS) (Fang, 1997). Il est important de noter également que les ERO peuvent être exogènes et provenir de l'alimentation ou d'autres sources (cigarette, pollution...). Les ERO sont donc des molécules produites par divers mécanismes physiologiques. A certaines doses, elles sont bénéfiques pour l'organisme, mais leur production peut devenir excessive ou résulter de mécanismes toxiques exogènes à l'organisme. Elles peuvent inactiver des protéines, induire des lésions de l'ADN (Burrows & Muller, 1998 ; Cadet *et al.*, 1999) ce qui peut conduire à une altération du message génétique, oxyder les protéines (Brot & Weissbach, 2000 ; Finkel, 2000) et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire (Lenzi, 2011).

1.10.2. Sources du stress oxydant dans la drépanocytose

1.10.2.1. Auto-oxydation de l'hémoglobine

En présence d'oxygène, l'hémoglobine a la capacité de s'auto-oxyder, ce qui entraîne la formation de méthémoglobine HbFe^{3+} par l'oxydation de Fe^{2+} en Fe^{3+} . Ce processus d'auto-oxydation de l'hémoglobine produit des radicaux libres, y compris les anions superoxydes O^{2-} . Bien que ce phénomène soit observé à la fois pour l'Hb A et l'Hb S, des recherches ont démontré que cette dernière s'auto-oxyde 1,7 fois plus rapidement que l'Hb A (Hebbel *et al.*, 1988). En fait, l'Hb A est capable de contrer ces réactions, contrairement à l'Hb S qui est rapidement submergée par la production continue d' O^{2-} , puis par sa dismutation en H_2O_2 , ce dernier pouvant alors produire de l' $\text{OH}\cdot$. De plus, la méthémoglobine (metHb), en l'absence de réduction du fer par la méthémoglobine réductase, va se dénaturer en héli-chrome. Ces héli-chromes sont trouvés à des niveaux très élevés dans la membrane érythrocytaire des globules rouges drépanocytaires (Asakura *et al.*, 1977) et vont favoriser l'oxydation des composants membranaires des globules rouges. En raison de l'hémolyse intravasculaire constante, des concentrations élevées d'hémoglobine libre et d'hème plasmatique sont retrouvées chez les patients drépanocytaires à l'état de base (Reiter *et al.*, 2002). En inactivant le monoxyde d'azote, l'hémoglobine libre réduit sa biodisponibilité, limitant les propriétés vasodilatatrices, anti-thrombotiques et anti-inflammatoires du NO (Reiter *et al.*, 2002 ; Guzik *et al.*, 2003). L'hème hydrophobe libéré dans le plasma s'insère rapidement dans la membrane plasmique des cellules endothéliales. A ce stade, l'hème libère son fer (Balla *et al.*, 1993) qui va induire l'activation des cellules endothéliales et des dommages liés à la libération non enzymatique des ERO (Jeney *et al.*, 2002)

1.10.2.2. Xanthine oxydase

La reprise du flux sanguin après une période prolongée d'hypoxie contribue fortement à la production de radicaux libres et aux lésions tissulaires. Les crises vaso-occlusives douloureuses et les épisodes vaso-occlusif cliniquement silencieux, qui impliquent le blocage temporaire des micro-vaisseaux par les globules rouges rigides, participent à ces processus d'ischémie-reperfusion. Des dommages liés à ces processus ont été observés chez les souris drépanocytaires soumises à des épisodes d'hypoxie/réoxygénation (Osarogiagbon *et al.*, 2000). Le faible niveau d'oxygène dû à l'interruption de la circulation sanguine entraîne la production d'hypoxanthine et de xanthine oxydase à partir de l'adénosine triphosphate et de la xanthine déshydrogénase

respectivement (Beetsch *et al.*,1998). Pendant la phase de réoxygénation, la xanthine est transformée en acide urique (Nishino *et al.*, 1997). Comme les cellules endothéliales de certains tissus présentent une faible activité de xanthine oxydase (comme c'est le cas pour le cerveau) et d'autres une forte activité de l'enzyme (par exemple les intestins), l'importance de cette enzyme comme source de production d'ERO est probablement dépendante du tissu (Wood & Granger, 2007)

1.10.2.3. NADPH oxydase

Dans la drépanocytose, les leucocytes et les cellules endothéliales sont sources majeures d'ERO, grâce à un processus qui fait intervenir la NADPH oxydase. Cette enzyme, qui se trouve dans la membrane des cellules phagocytaires, catalyse la transformation de l'oxygène en anion superoxyde O_2^- , selon la réaction suivante (Wood & Granger, 2007) :



1.10.2.4. Autres sources

Dans la drépanocytose, l'hyperhomocystéinémie stimule la production de radicaux libres d'oxygène (ERO) par un processus qui implique la production de diméthyl-arginine asymétrique. Cette dernière entre en compétition avec l'arginine qui est le substrat de l'oxyde nitrique synthase (NOS). En l'absence de L-arginine, précurseur de l'oxyde nitrique (NO), la NOS endothéliale commence à produire des ERO au lieu du NO (Wood & Granger, 2007).

La production de stress oxydant dans la drépanocytose est due à plusieurs facteurs :

- une hémolyse accrue qui conduit à une augmentation de l'hème libre, fortement impliqué dans la production de ERO ;
- l'auto-oxydation de l'hémoglobine S qui génère une production de ERO 1,7 fois supérieure a celle de l'Hb A ;
- une augmentation de l'ischémie-reperfusion, exacerbée par l'adhésion cellulaire à l'endothélium, qui stimule la production de ERO *via* notamment la xanthine oxydase ;
- un contexte inflammatoire bien défini dans la maladie drépanocytaire (Wood & Granger, 2007).

Il est encore difficile aujourd'hui de déterminer si l'état pro-inflammatoire chronique observé dans la drépanocytose contribue à l'augmentation du stress oxydant dans la maladie, ou vice versa. De plus en plus d'études montrent une relation bidirectionnelle entre l'inflammation et le stress oxydant. Les espèces réactives produites pendant le stress oxydant sont impliquées dans la falciformation des globules rouges, l'adhérence cellulaire à l'endothélium, la modulation du tonus vasculaire et l'inflammation, qui sont à l'origine des crises vaso-occlusives douloureuses et des lésions organiques.

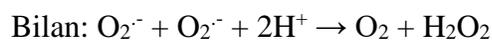
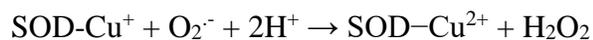
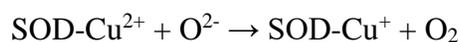
1.10.3. Système de défense antioxydant

Afin de minimiser les dégâts causés par ces réactions oxydatives, le globule rouge possède une série de mécanismes de défense antioxydants. Cependant, ces mécanismes sont insuffisants dans le cas de la drépanocytose.

1.10.3.1. Système antioxydants enzymatiques

✓ Superoxydes dismutases

Elles ont la capacité d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. La structure des superoxydes dismutases est bien préservée au cours de l'évolution et présente un puits hydrophobe au centre de la protéine où l'anion superoxyde se loge. Le type de métal situé au centre de l'enzyme permet de différencier les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) qui protègent la mitochondrie. Les superoxydes dismutases à cuivre-zinc, quant à elles, protègent le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (Zelko et al., 2002). Les superoxydes dismutases à cuivre-zinc catalysent les réactions suivantes :

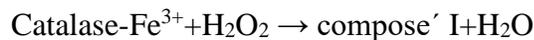


Le peroxyde d'hydrogène formé (H_2O_2) est géré par les catalases (notamment présentes dans les globules rouges et les peroxysomes hépatiques) et les glutathion peroxydases à sélénium (Zelko *et al.*, 2002). Les travaux de Das & Nair (1980) et ceux de Gizi *et al.* (2011) ont démontré une augmentation du taux de SOD chez les patients drépanocytaires par rapport aux sujets sains et suggèrent que cette augmentation reflète la tentative de défense des globules rouges

drépanocytaires contre le stress oxydant. Une étude de Schacter *et al.* (1988) a démontré que les patients drépanocytaires cliniquement les plus sévères présentent une réduction de l'activité de la SOD par rapport aux patients cliniquement moins sévères, bien que les taux de SOD soient comparables dans les deux groupes.

✓ **Catalase**

La catalase est une enzyme qui a la capacité de convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Cette enzyme catalyse une réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène, qui se déroule comme suit :



Au final, la réaction globale est : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

La catalase est formée de quatre sous-unités protéiques, chacune contenant un groupement héminique avec un ion Fe^{3+} au site actif. Chaque molécule de catalase est généralement associée à une molécule de NADPH, H^+ , ce qui la protège d'une possible inactivation par le peroxyde d'hydrogène. La séparation des sous-unités entraîne une perte de l'activité catalase (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003). Les travaux de Dasgupta *et al.* (2006) ont révélé des niveaux réduits de catalase chez les patients atteints de drépanocytose, tandis que ceux de Das & Nair (1980) ont révélé des niveaux de catalase plus accentués chez les patients drépanocytaires par rapport aux témoins. L'augmentation de la catalase pourrait être un mécanisme de défense visant à capter le maximum de H_2O_2 , tandis que la diminution de la catalase pourrait être due à l'excès de stress oxydatif que le système de défense antioxydant défailant des patients atteints de drépanocytose ne parvient plus à contrer.

✓ **Glutathions peroxydases**

Les glutathion peroxydases sont sans doute parmi les systèmes enzymatiques de défense les plus cruciaux. Elles ont la capacité de neutraliser le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydro-péroxydes provenant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras. Elles réalisent cette détoxification en associant la réduction de l'hydro-péroxyde à l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion, le cytochrome C (dans le cas des cytochrome C peroxydases), ou le NADH (dans le cas des NADH peroxydases) (Thérond & Denis, 2005). Le glutathion oxydé est ensuite régénéré par l'action de la glutathion réductase, qui fonctionne par oxydation du NADPH, H^+ ,

principalement produit par la voie des pentoses phosphates (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Thérond & Denis, 2005). D'autres enzymes, comme la glutathion transférase, les thiorédoxines réductases, les thiorédoxines peroxydases et l'hème oxydase, ont aussi une activité antioxydante notable. Les travaux de Gizi *et al.* (2011) ont révélé une augmentation de la glutathion peroxydase chez les patients atteints de drépanocytose par rapport aux témoins AA, tandis qu'aucune différence dans le niveau de glutathion réductase n'a été observée entre les deux groupes. Ces résultats ont été remis en question par les travaux de Cho *et al.* (2010) qui ont constaté une diminution de 33 % de l'activité de la glutathion peroxydase chez les patients atteints de drépanocytose par rapport aux témoins, une perte corrélée à l'hémolyse observée chez ces patients. Cependant, ils ont noté chez les patients traités à l'hydroxy-urée une augmentation de 90 % de l'activité de la glutathion peroxydase 1 par rapport aux patients ne recevant pas d'hydroxy-urée.

1.10.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants englobe de nombreuses substances que l'organisme produit, y compris le glutathion, l'acide urique, les vitamines (A, C, E) et la bilirubine. Parmi tous ces composés que les cellules synthétisent, le glutathion réduit est sans doute le plus crucial. C'est le principal thiol à l'intérieur des cellules et il offre une protection contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le (·NO) (Favier, 2003 ; Amer *et al.*, 2006 ; Gizi *et al.*, 2011). La bilirubine, pour sa part, a la capacité de capturer les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras qui lui sont liés des attaques radicalaires (Neuzil & Stocker, 1993). Des composés comme les vitamines E, C, Q ou les caroténoïdes, qui sont obtenus par l'alimentation, fonctionnent en se liant aux radicaux et en neutralisant l'électron libre, rendant ainsi les molécules ou les ions stables (Krinsky, 1989). Des protéines telles que l'haptoglobine, la transferrine et l'hémopexine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} . Les travaux de Amer *et al.* (2006) ont démontré que l'administration de vitamines A, C et E a diminué le niveau de glutathion et le stress oxydatif exacerbé chez les patients atteints de drépanocytose.

1.11. Manifestations cliniques de la drépanocytose

Même si l'anémie et l'apparition de crises vaso-occlusives de divers degrés de gravité sont les traits distinctifs de la drépanocytose, cette maladie entraîne une multitude de complications aiguës et chroniques qui rendent le traitement des patients plus complexe (Lamarre, 2013).

1.11.1. Crises vaso-occlusives

Les crises dites vaso-occlusives surviennent lorsque les capillaires sont obstrués par des cellules en forme de faucille provoquant des douleurs aiguës et soudaines dans diverses régions du corps. Avec le temps, ces crises peuvent causer la dégradation de certains organes ou de leurs parties. Les douleurs peuvent toucher toutes les régions du corps, y compris le dos, le thorax, les extrémités et l'abdomen, ces dernières étant les plus fréquemment affectées. Les épisodes douloureux, qui durent généralement de trois à dix jours, sont imprévisibles (Aufradet, 2012).

➤ **Syndrome pied-main ou dactylite**

Ce syndrome affecte uniquement les enfants de moins de deux ans. Les pieds et/ou les mains de l'enfant peuvent devenir chauds, enflés et les mouvements peuvent être douloureux. Cela peut être le premier signe de la maladie chez les jeunes enfants, qu'il soit accompagné ou non de fièvre (Kplé, 2023).

1.11.2. Anémie hémolytique

L'anémie est caractérisée par une insuffisance d'hémoglobine ou de globules rouges, entraînant une fatigue intense et un sentiment de faiblesse. En cas d'anémie sévère, le patient peut éprouver des problèmes respiratoires (essoufflement) et une augmentation de la fréquence cardiaque (tachycardie). Les individus affectés sont constamment anémiques, mais ils s'adaptent généralement assez bien à cette condition. Parfois, les seuls symptômes apparents sont la fatigue, une teinte jaunâtre des yeux ou de la peau (ictère) et une coloration sombre de l'urine (Connes, 2011).

1.11.2.1. Aggravation de l'anémie (séquestration splénique)

L'hyperactivité de la rate est un phénomène qui se manifeste principalement chez les enfants. Les symptômes de la séquestration splénique comprennent : des douleurs abdominales, une augmentation soudaine et significative du volume de la rate (splénomégalie), une pâleur prononcée et, en général, une exacerbation de tous les symptômes de l'anémie. Les crises aplasiques se manifestent par des symptômes tels que la fièvre, des maux de tête (céphalées), des douleurs abdominales, une perte d'appétit ou des vomissements. Ces symptômes sont temporaires. Ces crises peuvent être associées à une infection par le parvovirus B19 ou à une carence en acide

folique (vitamine B9), qui doit être consommée régulièrement par les personnes atteintes de drépanocytose (Lamarre, 2013 ; Makani *et al.*, 2014).

1.11.2.2. Syndrome thoracique aiguë

La radiographie pulmonaire révèle des taches blanches anormales (infiltrats pulmonaires). Il s'agit d'une complication sérieuse dont le patient et son entourage doivent être conscients. Chez les enfants, ce syndrome est souvent causé ou associé à une infection pulmonaire. Les symptômes de ce syndrome comprennent de la fièvre, des difficultés respiratoires (dyspnée), une respiration rapide, une toux et des douleurs thoraciques. Toutes ces crises nécessitent une intervention médicale d'urgence (Castro *et al.*, 1994).

1.11.3. Accident vasculaire cérébrale

Les symptômes peuvent varier considérablement et peuvent être temporaires (dans ce cas, on parle d'accidents ischémiques transitoires). Ils peuvent inclure la perte de sensation ou de force dans un bras, une jambe, ou la moitié du visage, la paralysie d'un côté du corps ou d'un membre (hémiplégie), des difficultés soudaines à parler (aphasie), des troubles de l'équilibre, des convulsions, et parfois même le coma. Des maux de tête intenses ou des problèmes d'apprentissage soudains peuvent servir de signaux d'alarme (Platt *et al.*, 1994).

1.11.4. Susceptibilité accrue aux infections

Les enfants, parfois dès l'âge de trois mois, et les adultes à un degré moindre, sont particulièrement vulnérables aux infections bactériennes. Ces infections peuvent évoluer rapidement et nécessitent donc un traitement immédiat. Elles sont généralement causées par un dysfonctionnement de la rate. Les individus sont particulièrement susceptibles aux pneumonies, à la grippe, ainsi qu'aux hépatites, méningites, infections urinaires, septicémies et infections ostéo-articulaires. Les agents pathogènes les plus couramment associés à ces infections comprennent le *Plasmodium falciparum*, *Haemophilus influenzae*, les staphylocoques et les pneumocoques (Mabiala-Babela *et al.*, 2005 ; Douamba *et al.*, 2017 ; Kamara *et al.*, 2017).

1.11.5. Autres complications chroniques de la drépanocytose

Les personnes atteintes de drépanocytose peuvent rencontrer d'autres complications, y compris des problèmes cardiaques, hépatiques et rénaux, des troubles dermatologiques, de l'hypertension artérielle pulmonaire, de la rétinopathie, du priapisme et de la lithiase biliaire (Hierso, 2015).

1.12. Prise en charge de la drépanocytose

Il n'y a pas de remède curatif pour cette maladie génétique, à l'exception d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques. Cependant, plusieurs traitements sont utilisés pour apporter un soulagement aux patients. Parmi ceux-ci, on compte l'hydroxy-urée, la transfusion sanguine, les traitements pharmacologiques et la greffe de moelle osseuse (Hierso, 2015).

1.12.1. Analgésiques

Lorsqu'une crise commence, le patient peut initier le traitement à domicile par une augmentation de la réhydratation orale. En fonction de l'intensité de la douleur et des habitudes du patient, des analgésiques de différents niveaux (paracétamol + dextropropoxyphène, codéine, morphine, buprénorphine) peuvent être utilisés pour soulager la douleur associée aux crises vaso-occlusives, au priapisme, au syndrome thoracique aigu et à la séquestration splénique (Habibi *et al.*, 2004).

1.12.2. Hydroxy-urée

L'hydroxy-urée, également connue sous le nom d'hydroxy-carbamide, est une molécule qui stimule la production de l'Hb F en inhibant la synthèse de la ribonucléotide réductase (Odièvre *et al.*, 2009), ce qui réduit la falciformation. Elle agit également comme un cyto-réducteur en diminuant l'adhésion des éléments figurés du sang à l'endothélium vasculaire et en régulant le processus inflammatoire (Charache *et al.*, 1995). Malgré son mécanisme d'action, cette molécule présente relativement peu d'effets secondaires : des cas de thrombopénie et de neutropénie (liés à la myélotoxicité), une azoospermie qui est presque inévitable mais réversible à l'arrêt du traitement. Dans certains cas, des manifestations cutanées telles que des éruptions et des ulcères ont été observées (Odièvre *et al.*, 2009).

1.12.3. Transfusion sanguine

La transfusion sanguine est un élément clé dans le traitement des patients atteints de drépanocytose. Elle a généralement pour but de corriger l'anémie aiguë, d'augmenter l'oxygénation et de diminuer le pourcentage de cellules anormales, ainsi que de réduire les crises vaso-occlusives, le syndrome thoracique aigu et les douleurs (Riddington & Wang, 2002). La transfusion peut être effectuée de manière ponctuelle en réponse à des complications, ou de manière régulière afin de prévenir de futures complications (Redding-Lallinger & Knoll, 2006). Cependant, ce traitement présente des inconvénients tels que la pénurie de sang et les problèmes de compatibilité avec les patients drépanocytaires (Carboni, 2014).

1.12.4. Greffe de la moelle osseuse

En éliminant la moelle osseuse du patient et en la substituant par celle d'un donneur, une guérison complète est possible, car les globules rouges sont produits à partir de cellules souches dans la moelle osseuse. Il est préférable d'avoir un donneur aussi proche que possible, comme un frère ou une sœur (Bernaudin *et al.*, 2010). La guérison par greffe à partir de donneurs compatibles avance, mais lentement, en raison du nombre encore limité de patients ayant un donneur parfaitement compatible (Bolanos-Meade & Brodsky, 2009). De plus, l'accès aux centres de greffe est limité et il y a souvent des risques de complications immédiates ou à court terme de la greffe (mortalité) ou chroniques (Habibi *et al.*, 2015). Cette approche thérapeutique reste onéreuse pour la majorité des patients. Heureusement, ces risques diminuent rapidement, en particulier pour les enfants les plus jeunes ayant un donneur familial compatible dans la fratrie. Il est donc crucial de prévenir les infections chroniques en gardant leurs vaccinations à jour et en prenant les antibiotiques prescrits quotidiennement en cas de crise (Habibi *et al.*, 2015).

1.12.5. Prévention

Pour prévenir les crises, il est conseillé d'adopter les mesures simples suivantes :

- assurer une bonne ventilation des espaces pour une oxygénation optimale (Wajcman, 2004) ;
- boire régulièrement de l'eau (Wajcman, 2004) ;
- éviter les changements soudains de températures (Wajcman, 2004) ;
- prévenir autant que possible les infections respiratoires (Wajcman, 2004) ;

- porter des vêtements amples pour éviter l'essoufflement et surtout ne pas favoriser la constriction vasculaire (Wajcman, 2004) ;
- éviter les séjours en altitude (Wajcman, 2004) ;
- ne pas s'exposer à des températures élevées, car la déshydratation peut provoquer des crises en augmentant la viscosité du sang (Beyeme-Owono & Chiabi, 2004).

En résumé, toutes les interventions modernes proposées n'offrent que des solutions temporaires (Lippi *et al.*, 2010), et restent coûteuses pour les populations à faible revenu en Afrique. C'est dans cette perspective que la recherche de solutions alternatives avec les plantes médicinales est encouragée. Ainsi, la phytothérapie est une alternative capable de soulager les personnes atteintes de drépanocytose. De nombreuses preuves expérimentales mettent en avant l'activité anti-drépanocytaire *in vitro* et *in vivo* des plantes (Wambebe *et al.*, 2001). De nombreuses plantes sont utilisées dans le traitement de la drépanocytose en Afrique sous forme d'aliments ou de médicaments traditionnels améliorés ou de recettes traditionnelles. Par ailleurs, des recettes ou des médicaments améliorés à base de combinaisons de plantes sont proposés pour lutter contre les crises drépanocytaires. On peut citer parmi tant d'autres :

- NICOSAN (HEMOXIN aux Etats-Unis, Nicosan ou Nix-0699), une recette à base de graines de *Piper guineensis*, d'écorces de *Pterocarpus osum*, de fruits de *Eugenia caryophyllum* et de feuilles de *Sorghum bicolor*. Cette recette a également des effets antifalcémiantes (Iyanus *et al.*, 2002) et a été initialement lancée au Nigeria par le National Institute for Pharmaceutical Research and Development (NIPRD).
- DREPANOALPHA : une combinaison de plusieurs plantes comestibles riches en anthocyanes, en acides organiques et leurs dérivés. DREPANOALPHA a montré des activités antifalcémiantes, anti-hémolytiques, antiradicalaires et antioxydantes. Sa capacité à augmenter le taux d'hémoglobine, de plaquettes, de globules rouges et de globules blancs a été prouvée (Gbolo *et al.*, 2017).
- FACA : une combinaison de poudre de racines de *Fagara zanthoxyloides* (Rutaceae) et de poudre de racines de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) développée par Ouattara, 1991 qui a réalisé un criblage phytochimique de ces deux plantes, ainsi qu'une formulation de la poudre d'écorces de racines en gélules.
- VK-500 développé à partir de plusieurs plantes dont *Fagara zanthoxyloides* et commercialisé au Bénin depuis 1999 (Bossopki, 2003).

- DREPANOSTAT : son principe actif est l'acide hydroxyméthylbenzoïque et il agirait en augmentant le taux de Hb F. Commercialisé au Togo, il est obtenu à partir d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* (Mavian, 2012).

2. Cellules sanguines

2.1. Hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus biologique complexe et essentiel qui permet la formation et le renouvellement des cellules sanguines. Ce processus se déroule principalement dans la moelle osseuse, où les cellules souches hématopoïétiques se multiplient et se différencient pour donner naissance à toutes les lignées cellulaires du sang. Ces cellules souches sont capables de se dupliquer, de se différencier en divers types de cellules sanguines, et de s'amplifier pour répondre aux besoins de l'organisme. Pendant la vie fœtale, le foie et la rate jouent également un rôle dans l'hématopoïèse, abritant des cellules souches pluripotentes qui, sous l'influence de facteurs de croissance spécifiques, se transforment en précurseurs, subissent une maturation supplémentaire pour devenir des cellules T dans le thymus et des cellules B dans la moelle osseuse. À l'âge adulte, la moelle osseuse devient le site exclusif de l'hématopoïèse (Bernard *et al.*, 1996).

2.2. Sang

Le sang, est un fluide vital qui circule dans le réseau vasculaire grâce à l'action de la pompe cardiaque. Sa densité légèrement supérieure à celle de l'eau et son pH presque neutre reflètent sa composition complexe et ses multiples fonctions. Le sang transporte des nutriments, des hormones et des gaz respiratoires, régule la température corporelle et le pH du milieu interne et joue un rôle crucial dans la défense de l'organisme contre les infections (Schaffer & Mence, 2004).

2.2.1. Composition et fonction du sang

La composition du sang est principalement constituée de plasma, un liquide jaunâtre dans lequel se trouvent suspendues des cellules telles que les globules rouges, responsables de la couleur rouge du sang et du transport de l'oxygène, les globules blancs, qui font partie du système immunitaire, et les plaquettes, impliquées dans la coagulation. Le plasma contient également des sels minéraux, des protéines, des substances organiques et des déchets métaboliques, tous essentiels au bon fonctionnement de l'organisme (Kuhn *et al.*, 2017).

2.2.1.1. Globules rouges

Les globules rouges sont des cellules biconcaves sans noyau, optimisées pour le transport de l'oxygène grâce à l'hémoglobine, une protéine complexe qui se lie à l'oxygène et le transporte vers les tissus. L'hémoglobine est composée de quatre chaînes polypeptidiques formant un tétramère, avec chaque chaîne liée à un groupe hème contenant un atome de fer essentiel à la fixation de l'oxygène. Cette structure permet à l'hémoglobine de jouer un rôle central dans la physiologie respiratoire (Marieb, 1999).

➤ Description et fonction de l'hémoglobine

L'hémoglobine, pigment essentiel du sang, joue un rôle crucial dans la physiologie respiratoire. Sa structure tétramérique, composée de quatre chaînes polypeptidiques, deux alpha et deux bêta, permet une fixation efficace de l'oxygène grâce à la présence de l'hème, qui contient un atome de fer ferreux (Fe^{2+}). Ce complexe fer-oxygène est fondamental pour le transport de l'oxygène vers les tissus où il sera libéré pour répondre aux besoins métaboliques (Schaffer & Mence, 2004). La localisation des gènes de la globine sur les chromosomes 16 et 11 est un exemple de la précision de l'organisation génétique, qui, malgré la possibilité de mutations, maintient généralement la fonctionnalité de l'hémoglobine. Cependant, certaines mutations, comme celle affectant le gène de la chaîne bêta, peuvent entraîner des pathologies telles que la drépanocytose, soulignant l'importance de ces séquences génétiques dans la santé humaine.

2.2.1.2. Thrombocytes

Quant aux thrombocytes, ces cellules anucléées dérivées du mégacaryocyte, elles sont indispensables à l'hémostase. Leur rôle est d'intervenir rapidement lors d'une lésion vasculaire pour former un caillot et prévenir les hémorragies, démontrant ainsi l'efficacité des mécanismes de défense de l'organisme (Jandrot-Perrus & Nurden, 2007).

3. Plantes étudiées

3.1. Description des plantes et leurs positions systématiques

La classification (position systématique) des différentes espèces de plantes se fera selon la classification phylogénétique APG III 2009.

✓ *Newbouldia laevis*

Connu sous le nom d'hysope africaine ou (arbre-borne, balié ou borna) et localement appelée gbagblouhi, le *Newbouldia laevis* est une plante vivace appartenant à la famille des Bignoniaceae. C'est la seule espèce du genre *Newbouldia* et elle est répandue dans les forêts denses allant de la Guinée au Congo. En Côte d'Ivoire, on trouve l'hysope africaine dans les forêts humides, les friches et les champs. C'est une espèce anthropophile, souvent présente dans les habitations et qui serait un indicateur des anciens sites fréquentés par l'Homme dans les forêts naturelles. La plante peut prendre la forme d'un arbuste ou d'un petit arbre de 3 à 15 m de hauteur. Ses feuilles sont généralement imparipennées avec 3 à 6 paires de folioles dentées présentant deux glandes à la base du pétiole ; elles peuvent mesurer jusqu' à 20 cm de long et 10 cm de large. L'inflorescence de *Newbouldia laevis* est une panicule terminale composée de grandes fleurs de couleurs rose pâle. Sa période de floraison s'étend de décembre à janvier et la fructification a lieu en mars. Les fruits sont des siliques de 25 cm de long contenant des valves trinervées renfermant des graines ailées de 3 cm de long. Bien que l'hysope se reproduise par graines, le bouturage est le mode de reproduction le plus couramment utilisée par les populations car il est beaucoup plus rapide (Figure 4).



Figure 4 : Feuilles et fleurs de *Newbouldia laevis* (Sibri *et al.*, 2021)

Cette espèce, qui appartient à la famille des Bignoniaceae, est une plante vivace. Elle est la représentante du genre *Newbouldia*, qui fait partie de la classe des Magnoliopsida et du règne des Plantae.

3.1.1. Position systématique de *Newbouldia laevis*

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Sous-classe	: Asteridae
Ordre	: Lamiales
Famille	: Bignoniaceae
Genre	: <i>Newbouldia</i>
Espèce	: <i>Newbouldia laevis</i>

✓ *Ficus capensis*

Connu sous les noms usuels de diénatoro, figuier du ciel, girini, poro, soto ou toroni, *Ficus capensis* a pour nom local gbagohi, cet arbre atteint une grande hauteur et possède une cime large. Ses feuilles, ovales et oblongues, sont plus pâles en dessous et glabres sur les deux faces, mesurant de 2 à 3 pouces de long. Les fruits de la taille d'une noisette au moins, sont glabres, pédonculés, dispersés et turbinés. Les rameaux sont glabres, lisses, striés, cylindriques et rudes dans leur jeunesse. Les feuilles sont pétiolées, mesurant 3 pouces de long, hérissées sur les deux faces, avec une pubescence en dessous, aiguës, entières à la base, denticulées en haut, traversées par 3 nervures. Les pétioles sont rudes et les pédoncules sont géminés, mesurant trois lignes de long (Figure 5).



Figure 5 : Feuilles de *Ficus capensis* (Sibri *et al.*, 2021)

Ce genre, qui appartient à la famille des Moraceae, comprend des arbres, des arbustes et des lianes. Il compte plus de 750 espèces, dont *Ficus capensis*, qui fait partie de la classe des Magnoliopsda et du règne des Plantae.

3.1.2. Position systématique de *Ficus capensis*

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Sous-classe	: Hamamelidea
Ordre	: Urticales
Famille	: Moraceae
Genre	: <i>Ficus</i>
Espèce	: <i>Ficus capensis</i>

✓ *Carpolobia lutea*

Usuellement connu sous le nom de Kikandou ou plintié et de nom local lokohi, l'espèce *Carpolobia lutea* a une écorce lisse et des rameaux brièvement poilus qui deviennent rapidement glabres. Ses feuilles sont alternes, simples et entières. Les stipules sont absentes ou réduites à des points glandulaires. Le pétiole mesure de 1,5 à 3 mm de long. Le limbe est elliptique, mesurant de 1,5 à 12,5 (jusqu'à 15) cm de long et de 1 à 5 (jusqu'à 6,5) cm de large, avec une base arrondie ou cunéiforme. L'apex est généralement acuminé, papyracé et brièvement poilu en dessous ou presque glabre. Il est pennatinervé avec 3 ; 4 à 7 jusqu'à 9 paires de nervures latérales. L'inflorescence est une grappe axillaire jusqu'à 3 cm de long, brièvement pubescente, avec 1 ; 2 à 5 jusqu'à 7 fleurs. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes. Le pédicelle mesure de 3 à 7 mm de long. Les sépales sont inégaux, ovales à elliptiques, mesurant de 3 à 8 mm de long et de 2 à 6 mm de large, avec des bords poilus. Les pétales sont inégaux, mesurant de 1 à 2 cm de long, les deux supérieurs sont oblongs, les deux latéraux sont étroitement obovales et l'inférieur est cuculle, de couleur blanche, crème ou jaunâtre. Le sommet est rouge violacé à rose clair. Les étamines mesurent de 1 à 1,5 cm de long, soudées sur plus de la moitié de leur longueur en une gaine qui est à son tour soudée aux pétales supérieurs. L'ovaire supérieur est ellipsoïde, légèrement trilobé et se rétrécit en un style courbé d'environ 1 cm de long. Les fruits sont des baies globuleuses à obovoïdes, mesurant jusqu'à 2,5 cm de long et 2 cm de large, légèrement trilobées, glabres de couleur jaune à orange à maturité et pointues. Ils contiennent 1 à 3 graines. Les graines sont ellipsoïdes à ovoïdes, aplaties, mesurant de 0,5 à 1 cm de long, avec des poils brun rouille denses (Figure 6).



Figure 6 : Feuilles et fruits de *Carpolobia lutea* (Sibri *et al.*, 2021)

Le genre *Carpolobia* comprend 5 espèces dont *Carpolobia lutea*, toutes présentes en Afrique tropicale continentale et une étant aussi à Madagascar. Il appartient à la famille des Polygalaceae, de la classe des Magnoliopsida et au règne des Plantae.

3.1.3. Position systématique de *Carpolobia lutea*

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Sous-classe	: Rosidae
Ordre	: Fabales
Famille	: Polygalaceae
Genre	: <i>Carpolobia</i>
Espèce	: <i>Carpolobia lutea</i>

3.2. Utilisations ethnomédicales

✓ *Newbouldia laevis*

Une infusion de ses feuilles est utilisée pour traiter l'ophtalmie et la conjonctivite. Les feuilles de cette plante, préparées dans une soupe à l'huile de palme, sont consommées par les femmes enceintes pour faciliter l'accouchement et stimuler une production de lait abondante. La cendre des feuilles, combinée avec du sel, est utilisée comme remède contre les douleurs thoraciques. Une infusion de feuilles, en combinaison avec celles de *Psidium guajava*, est utilisée pour soigner la diarrhée et la dysenterie. Les feuilles mâchées sont appliquées sur la blessure d'une morsure de serpent, qui est ensuite aspirée pour extraire le venin (Fern, 2014). L'écorce de la tige est fréquemment utilisée en médecine traditionnelle africaine pour ses propriétés analgésiques et gastriques. On l'utilise en décoction pour soigner la toux, la diarrhée et la dysenterie, et elle est également administrée aux enfants pour traiter l'épilepsie et les convulsions (Burkil, 1995). Une décoction d'écorces, associée au piment, est utilisée pour soulager les douleurs thoraciques. L'écorce séchée et les jeunes branches broyées avec *Xylopiya sp* sont administrées en décoction ou en infusion pour traiter des troubles tels que les coliques utérines et la dysménorrhée (Burkil, 1995). L'écorce est administrée sous forme de lavement pour traiter la constipation et les hémorroïdes. Une ou deux inhalations de l'écorce séchée au soleil et broyée avec du sel de palme ($K_2 CO_3$) et les fruits de *Piper guineensis* sont utilisées pour soigner les maux de tête et les sinusites. On dit qu'elle soulage même la migraine la plus tenace. Appliquée à l'extérieur, on dit que l'écorce soigne une variété d'affections cutanées, y compris les plaies septiques, les abcès et les ulcères. Elle est également utilisée pour traiter les morsures de serpent. Un cataplasme de l'écorce est appliqué sur les articulations pour soigner les rhumatismes. L'écorce interne molle est placée dans l'oreille comme remède contre les maux d'oreille. Au Nigeria, l'écorce est mâchée et avalée pour soulager les douleurs d'estomac, la diarrhée et les maux de dents (Lewis & Manony, 1977). Une décoction de racines écrasées est utilisée pour traiter les troubles intestinaux, la syphilis et comme vermifuge contre les vers ronds (Barwick, 2004). Appliquée à l'extérieur, elle est utilisée comme cataplasme pour soulager les membres douloureux. Les racines grattées, associées au piment, sont insérées dans une dent cariée. Une décoction de feuilles et de racines broyées utilisées ensemble est employée comme remède contre la hernie ou pour toute forme d'orchite. La plante s'est avérée efficace pour le traitement de l'éléphantiasis, de la dysenterie, des gonflements rhumatismaux, de la syphilis, de la constipation, des hémorroïdes et comme vermifuge. Elle a

également été trouvée utile pour le mal d'oreille, les pieds douloureux, les douleurs thoraciques, l'épilepsie et les convulsions chez les enfants (Akunyili, 2000). La feuille, la tige et les fruits ont été utilisés pour réduire la fièvre, panser les plaies et soulager les maux d'estomac (Iwu, 2000).

✓ *Ficus capensis*

Ce *Ficus*, qui est couramment trouvé dans les formations secondaires de la forêt, dans les galeries forestières et dans les savanes humides, est très estimé par les thérapeutes locaux. Il est utilisé seul comme remède contre la blennorragie (décoction de racines en lavements, ou jus de jeunes pousses à boire), comme traitement contre la dysenterie (décoction de tiges feuillées à boire), et pour soulager les douleurs musculaires fébriles, les maux de tête et les troubles bronchiques. Il est souvent considéré comme un diurétique et un aphrodisiaque. En lavement, la pulpe d'écorces mélangée à des fruits de *Xylopi* *sp* est utilisée pour traiter les œdèmes. Probablement en raison de sa grande quantité de fruits, le *Ficus capensis* est souvent utilisé pour lutter contre la stérilité. Les différentes parties de l'arbre sont utilisées dans la préparation de remèdes complexes pour traiter la lèpre (Kong), l'épilepsie (Katiola), le rachitisme chez les enfants (Korhogo) et les empoisonnements. Il est parfois considéré comme une plante fétiche et à ce titre, une décoction de tiges et de feuilles est administrée en boisson et en bains pour se protéger des malédictions et, en particulier, de la folie causée par les mauvais esprits. C'est également pour cette raison qu'il est parfois utilisé dans la préparation de certains poisons de flèche (Esievo *et al.*, 2018).

✓ *Carpolobia lutea*

La poudre obtenue à partir des écorces est administrée par voie nasale pour traiter les maux de tête et la somnolence causé par la fatigue. Elle entraîne de nombreuses larmes et éternuement. La décoction de la tige est utilisée pour baigner les enfants qui ont de la fièvre. La pulpe de l'écorce des racines est consommée comme stimulant sexuel au Bénin (Adomou *et al.*, 2012). L'écorce et les feuilles de cette plante sont employées pour soigner certaines maladies comme les douleurs dentaires, le rhumatisme et également comme stimulant sexuel (Kadiri *et al.*, 2012).

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

Un certain nombre d'équipements a été sollicité pour les tests expérimentaux. Ainsi, pour la réalisation des tests pharmacologiques et phytochimiques, le matériel biologique (le sang humain de patients atteints de drépanocytose SS, les rats de laboratoire de la souche Wistar, et le matériel végétal) et technique tout comme des produits chimiques ont été utilisés.

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* et *Carpolobia lutea* utilisées dans cette étude ont été collectées en décembre 2019 à Daloa. Ensuite, elles ont été séchées à la température ambiante au laboratoire pendant deux semaines, puis finement pulvérisées séparément à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir distinctement des poudres végétales. De plus, les poudres végétales obtenues de chaque plante ont été mélangées dans des proportions égales afin d'avoir un produit végétal de base, qui a été conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité. Enfin, celui-ci a été utilisé tout au long de l'étude, notamment pour la préparation des divers extraits (aqueux et hydro-éthanoliques) et pour les tests ultérieurs.

1.1.2. Matériel animal

Le matériel animal a été constitué de rats mâles et femelles de laboratoire de la souche Wistar, appartenant à l'espèce *Rattus norvegicus*. Ils sont âgés de 90 jours et pèsent entre 130 et 210 g. Ils ont été nourris à volonté avec des granulés de la société FASCI et du pain rassis, et ont eu accès à de l'eau du robinet constamment renouvelée dans des biberons nettoyés. Leur alimentation leur a été fournie chaque jour à la même heure. Les animaux ont été logés dans des cages en plastique. Des copeaux de bois ont été utilisés comme litière dans ces cages et renouvelés chaque deux jours.

1.1.3. Sang de personnes drépanocytaires

Le sang de personnes drépanocytaires considérées est celui de celles qui portaient le génotype SS et qui ont été consultées au service d'hématologie du CHU de Cocody. Ces personnes ont été répertoriées au service d'hématologie du CHU de Cocody sur la base de leur statut hémoglobinique et l'hémogramme. Elles ont été sélectionnées après leur consentement écrit afin de respecter les principes d'éthique. Néanmoins, les prélèvements sanguins ont été réalisés à partir du pli du coude

puis recueillis dans des tubes contenant de l'EDTA (éthylène diamine tétra acétique). L'âge et le sexe des volontaires n'ont pas été pris en compte lors de l'échantillonnage. Les critères d'inclusion pour cette étude ont été les suivants :

- Les patients devaient avoir le génotype SS.
- Les patients ne devaient pas avoir reçu de transfusion sanguine deux mois avant le prélèvement.
- Les patients devaient avoir un taux d'hémoglobine fœtal inférieur à 5 %.
- Les patients ne devaient pas être en crise et/ou avoir d'autres maladies.

1.2. Matériel technique

Pour la réalisation de cette étude, le matériel technique utilisé est composé de :

- l'échantillonnage a été effectué à l'aide de couteaux et de machettes ;
- la confection des herbiers a été réalisée avec des papiers journaux ;
- les plantes ont été transportées dans des sacs en plastique ;
- un broyeur électrique de marque Retsch SK 100 a été employé pour la pulvérisation des plantes ;
- le séchage des extraits de plantes a été effectué dans une étuve de la marque VENTICELL ;
- les longueurs d'ondes ont été mesurées à l'aide d'un spectromètre ;
- un compteur automatique de cellules sanguines (Sysmex KX 21) a été utilisé pour l'hémogramme ;
- le diamètre de la patte de l'animal a été mesuré avec un pied à coulisse électronique (stainless shardened digital) ;
- une centrifugeuse JOUAN BR4i (JOUAN GmbH, Allemagne) a été utilisée pour obtenir le sérum à partir du sang total après centrifugation ;
- les différentes pesées ont été effectuées à l'aide d'une balance électronique ;
- une canule d'intubation a été utilisée pour l'administration orale des extraits ;
- le petit matériel de laboratoire (erlenmeyer, éprouvette graduée, pipettes, micropipettes, baguette d'agitation, seringues graduées, tubes à essai et gants) a été utilisé pour la réalisation des tests ;
- les micropipettes (P100, P200, P1000, P5000) et leurs embouts (100 µL, 200 µL, 1000 µL) ont été sollicités pour effectuer les différents tests ;

- et les prélèvements ont été effectués dans des tubes EDTA, secs, citratés et gris.

1.3. Produits chimiques

L'éthanol à 70 % et l'eau distillée ont été utilisés pour les extractions. Cependant, pour le lavage des hématies et les dilutions des extraits, l'eau physiologique (NaCl 0,9 %) a été sollicitée. Pour la réalisation du tri phytochimique des différents extraits, divers solvants tels que le chloroforme, l'alcool éthylique à 96°, l'acétate de sodium, l'acide chlorhydrique fumant (HCl), l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄), l'alcool chlorhydrique dilué deux fois, l'alcool isoamylique, l'ammoniac dilué deux fois, l'anhydride acétique, le chlorure ferrique 2 %, des copeaux de magnésium, le réactif de Bouchardat (réactif iodo-ioduré), le réactif de Dragendorff (iodosbismuthate de potassium), le réactif de Stiasny et le réactif de Bornstraëgen (ammoniac dilué de moitié) ont été employés. En ce qui concerne la détermination de la teneur en composés phénoliques, le chlorure de fer III (FeCl₃), le réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, la quercétine, le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la vanilline, l'acide chlorhydrique, le carbonate de sodium (Na₂CO₃), l'acétate de sodium et l'acétate de potassium fournis par Merck Co (Allemagne) ont été utilisés. Quant à la mesure de l'activité antioxydante des différents extraits de plantes, les produits provenant de Sigma (St. Louis, MO, USA) tels que le chlorure de fer II (FeCl₂), le ferricyanure de potassium, l'acide trichloroacétique (TCA), le chlorure de fer III (FeCl₃), le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) et la vitamine C ont été sollicités. Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, l'Adjuvant Complet de Freund, la carragénine et le diclofénac de sodium ont été utilisés. Et enfin, l'acide acétique a été employé pour induire des spasmes chez les rats.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'extrait aqueux

Elle a été réalisée selon la méthode de Zirihi *et al.* (2003). Elle a consisté à mélanger cent grammes (100 g) du produit végétal de base avec un litre d'eau distillée puis à l'homogénéiser 10 fois à l'aide d'un mixeur de marque BINATONE à raison de 2 minutes par homogénéisation. L'homogénat obtenu a été essoré à l'aide d'un carré de tissu en coton blanc puis filtré 3 fois en continu sur du coton hydrophile et du papier Whatman (3 mm) afin d'avoir un filtrat. Enfin, il a

été séché à 50 °C pendant 48 heures à l'aide d'une étuve de type VENTICELL pour obtenir une poudre appelée extrait aqueux sec (EAR).

2.2. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique

Elle a été effectuée comme précédemment à la seule différence qu'à la place de l'eau distillée, elle a été faite avec un litre d'éthanol à 70 % (éthanol-eau distillée ; 70/30 (V/V)) afin d'obtenir un homogénat. L'homogénat obtenu a ensuite été essoré une fois sur un morceau de tissu blanc puis séquentiellement avec du coton hydrophile, et ensuite filtré sur du papier Whatman pour obtenir le filtrat. Enfin, le filtrat obtenu a été séché dans une étuve à 50 °C pendant 48 heures pour obtenir un extrait hydro-éthanolique sec (EHR).

2.3. Tri phytochimique des différents extraits

Il a permis de caractériser les principaux groupes chimiques tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes. Ces composés ont été mis en évidence qualitativement et quantitativement à l'aide de réactifs appropriés.

2.3.1. Mise en évidence qualitative des composés chimiques

2.3.1.1. Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes se combinent avec les métaux lourds (bismuth, iode, mercure, tungstène) et précipitent sous forme de sels. Les métaux lourds utilisés dans les réactifs servant à leur détermination sont :

- l'iode dans le réactif de Bouchardât qui entraîne la formation de précipité brunâtre ;
- le couple iode et bismuth dans le réactif de Dragendorff engendre la formation de précipité orangé ;
- l'iode et le mercure dans le réactif de Valser-Mayer forment un précipité blanc laiteux (Dohou *et al.*, 2003).

Elle a été réalisée à l'aide des réactifs de Bouchardât et Dragendorff. A cet effet, un volume de 6 mL de chaque extrait a été évaporé à sec. Puis, le résidu a été dissout dans 6 mL d'alcool (éthanol) à 50 °C. Ensuite, l'ajout de deux gouttes de réactif de Dragendorff à cette solution éthanolique a produit une couleur orange. Enfin, l'ajout de deux gouttes de réactif de Bouchardât à la solution précédente a produit un précipité, indiquant la présence d'alcaloïdes (Dohou *et al.*, 2003).

2.3.1.2. Recherche des polyphénols

La colorimétrie des phénols met à profit la formation de précipité coloré avec une solution de chlorure ferrique (FeCl_3). L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, indique la présence de composés polyphénoliques. L'ajout de FeCl_3 à 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu-noir en présence de tanins galliques et au brun-verdâtre en présence de tanins catéchiqes (Fankam *et al.*, 2011). L'appréciation de cette coloration est faite par rapport à un essai témoin qui est une solution de phénol. En solution aqueuse, les tanins sont précipités par les sels de métaux lourds (Sn, Pb, Hg, Cu, Zn). Il y a deux types de tanins, les tanins catéchiqes et les tanins galliques. La réaction au formol chlorhydrique (réactif de Stiasny) permet de distinguer les tanins catéchiqes des tanins galliques par saturation à l'acétate de sodium. Les tanins catéchiqes sous forme condensée (non hydrolysable) sont précipités par chauffage au bain-Marie à 80 °C et forment de gros flocons après refroidissement. Les tanins galliques qui sont sous forme d'hétérosides hydrolysables sont hydrolysés après addition d'acétate de sodium. L'addition de quelques gouttes de perchlorure de fer, va donner une coloration bleu-noire spécifique indiquant la présence des tanins galliques. Un essai témoin est fait avec l'acide gallique. Les polyphénols ont été révélés par réaction avec du chlorure ferrique. Pour ce faire, il a été ajouté une goutte de solution aqueuse de chlorure ferrique à 2 mL d'extrait végétal. L'apparition par suite d'une couleur bleu-noire ou verte plus ou moins foncée a reflété la présence de composés phénoliques (Fankam *et al.*, 2011).

2.3.1.3. Recherche des saponines

En solution aqueuse, les saponosides ont un indice de mousse très élevé. Cette propriété a été donc mise à profit dans ce test, par agitation vigoureuse d'un échantillon de volume d'extrait. Après cette agitation, la mousse formée dans l'échantillon doit avoir 1 cm de hauteur au moins, être stable et persistée pendant plusieurs minutes. Cela indique la présence de saponines. Pour cette étude, un volume de 10 mL d'extrait végétal a été mis dans un tube à essai puis secoué pendant dix secondes ensuite laisser reposer pendant dix minutes. La persistance de la mousse d'environ 3 cm indique la présence de saponines (Yves-Alain *et al.*, 2007).

2.3.1.4. Recherche des tanins

La caractérisation des tanins est fondée sur le fait qu'ils permettent sous l'action du réactif de Stiasny ajoutée en faible quantité, l'observation de gros précipités qui met en évidence la présence de tanins catéchiques. Celle des gallotanins est due au fait qu'ils donnent sous l'action FeCl_3 une coloration bleu-noire intense. Pour rechercher des tanins catéchiques, un volume de 5 mL de chaque extrait a été évaporé à sec puis il y a été ajouté 15 mL de réactif de Stiasny. Ensuite, le mélange a été maintenu dans un bain-Marie à 80 °C pendant 30 minutes. L'observation de gros précipités a mis en évidence la présence de tanins catéchiques. Pour les gallotanins, la solution précédente a été filtrée puis le filtrat a été saturé d'acétate de sodium. L'ajout ultérieur de trois gouttes de FeCl_3 a produit une couleur bleu-noire intense, indiquant la présence de tanins galliques (Dohou *et al.*, 2003).

2.3.1.5. Recherche des substances quinoniques

La caractérisation des quinones est fondée sur le fait qu'ils donnent sous l'action d'une lessive alcaline ajoutée en faible quantité (ammoniaque, soude, eau de chaux), une coloration rouge cerise. Ces substances ont été recherchées en évaporant à sec, un volume de 2 mL de chaque extrait. Le résidu a été trituré dans 5 mL d'acide chlorhydrique dilué au 1/5, transféré dans un tube à essai puis placé dans un bain-Marie à 80 °C pendant 30 minutes. Après le refroidissement, la solution obtenue a été mélangée avec 10 mL de chloroforme puis il a été ajouté 0,5 mL d'ammoniaque. L'apparition de couleur rouge ou violette a indiqué la présence de quinone (Dohou *et al.*, 2003).

2.3.1.6. Recherche des stérols et des terpènes

L'apport de l'anhydride acétique acidifie l'homogénat de l'extrait végétal. Les stérols et terpènes sont mis en évidence par addition d'acide sulfurique. L'apparition ou non à l'interface d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive ou négative. Elle a été réalisée à l'aide du réactif de Lieberman. A cet effet, un volume de 5 mL de chaque extrait a été évaporé à sec. Ensuite, le résidu obtenu a été dissout thermiquement dans 1 mL d'anhydride acétique par la suite 0,5 mL d'acide sulfurique concentré y a été ajouté. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interface, qui vire d'abord au bleu puis au vert, a indiqué la présence de terpènes (Fankam *et al.*, 2011).

2.3.1.7. Recherche des flavonoïdes

En solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant, les hétérosides flavoniques donnent des dérivés diversement colorés en fonction de la structure chimique du flavonoïde. Ainsi, les flavones vont donner une coloration orange ; les flavonols, une coloration rouge et les flavonones, une coloration rouge-violacée. La détermination des flavonoïdes a été réalisée par les réactions à la cyanodine. A cet effet, un volume de 2 mL de chaque extrait a été évaporé puis le résidu a été dissout dans 5 mL d'acide chlorhydrique diluée deux fois. Ensuite, il a été ajouté 2 à 3 morceaux de copeaux de magnésium afin d'observer un dégagement de chaleur suivi d'une couleur rose-orangée ou violette. L'ajout par la suite de 3 gouttes d'alcool isoamylique rehausse ou non cette couleur, confirmant ainsi la présence de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

2.3.1.8. Recherche des leuco-anthocyanes

La caractérisation des leuco-anthocyanes est basée sur le fait qu'elles peuvent changer de couleur en fonction du pH de la solution dans laquelle elles se trouvent. En ajoutant de l'acide chlorhydrique, il y a une baisse du pH, ce qui provoque un changement de couleur des leuco anthocyanes. Pour sa mise en évidence, un volume de 2 mL de l'extrait végétal a été évaporé sur un bain de sable. Après refroidissement sur pailleasse, un volume de 5 mL d'acide chlorhydrique concentré à 37 % et 1 mL d'alcool isoamylique ont été ajoutés au résidu. La solution obtenue a été chauffée dans un bain-Marie à 80 °C pendant 30 minutes. L'aspect rouge cerise ou violet a caractérisé la présence d'anthocyanes incolores (Wagner & Bladt, 2001).

2.3.2. Etude quantitative des composés chimiques

2.3.2.1. Dosage des composés phénoliques

2.3.2.1.1. Dosage des phénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Singleton *et al.* 1999). Pour cette étude, un volume de 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) a été ajouté à 200 μ L d'échantillon d'extrait (aqueux ou hydro-éthanolique) ou du standard (préparé dans l'éthanol) avec des dilutions

appropriées. Après 4 minutes, un volume de 500 μL d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/mL) a été ajouté au milieu réactionnel. Ensuite, le mélange a été agité au vortex pendant 10 secondes puis incubé à 40 °C pendant 30 minutes. Une heure après incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 760 nm. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle a été exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait)

2.3.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de dosage des flavonoïdes est basée sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3). La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (Bougandoura & Bendimerad, 2013). Pour cela, un volume de 100 mL de chaque extrait a été mélangé séparément avec 0,4 mL d'eau distillée et 0,03 mL d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 5 %. Après 5 minutes, un volume de 0,02 mL d'une solution d' AlCl_3 à 10 % a été ajouté. Par la suite, un volume de 0,2 mL de solution de Na_2CO_3 (1 M) et 0,25 mL d'eau distillée ont été ajoutés après 5 minutes de repos. L'ensemble a été agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g).

2.4. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

2.4.1. Test au DPPH

Le test au DPPH est utilisé pour évaluer la capacité d'un antioxydant (généralement des composés phénoliques) à réduire le radical chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. La couche électronique de ce radical est saturée en présence d'antioxydants. Le DPPH initialement violet, se transforme en DPPH-H, de couleur jaune pâle. Cette décoloration reflète la capacité de l'extrait de la plante à piéger ce radical, qui peut être détecté par un spectrophotomètre-UV. La réduction du DPPH est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515-517 nm. La vitesse de la réaction et la quantité de DPPH-H formée dépendront de la nature et de la concentration de l'antioxydant.

Au cours du travail, l'activité antiradicalaire a été déterminée par le test de DPPH en utilisant une méthode légèrement modifiée décrite par Mansouri *et al.* (2005). Pour ce faire, une solution éthanolique de DPPH[•] a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Ensuite, à 50 µL d'extrait à une concentration donnée, a été ajouté à 950 µL de la solution DPPH. Les extraits ainsi que la référence (acide ascorbique) ont été testés à différentes concentrations (10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,625 et 0,312 µg/mL) puis les absorbances ont été mesurées à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité.

L'activité antiradicalaire liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$PI = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad 1$$

A₀ : absorbance du blanc

A₁ : absorbance échantillon

2.4.2. Test FRAP

Le test FRAP mesure la capacité d'un antioxydant à réduire l'ion Fe³⁺ en ion Fe²⁺ à faible pH. Une couleur bleue intense se développe avec une absorption maximale à 700 nm. Toutefois, le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé par la méthode de FRAP (Benzie & Strain, 1996). Ainsi, un volume de 0,4 mL d'échantillon à différentes concentrations a été mélangé avec 1 mL de tampon phosphate (0,2 M ; pH=6,6) et 1 mL d'hexacyanoferrate de potassium [K₃Fe(CN)₆] à 1 %. Après une incubation du mélange à 50°C pendant 30 minutes, un volume de 1 mL d'acide trichloracétique à 10 % y a été ajouté, puis les tubes ont été centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Ensuite, un volume de 1 mL du surnageant de chaque tube a été mélangé avec 0,2 mL d'une solution de FeCl₃ à 0,1% puis laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 30 minutes avant de mesurer les absorbances à 700 nm. L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formule suivante :

$$PR = \frac{A_e - A_b}{A_b} \times 100 \quad 2$$

A_e : absorbance de l'extrait

A_b : absorbance du blanc

2.5. Détermination de la teneur en protéines

L'échantillon est minéralisé à l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur selon AOAC (1990). La solution acide est ensuite alcalinisée par une solution d'hydroxyde de sodium. L'ammoniac est distillé et recueilli dans une quantité déterminée d'acide sulfurique, dont l'excès est titré par une solution étalon d'hydroxyde de sodium.

Ainsi, la minéralisation a été réalisée en pesant 1 g de l'échantillon puis en introduisant la prise d'essai dans le ballon de l'appareil de minéralisation. Ensuite, il a été ajouté 15 g de sulfate de potassium, une quantité appropriée de catalyseur (0,3 à 0,4 g d'oxygène de cuivre ou 0,9 à 1,2 g de sulfate de cuivre pentahydraté), un volume de 25 mL d'acide sulfurique et, si nécessaire, quelques grains de pierre ponce puis mélanger. Puis, le ballon a été chauffé modérément pendant un certain temps, avec des agitations occasionnelles, et si nécessaire, jusqu'à ce que le liquide atteigne une ébullition régulière. Il faut dire que le chauffage est approprié si l'acide en ébullition se condense sur la paroi du ballon. Néanmoins, il est conseillé d'éviter la surchauffe des parois et l'adhérence de particules organiques. Ensuite, il faut passer à la distillation dans de l'acide sulfurique en introduisant dans le flacon collecteur de l'appareil à distiller, un volume de 25 mL d'acide sulfurique, selon la teneur présumée en azote. Puis, il faut introduire quelques gouttes d'indicateur au rouge de méthyle par la suite connecter le ballon de minéralisation au réfrigérant de l'appareil à distiller ensuite plonger l'extrémité du réfrigérant sur une hauteur de 1 cm au moins dans le liquide du flacon collecteur. Ensuite encore, il faut verser lentement 100 mL de solution d'hydroxyde de sodium dans le ballon de minéralisation sans provoquer de perte d'ammoniac, par la suite chauffer le ballon jusqu'à distillation complète de l'ammoniac. Enfin, il faut titrer dans le flacon collecteur, l'excès d'acide sulfurique par la solution d'hydroxyde de sodium, selon la concentration de l'acide sulfurique utilisé, jusqu'à atteindre le point d'équivalence. La teneur en protéines est exprimée en pourcentage selon le calcul suivant :

$$\% \text{Protéines} = \frac{(V_0 - V_1) \times C \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

3

V_0 = Volume (mL) de NaOH utilisé dans l'essai à blanc

V_1 = Volume (mL) de NaOH utilisé pour le titrage de l'échantillon

C = Concentration (mol/L) de l'hydroxyde de sodium

m = masse (g) de l'échantillon

2.6. Détermination de la teneur en lipides totaux

Les lipides sont extraits selon une méthode utilisant le Soxhlet (AFNOR, 1984). Les lipides totaux sont extraits par l'hexane (solvant organique) à partir du broyat de l'échantillon. Pour sa réalisation, il faut peser le ballon d'extraction à vide puis 10 g d'échantillon ont été mis dans une cartouche d'extraction préalablement tarée. Ensuite, il faut le boucher par du coton puis déposer le tout dans l'extracteur de type Soxhlet. L'extraction des lipides a été effectuée par 300 mL d'hexane pendant 7 heures à ébullition. Ensuite, il faut évaporer l'hexane à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis sécher le ballon d'extraction préalablement tarée à l'étuve à 100 °C pendant 20 minutes par la suite refroidir dans un dessiccateur et enfin peser l'ensemble (huile-ballon). La teneur en lipide a été déterminée par la formule suivante :

$$\% \text{ Lipides} = \frac{(m_1 - m_0)}{m_e} \times 100$$

4

m_0 = Masse (g) du ballon vide

m_1 = Masse (g) de l'ensemble (ballon + lipides) après évaporation

m_e = Masse (g) de l'échantillon

2.7. Détermination de la teneur en fibres

La teneur en fibres a été déterminée selon la méthode de Weende comme décrite par Wolf (1968). Cette méthode commence par le prélèvement de 50 mL d'acide sulfurique (0,25N). Ensuite, une quantité de 2 g de chaque échantillon a été ajoutée à l'acide et le tout a été bien homogénéisé. Par la suite, le mélange a été porté à ébullition. Après cela, un volume de 50 mL de soude (0,31N) a été ajouté au mélange puis le tout est porté en ébullition pendant 30 minutes sous réfrigérant à reflux. L'extrait obtenu a été ensuite filtré sur du papier Whatman. Le résidu a été lavé plusieurs fois avec de l'eau chaude jusqu'à ce que tous les alcalis soient éliminés. Par la suite, le résidu a été séché dans une étuve à 105 °C pendant 3 heures, puis laissé refroidir pendant quelques minutes avant la pesée. Après la pesée, le résidu a été placé dans un four à moufle à 550 °C pendant 3 heures, puis laissé refroidit à nouveau pour une autre pesée. Cette expérience a été répétée trois fois. Finalement, la teneur en fibres a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Fibres brutes (\%)} = \frac{m1 - m2}{me} \times 100$$

5

m1 : est la masse du résidu après séchage à l'étuve,

m2 : est la masse du résidu après incinération au four à moufle,

me : est la masse de l'échantillon initial.

2.8. Détermination de la teneur en glucides totaux

La teneur en glucides totaux a été déterminée selon la méthode FAO (2002) utilisant la formule suivante :

$$\text{Glucides totaux (\%)} = 100 - [(\% \text{ protéine}) + (\% \text{ lipide}) + (\% \text{ fibre}) + (\% \text{ eau}) + (\% \text{ cendres})]$$

6

2.9. Détermination de la valeur énergétique

La valeur énergétique (VE) a été déterminée selon la méthode FAO (2002) utilisant la formule suivante :

$$\text{VE (Kcal/100 g)} = (\% \text{ protéine} \times 4) + (\% \text{ lipide} \times 9) + (\% \text{ glucide} \times 4)$$

7

2.10. Technique de minéralisation et mise en solution de l'échantillon

Le mode de minéralisation décrit est utilisable pour les dosages de P, K, Na, Ca, Mg et des oligo-éléments tels que : Fe, Mn, Cu, Zn, etc Il est essentiel de suivre cette méthode rigoureusement pour obtenir des résultats comparables. Pour sa réalisation, la poudre végétale a été finement broyée puis homogénéisée. L'homogénat obtenu a été séché à une température de 70-80 °C pendant 16 heures avant d'être enfin refroidie dans un dessiccateur pendant 30 minutes. Ensuite, une quantité de 2 g de l'échantillon a été pesée dans une capsule de platine puis placée dans un four froid. Et, la température a été progressivement augmentée jusqu'à 450 °C sur une période de 2 heures, puis maintenue à ce niveau pendant 2 autres heures supplémentaires avant de laisser refroidir (capsule de platine) afin d'obtenir des cendres. Elles sont généralement claires. Elles ont par la suite été humidifiées avec 2 mL à 3 mL d'eau et 1 mL d'acide chlorhydrique concentré qui

a été ajouté lentement dans le but d'avoir un mélange. Le mélange a été ensuite chauffé sur une plaque chauffante jusqu'à l'apparition des premières vapeurs, puis quelques millilitres d'eau ont été ajoutés. En second lieu, le mélange a été filtré sur un filtre sans la cendre dans une fiole jaugée de 100 mL. Ensuite, le contenu restant du bol du mélange a été rincé 3 ou 4 fois à l'eau tiède puis la solution obtenue a été filtrée une fois encore afin de compléter la quantité de filtrat de la fiole jaugée. Après quoi, le papier qui a servi de filtre et son contenu ont été incinérés pendant une ½ heure à une température maximale de 550 °C dans le but d'avoir une cendre (résidu). Le résidu obtenu a été repris par 5 mL d'acide fluorhydrique (HF), puis séché sur une plaque chauffante ou un bain-Marie sans dépasser 100 °C. Il est ensuite repris par 1 mL d'acide chlorhydrique concentré puis lavé à l'eau tiède, filtré puis porté au trait de jauge après refroidissement à 100 mL. Cette solution est adaptée aux dosages par spectrométrie d'absorption atomique des éléments tels que : Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, par émission de flamme des éléments comme K et Na, et par colorimétrie du P (Pinta, 1973).

2.10.1. Dosage du Calcium

Lors du dosage de ce paramètre dans les extraits végétaux, leur valeur de référence doit être comprise entre 2 et 10 µg/mL, tandis que celle du HCl et du Lanthane (La) doivent être respectivement de 2 % ou 3 %. Leur dosage doit être effectué à une longueur d'onde de 422,67 nm. Cependant, la quantité en calcium a été évaluée en utilisant de l'acide chlorhydrique (HCl) concentré, qui a une densité de 1,19. Pour ce faire, une solution mère de calcium a été préparée à partir de CaCO₃ afin d'avoir une concentration de 1000 µg Ca/mL. Pour sa réalisation, une quantité de 2,497 g de CaCO₃ a été dissoute dans 50 mL d'eau et 25 mL d'acide chlorhydrique concentré. Ensuite, l'eau déminéralisée a été ajoutée jusqu'à obtenir un volume final de 1000 mL. La solution mère initialement préparée a été diluée au 1/10^{ème} avec l'eau déminéralisée dans le but d'obtenir une concentration de 100 µg/mL. Parallèlement, une autre solution mère, celle de Lanthane à 15 % a été préparée à partir de La₂O₃. Pour cela, une quantité de 175,5 g de La₂O₃ a été dissoute dans 185 mL d'acide chlorhydrique concentré et de l'eau déminéralisée, puis le volume a été ajusté à 1000 mL. Finalement, une solution mère de Lanthane 3 % a été préparée à partir de celle de 15 %. Pour ce faire, un volume de 200 mL de la solution mère de Lanthane à 15 % a été dilué avec de l'eau déminéralisée jusqu'à atteindre un volume final de 1000 mL.

2.10.2. Dosage du Magnésium

Le dosage de ce paramètre dans les extraits végétaux peut se faire par dilution ou non. Si la méthode de dilution est utilisée, certaines normes du Mg et de HCl doivent être respectées. En effet, celles du Mg doivent être entre 0,5 et 3 $\mu\text{g/mL}$ alors que celle du HCl doit être de 2 %. Leur dosage doit être réalisé à une longueur d'onde de 285,2 nm. Toutefois, lors de la préparation de la solution mère de magnésium, l'acide chlorhydrique concentré de densité 1,19 a été utilisé. Pour sa réalisation, une quantité de 1 g de magnésium pur en ruban a été dissoute dans 10 mL d'acide chlorhydrique concentré et 50 mL d'eau déminéralisée pour obtenir une concentration de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Ensuite, l'eau déminéralisée a été additionnée jusqu'à obtenir un volume total de 1000 mL. Quant à la méthode non diluée, elle a consisté à préparer une solution mère de magnésium à partir de sulfate de magnésium. Dans ce cas, une quantité de 0,495 g de MgSO_4 peut être mélangée dans 1000 mL d'eau déminéralisée pour obtenir une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$.

2.10.3. Dosage du Fer

Pour quantifier le fer dans les extraits végétaux, il est possible de réaliser des dilutions en respectant certaines valeurs de référence du fer (Fe) et l'acide chlorhydrique (HCl). Dans ce cas, la concentration du Fe doit être comprise entre 0 et 20 $\mu\text{g/mL}$ pendant que celle de HCl doit être de 2 %. Leur dosage doit être effectué à 248,3 nm. Au cours de ce dosage, l'acide chlorhydrique sollicité doit être concentré et avoir une densité de 1,19. Toutefois, la préparation de la solution mère de fer de concentration de 1000 $\mu\text{g/mL}$ a été réalisée en dissolvant 1 g de fer en fil dans 23 mL d'acide chlorhydrique et 16 mL d'eau oxygénée à 110 volumes. Ensuite, l'eau déminéralisée a été additionnée jusqu'à 1000 mL. Il est possible de doser directement les échantillons sans les diluer en considérant la concentration de 2 g/100 mL.

2.10.4. Dosage du Sodium

Le dosage du sodium a aussi sollicité l'acide chlorhydrique concentré, de pureté analytique et de densité 1,19 pour préparer la solution mère de sodium, dont la concentration est de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Pour cela, un volume de 20 mL de sodium a été introduit dans une fiole jaugée de 1000 mL. Ensuite, un volume de 20 mL d'acide chlorhydrique concentré a été ajouté dans la fiole. Enfin, le volume a été ramené à 1000 mL avec de l'eau déminéralisée. Leur dosage a été effectué à 589 nm comme longueur d'onde.

2.10.5. Dosage du Zinc

Au niveau de la quantification du zinc, le mode de préparation de la solution mère est identique à celui du sodium. Cependant, au cours de cette opération, la méthode de dilution au HCl à 2 % a été utilisée. Elle a été effectuée 2 à 10 fois. Pour sa réalisation, une quantité de 1 g de zinc métallique de pureté analytique sous forme de ruban ou de plaque a été dissoute dans un mélange de 25 mL d'acide chlorhydrique et 50 mL d'eau déminéralisée. Après cela, le volume a été complété jusqu'à 1000 mL avec de l'eau déminéralisée. Enfin, la lecture a été effectuée à 213,8 nm.

2.10.6. Dosage du Cuivre

Le dosage de ce paramètre dans les extraits végétaux peut se faire par dilution ou non. Si la méthode de dilution est utilisée, certaines normes du Cu et de HCl doivent être respectées. En effet, celle du Cu doit être comprise entre 0,1 et 2 µg/mL alors que celle du HCl doit être de 2 %. Leur dosage doit être réalisé à une longueur d'onde de 324,75 nm. Néanmoins, leur quantification obéit aux mêmes principes que ceux du zinc et du sodium surtout au niveau de la préparation de la solution mère. Pour la préparation de la solution mère, une quantité de 1 g de cuivre en poudre de pureté analytique a été mélangée avec 25 mL d'acide chlorhydrique et de 5 mL d'eau oxygénée. Puis, l'ensemble a été complété avec de l'eau déminéralisée pour atteindre 1000 mL. Il est aussi possible de faire la mesure directement à partir de la solution mère.

2.11. Test de la fragilité membranaire des érythrocytes

La fragilité membranaire des érythrocytes a été évaluée en suivant le protocole développé par Parpart *et al.* (1947) et modifié par Elekwa *et al.* (2005). Dans un premier temps, une solution de NaCl a été préparée. Pour cela, huit solutions ont été préparées à partir de 100 g/L de NaCl en présence d'une solution tampon à pH 7,4 (150 mM de phosphate). Ces solutions ont été diluées pour obtenir des concentrations de 9 ; 7 ; 6 ; 5 ; 4 ; 3 ; 2 et 1 g/L de NaCl, avec un volume final de 50 mL. Par la suite, un volume de 0,05 mL d'échantillon de sang a été ajouté à 5 mL de chacune des 8 solutions de NaCl préparées précédemment (préparation des contrôles). Chaque tube a été agité immédiatement, puis laissé au repos pendant 30 minutes à température ambiante. Après ce temps, les tubes ont été agités à nouveau puis centrifugés pendant 5 minutes à 1500 tr/min. L'absorbance des surnageants de chaque tube a été mesurée à 540 nm. Le tube de 9,0 g/L de NaCl

a servi de tare ou de blanc de lecture. Enfin, un volume de 0,5 mL d'extrait de plantes à des concentrations de 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL a été ajouté à 4,5 mL de chacune des huit solutions de NaCl. Puis, un autre volume de 0,05 mL de l'échantillon de sang a été ajouté au mélange (effet des extraits de plantes sur la membrane). Chaque mélange a été centrifugé et l'absorbance de chaque tube a été mesurée à 540 nm. Un contrôle positif a été réalisé avec de la phénylalanine. Ces opérations ont constitué les tests expérimentaux. Parallèlement à celles-ci, le test témoin a été réalisé dans les mêmes conditions.

A partir des mesures de la densité optique, le taux d'inhibition de l'hémolyse (TIH) des différents extraits a été déterminé avec la formule suivante :

$$TIH = \frac{DOt - DOe}{DOt} \times 100 \quad \boxed{8}$$

TIH = Taux d'Inhibition de l'Hémolyse

DOe : Densité optique de l'extrait

DOt : Densité optique du témoin

2.12. Détermination de l'activité analgésique

Le test vise à vérifier l'effet inhibiteur des extraits sur la douleur induite chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution d'acide acétique dilué. Les douleurs se traduisent par un étirement des pattes arrière et des spasmes de la musculature dorso-abdominale.

En effet, l'induction des spasmes a été effectuée par injection intrapéritonéale d'une solution d'acide acétique 0,6 %, à raison de 10 mL/kg de poids corporel, chez les rats. Huit lots de 5 rats ont été constitués. Le lot 1 ou lot témoin (TM) a reçu de l'eau distillée. Le lot 2 a reçu l'ibuprofène (10 mg/kg/pc). Les lots 3 ; 4 et 5 ont reçu l'extrait aqueux aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc. Les lots 6 ; 7 et 8 ont reçu l'extrait hydro-éthanolique aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc. Une heure après l'injection des différentes solutions d'extraits, l'acide acétique 0,6 % à la dose de 10 mL/kg a été injecté aux rats (Siegmund *et al.*, 1957). Cinq minutes après l'injection de la solution d'acide acétique, le nombre de spasmes abdominaux a été observé pendant 20 minutes. L'activité antalgique, qui est le pourcentage de réduction du nombre moyen de spasmes abdominaux, a été calculée selon l'équation suivante :

$$PIC (\%) = \frac{(MO - M1)}{MO} \times 100$$

9

PIC : Pourcentage d'Inhibition des Contorsions

MO : Moyenne des torsions du lot témoin

M1 : Moyenne des torsions du lot traité

2.13. Activité anti-inflammatoire

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière d'une souris ou d'un rat entraîne un œdème dans la région métatarsienne (signe clinique de l'inflammation). L'intensité de cet œdème, qui atteint son pic de développement en 5 heures, est mesurée en observant l'augmentation du volume de la patte par rapport au volume initial. L'administration préventive d'un produit anti-inflammatoire par voie orale réduit significativement le développement de l'œdème. Pour sa réalisation, des rats pesants entre 120 g et 150 g ont été mis à jeun pendant 24 heures. Ils ont été répartis dans 9 lots de 6 rats chacun. Le diamètre de la patte arrière droite de chaque animal a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse numérique aux temps T0 (Bukhari, 2013). Les lots 1 et 2 (rats normaux et rats œdémateux) ont reçu de l'eau distillée. Les rats du lot 3 (référence) ont reçu le diclofénac de sodium (5 mg/kg de pc). Les six autres lots ont reçu respectivement l'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc en raison de trois par extrait. Une heure après administration par gavage des différentes solutions, un volume de 0,1 mL de la solution de carragénine à 1 % a été injecté par voie cutanée au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque rat des lots 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 et 9. L'évolution de l'œdème a été suivie à partir de la première heure, puis toutes les heures jusqu'à la sixième heure (Anupama *et al.*, 2012).

2.14. Analyses statistiques

L'évaluation statistique et la visualisation des données ont été réalisées grâce au logiciel R version 4.1.2. Les résultats sont exprimés en moyennes accompagnées de l'erreur type. Pour évaluer la différence entre deux moyennes, le test t de Student a été utilisé, suivi des tests post hoc de Dunnett et Tukey. Un résultat est considéré comme statistiquement significatif si la valeur de P est inférieure ou égale à 0,05. Les niveaux de signification ont été définis comme suit :

- Non significatif (ns) : $p > 0,05$
- Significatif : $p \leq 0,05$
- Très significatif (*) : $p < 0,01$
- Hautement significatif (**) : $p < 0,001$
- Extrêmement significatif (***) : $p < 0,0001$

Les lettres a, b, c affectées à des valeurs indiquent que ces valeurs présentent une différence significative. Deux valeurs possédant la même lettre indiquent qu'elles ne présentent aucune différence significative.

**TROISIEME PARTIE :
RESULTATS ET
DISCUSSIONS**

1. Résultats

1.1. Rendement

Le tableau IV illustre les rendements des extraits aqueux (EAR) et hydro-éthanolique (EHR) pour 100 g de produit végétal de base. L'extrait EAR a généré un rendement de 19,02 % tandis que l'extrait EHR a produit un rendement de 12,56 %. Par conséquent, le pourcentage obtenu à partir de l'extrait aqueux est supérieur à celui de l'extrait hydro-éthanolique.

Tableau IV : Rendements des extraits aqueux et hydro-éthanolique

Solvants d'extraction	Masses de l'extrait (g)	Rendements de l'extrait (%)
EAR (Eau)	19,02	19,02
EHR (70/30: V/V)	12,56	12,56

1.2. Métabolites secondaires des différents extraits

1.2.1. Analyse qualitative (Criblage phitochimique)

Le tableau V enregistre les résultats de l'analyse phytochimique des extraits de produit végétal de base. Le criblage phitochimique montre que les différents extraits obtenus contiennent généralement des alcaloïdes, des polyphénols, des terpènes, des tanins catéchiques, des flavonoïdes, des saponines et des anthocyanes. Cependant, ils sont dépourvus de tanins galliques et de quinones.

Tableau V : Phytocomposés des extraits EAR et EHR

Groupes chimiques	EAR	EHR
Alcaloïdes	+	+
Polyphénols	+	+
Terpènes	+	+
Tanins catéchiques	+	+
Tanins galliques	-	-
Flavonoïdes	+	+
Quinones	-	-
Saponines	+	+
Anthocyanes	+	+

EAR : Extrait Aqueux de la Recette

EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette

+ : Présence,

- : Absence.

1.2.2. Analyse quantitative

1.2.2.1. Composition en polyphénols totaux des extraits

La figure 7 illustre globalement la distribution des polyphénols dosés dans les deux extraits. Le dosage révèle spécifiquement que la quantité de polyphénols dosés dans l'extrait EAR est de $66,19 \pm 2,44$ mgEAG/g MS (milligramme d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche), tandis qu'elle est de $63,04 \pm 2,81$ mgEAG/g MS dans l'extrait EHR. Statistiquement, les deux extraits contiennent des proportions en polyphénols qui ne présentent aucune différence significative (P-valeur = 0,3534).

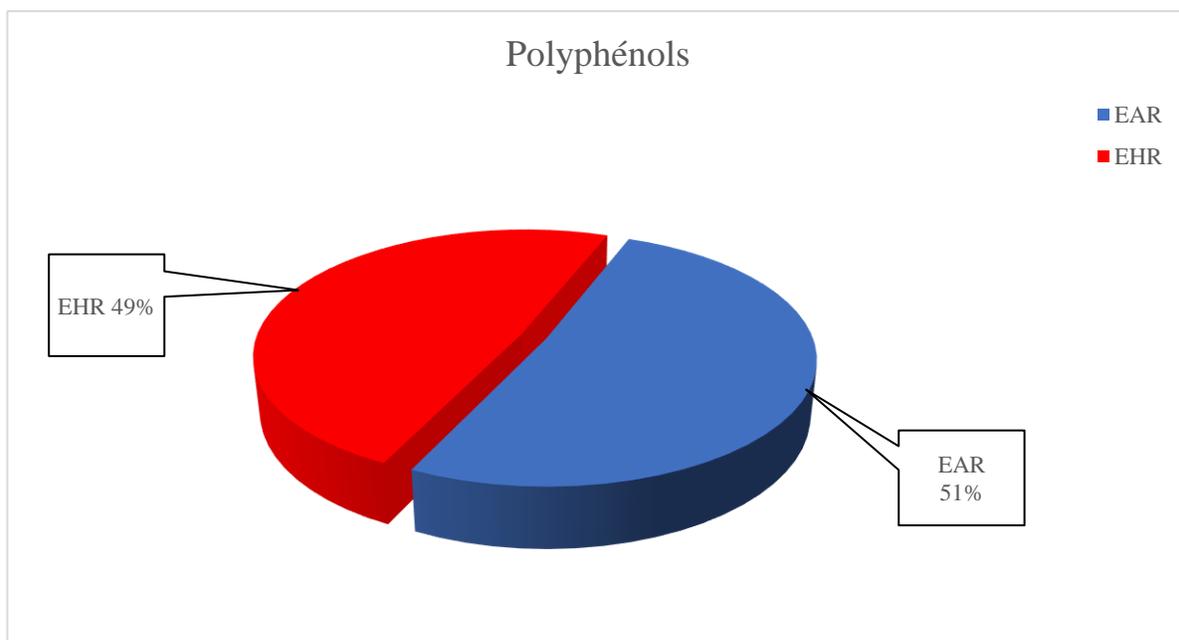


Figure 7 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits (EAR et EHR).

EAR : Extrait Aqueux de la Recette ; EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette

1.2.2.2. Composition en flavonoïdes des extraits

La figure 8 enregistre les résultats de la mesure quantitative des flavonoïdes exprimé en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mgEQ/g MS). Ces valeurs indiquent généralement que les flavonoïdes sont présents dans les deux extraits, mais à proportions différentes. La concentration de flavonoïdes dans l'extrait EHR est de $314,51 \pm 5,14$ mgEqQ/g MS

tandis qu'elle est de $135,60 \pm 2,47$ mgEqQ/g MS dans l'extrait EAR. Par conséquent, ce composé organique est plus concentré dans l'extrait EHR que dans l'extrait EAR.

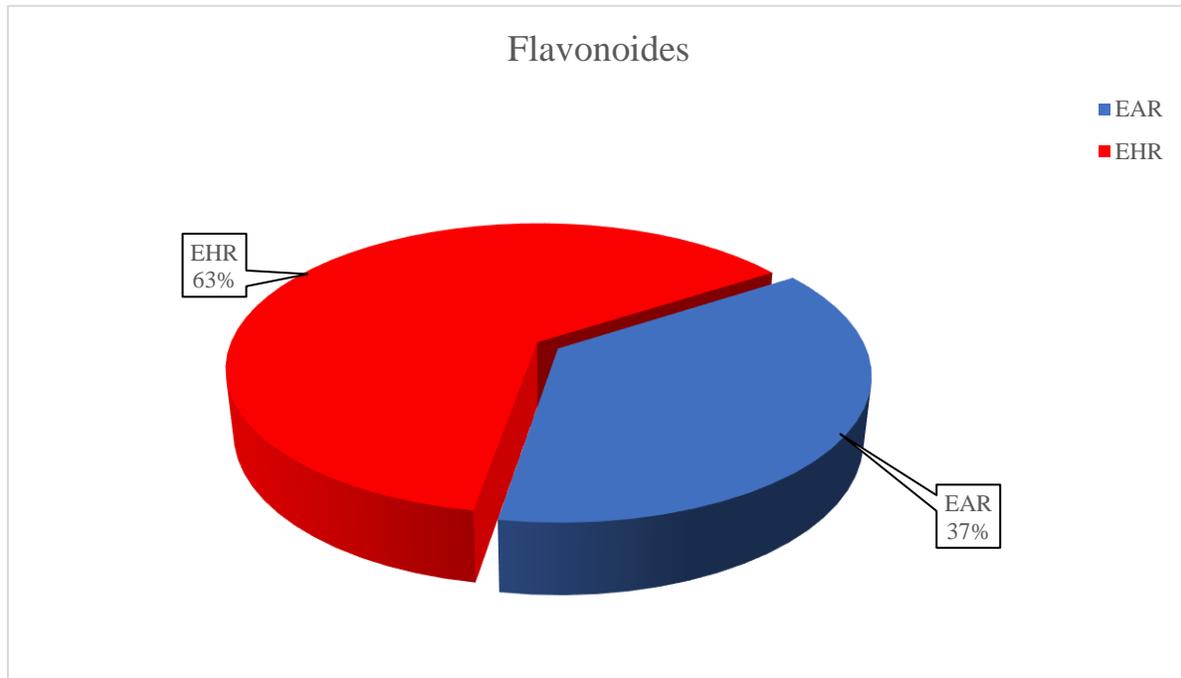


Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits (EAR et EHR).

EAR : Extrait Aqueux de la Recette ; EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette

1.3. Composition minérale des extraits (EAR et EHR)

Le tableau VI répertorie les compositions minérales des divers extraits. La concentration de fer est significativement plus élevée dans l'extrait EHR ($31,97 \pm 2,32$ mg/100 g) que dans l'extrait EAR ($20,21 \pm 1,77$ mg/100 g). Ceci est confirmé par la valeur de P qui est inférieure à 0,05 et indique une différence statistiquement significative. Cependant, ces valeurs sont inférieures à la norme internationale qui est de 50 à 150 mg/100 g. En ce qui concerne le zinc, la concentration est significativement plus élevée dans l'extrait EAR ($5,86 \pm 0,04$ mg/100 g) par rapport à l'extrait EHR ($4,11 \pm 0,05$ mg/100 g). De plus, la valeur P-value de $1,467.10^{-6}$, qui est bien inférieure à 0,05, confirme cette différence. Ces valeurs se situent dans la norme internationale qui est de 5 à 15 mg/100 g. Pour le sodium, la concentration est significativement plus élevée dans l'extrait EAR ($135,55 \pm 1,05$ mg/100 g) par rapport à l'extrait EHR ($93,09 \pm 0,34$ mg/100 g). Il est à noter que la valeur P-value de $3,101.10^{-7}$ confirme cette différence. Ces concentrations sont bien supérieures à la norme internationale qui est de 10 à 20 mg/100 g. Quant au cuivre, la concentration est

légèrement plus élevée dans l'extrait EAR ($4,77 \pm 0,02$ mg/100 g) par rapport à l'extrait EHR ($4,44 \pm 0,05$ mg/100 g). De même, la valeur P-value de 0,0008416 confirme cette différence. Il est important de noter que ces valeurs sont supérieures à la norme internationale qui est de 0,5 à 1,5 mg/100 g. En ce qui concerne le calcium, la concentration est significativement plus élevée dans l'extrait EAR ($476,28 \pm 0,52$ mg/100 g) par rapport à l'extrait EHR ($56,33 \pm 1,12$ mg/100 g). Il est important de souligner que la valeur P-value de $5,138.10^{-11}$ confirme cette différence. Ces concentrations sont extrêmement élevées par rapport à la norme internationale qui est de 1 à 5 mg/100 g. Finalement, pour le magnésium, la concentration est statistiquement plus élevée dans l'extrait EAR ($429,68 \pm 1,59$ mg/100 g) par rapport à l'extrait EHR ($224,79 \pm 1,62$ mg/100 g). Il est intéressant de noter que la valeur P-value de $1,021.10^{-8}$ confirme cette différence. Ces valeurs sont bien supérieures à la norme internationale qui est de 4 à 6 mg/100 g.

Tableau VI : Composition minérale des extraits EAR et EHR en mg/100 g

Composition			
minérale	EAR	EHR	p-value
Fer	$20,21 \pm 1,77^a$	$31,97 \pm 2,32^b$	0,002247**
Zinc	$5,86 \pm 0,04^b$	$4,11 \pm 0,05^a$	$1,467.10^{-6}***$
Sodium	$135,55 \pm 1,05^b$	$93,09 \pm 0,34^a$	$3,101.10^{-7}***$
Cuivre	$4,77 \pm 0,02^b$	$4,44 \pm 0,05^a$	0,0008416***
Calcium	$476,28 \pm 0,52^b$	$56,33 \pm 1,12^a$	$5,138.10^{-11}***$
Magnésium	$429,68 \pm 1,59^b$	$224,79 \pm 1,62^a$	$1,021.10^{-8}***$

EAR : Extrait Aqueux de la Recette ; EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette. Les résultats sont exprimés en moyennes accompagnées de l'erreur type. Pour évaluer la différence entre deux moyennes, le test t de Student a été utilisé. Les niveaux de signification ont été définis comme suit : Non significatif (ns) : $p > 0,05$; Significatif : $p \leq 0,05$; Tres significatif () : $p < 0,01$; Hautement significatif (**) : $p < 0,001$; Extrêmement significatif (***) : $p < 0,0001$ Les lettres a, b, c affectées à des valeurs indiquent que ces valeurs présentent une différence significative. Deux valeurs possédant la même lettre ne présentent aucune différence significative. La lecture se fait dans le sens des lignes.*

1.4. Composition en macromolécules des extraits (EAR et EHR)

Le tableau VII présente une comparaison des valeurs de différents macroéléments (lipides, protéines, fibres et glucides) et les valeurs énergétiques des deux extraits : EAR et EHR. En ce qui concerne les lipides, la valeur moyenne pour l'extrait EAR est de $4,13 \pm 0,48$ tandis que pour l'extrait EHR, elle est de $4,79 \pm 1,77$. Cette différence est statistiquement significative (P-valeur = $0,002033^{**}$). Par ailleurs, pour les protéines, elle est de $6,92 \pm 0,33$ (extrait EAR) et de $4,45 \pm 0,05$ (extrait EHR). Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative (P-value = $0,4647$). Concernant les fibres, leurs valeurs moyennes sont respectivement de $1,50 \pm 0,25$ et de $0,76 \pm 0,05$ pour l'extrait EAR et l'extrait EHR. Ici, la différence est statistiquement significative ($0,000291^{***}$). Pour les glucides, la valeur moyenne pour l'extrait EAR est de $76,68 \pm 0,03$ et pour l'extrait EHR, elle de $75,74 \pm 0,07$. Cette différence est également statistiquement significative ($0,000408^{***}$). Enfin, en termes de valeurs énergétiques, elles sont respectivement de $371,57 \pm 0,49$ et de $363,87 \pm 0,31$ Kcal pour 100 g de matières sèches de l'extrait EAR et de l'extrait EHR. La différence est statistiquement significative (P-value = $0,003256^{**}$).

Tableau VII : Composition en macroéléments et en valeurs énergetique des extraits EAR et EHR

Macroéléments	EAR	EHR	P-value
Lipides (%)	$4,13 \pm 0,48^b$	$4,79 \pm 1,77^a$	$0,002033^{**}$
Protéines (%)	$6,92 \pm 0,33^a$	$4,45 \pm 0,05^a$	$0,4647$
Fibres (%)	$1,50 \pm 0,25^a$	$0,76 \pm 0,05^b$	$0,000291^{***}$
Glucides (%)	$76,68 \pm 0,03^a$	$75,74 \pm 0,07^b$	$0,000408^{***}$
Valeurs énergétiques (Kcal/100 g)	$371,57 \pm 0,49^a$	$363,87 \pm 0,31^b$	$0,003256^{**}$

EAR : Extrait Aqueux de la Recette ; EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette. Les résultats sont exprimés en moyennes accompagnées de l'erreur type. Pour évaluer la différence entre deux moyennes, le test t de Student a été utilisé. Les niveaux de signification ont été définis comme suit : Non significatif (ns) : $p > 0,05$; Significatif : $p \leq 0,05$; Tres significatif (*) : $p < 0,01$; Hautement significatif (**) : $p < 0,001$; Extrêmement significatif (***) : $p < 0,0001$

Les lettres a, b, c affectées à des valeurs indiquent que ces valeurs présentent une différence significative. Deux valeurs possédant la même lettre ne présentent aucune différence significative. La lecture se fait dans le sens des lignes.

1.5. Activité anti-oxydante des différents extraits

1.5.1. Pouvoir inhibiteur du radical DPPH

Les données de la figure 9 indiquent que l'inhibition du radical DPPH est notable et dépend des concentrations des extraits (EAR ; EHR ou Vit C) analysés. La vitamine C (Vit C) a montré une activité supérieure à celle de l'extrait EHR et l'extrait EAR. Ainsi, une inhibition de $80,53 \pm 0,50$ % de la Vit C a été observée à la concentration de $2,5 \mu\text{g/mL}$, tandis qu'à la concentration de $5 \mu\text{g/mL}$ de l'extrait EHR l'inhibition observée a été de $78,69 \pm 1,34$ %. En revanche, l'extrait EAR a entraîné une inhibition de $70,49 \pm 0,52$ % à $5 \mu\text{g/mL}$ et $75,99 \pm 1,02$ % à $10 \mu\text{g/mL}$ (concentration la plus élevée). Pour évaluer de manière plus précise l'activité antioxydante des extraits, leur CI_{50} a été calculée à partir de l'équation de la droite ($y=ax + b$). Ainsi, la CI_{50} de l'extrait EHR est plus faible que celle de l'extrait EAR, avec des valeurs respectives de $1,19 \pm 0,03 \mu\text{g/ mL}$ et $2,13 \pm 0,01 \mu\text{g/ mL}$. La CI_{50} correspond à la concentration inhibant 50 % des radicaux DPPH.

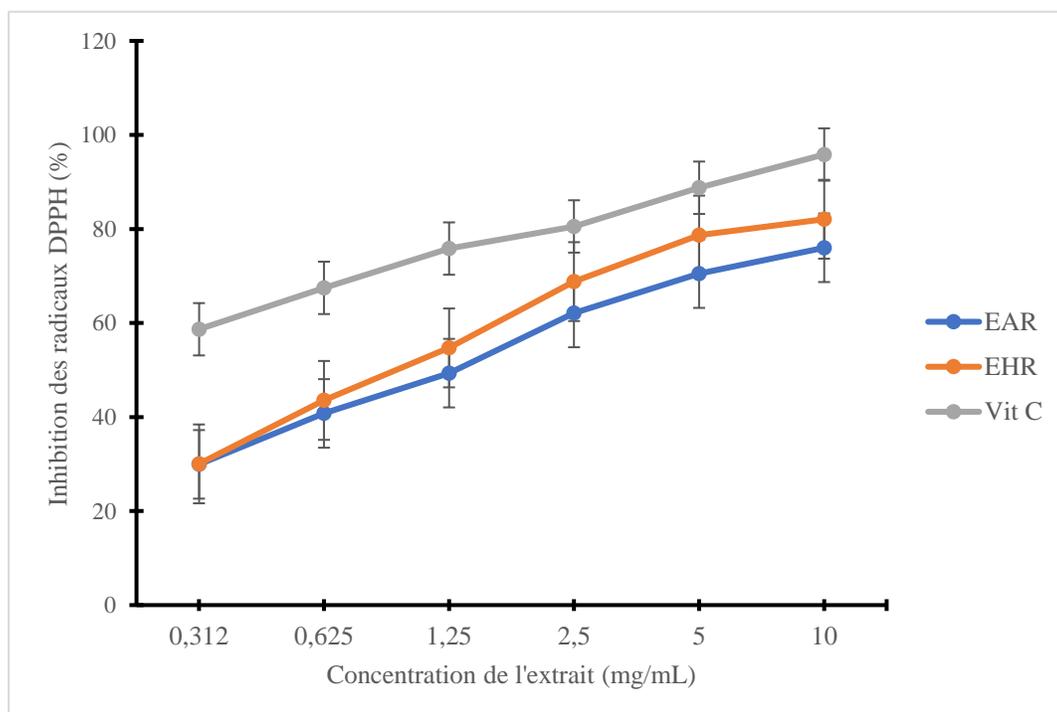


Figure 9 : Pouvoir inhibiteur du DPPH par les extraits (EAR et EHR)

1.5.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique en ion ferreux

Le test FRAP indique que la Vit C a une capacité de réduction supérieure à celle de l'extrait EHR et l'extrait EAR. En effet, quelle que soit la concentration de l'extrait (EAR, EHR ou Vit C) utilisée, il est observé que l'extrait EHR et l'extrait EAR ont une capacité de réduction moindre que celle de la Vit C. Par exemple, à la plus petite concentration de 0,312 $\mu\text{gEAA/mL}$ (microgrammes d'équivalents d'acide ascorbique par millilitre), les capacités de réduction de l'extrait EAR et de l'extrait EHR sont respectivement de $163,978 \pm 0,92 \%$ et de $175,301 \pm 0,98 \%$ tandis que celle de la Vit C est de $200,66 \pm 0,57 \%$. Aussi, pour les plus grandes concentrations 5 et 10 $\mu\text{gEAA/mL}$, les capacités de réductions obtenues sont respectivement de $378,664 \pm 0,52 \%$ et $435,864 \pm 0,23 \%$ pour l'extrait EAR, de $390,884 \pm 1,12 \%$ et $353,679 \pm 2,10 \%$ pour l'extrait EHR et de $407,70 \pm 0,60$ et $480,60 \pm 0,52 \%$ pour la Vit C (Figure 10).

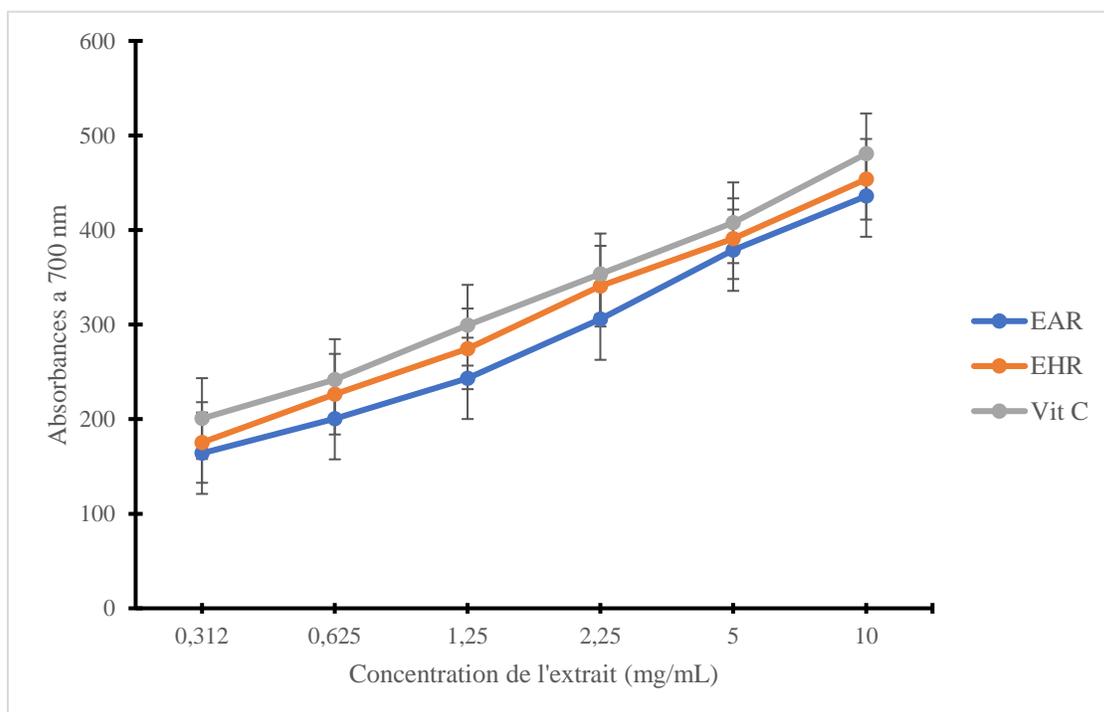


Figure 10 : Pouvoir réducteur des extraits EAR et EHR

1.6. Effet des concentrations de NaCl, de phénylalanine et les extraits sur la fragilité membranaire des érythrocytes SS

Les figures 11, 12, 13, 14 et 15 résument le pourcentage d'hémolyse en fonction de diverses concentrations salines (NaCl), les doses variées de la molécule de référence (phénylalanine) et des extraits. Pour faciliter l'interprétation des résultats, toutes les courbes obtenues (NaCl, phénylalanine EAR et EHR) ont été représentées sur le même graphique en tenant compte des résultats obtenus à chaque dose.

1.6.1. Effet des concentrations de NaCl

Lors du test témoin, la variation de NaCl aux doses de 0,625 à 10 mg/mL sur la fragilité membranaire des érythrocytes SS a permis de remarquer globalement que toutes les courbes décrites dans les différentes figures ont montré une tendance à la baisse, indiquant une diminution progressive du nombre de cellules lysées à mesure que la concentration en NaCl augmente. Cette observation a été constatée pendant le passage du milieu très hypotonique (1 mg/mL) au milieu isotonique (9 mg/mL). Dans le milieu très hypotonique (1mg/mL), le taux de cellules lysées est de 100 %. Alors que, lors de la transition du milieu très hypotonique au milieu isotonique (9 mg/mL), ce taux a été respectivement de 60,66 % , 53 % , 41,66 % , 36 % et 30,66 %.

1.6.2. Effet de la phénylalanine

Lors du test de référence (test de la phénylalanine) dans les mêmes conditions expérimentales (milieu hypotonique et isotonique), il a été remarqué qu'à la dose de 10 mg/mL, le taux de lyse initial est de 90 % ce qui correspond 10 % d'inhibition contrairement au 100 % de lyse du NaCl à la concentration de 1 mg/mL du milieu réactionnel. De plus, cette inhibition augmente progressivement jusqu'à atteindre l'isotonie (0,9 % NaCl) où le taux atteint 100 % (0 % de lyse) aux doses de 0,625 et 1,25 mg/mL. Ainsi, le taux de cellules hémolysées a été alors nul. Par contre, aux concentrations de 2,5 ; 5 et 10 mg/mL de phénylalanine, le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été respectivement de 65 %, 61,67 % et 53,34 % à l'isotonie ce qui équivaut à 35 %, 38,33 % et 46,66 % de cellules lysées.

1.6.3. Effet des différents extraits

Lors des tests des divers extraits sur les érythrocytes dans les mêmes conditions expérimentales (milieu hypotonique et isotonique), il a été constaté qu'à la dose de 0,625 mg/mL, précisément à

l'isotonie (9 mg/mL de NaCl), les extraits EAR et EHR présentent un effet inhibiteur significatif ($p < 0,05$) sur l'hémolyse. Cet effet atteint 100 % d'inhibition, soit 0 % de lyse. Tandis qu'à la même concentration de NaCl (9 mg/mL), les différentes doses (1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) de l'extrait EAR ont données des pourcentages d'inhibitions respectifs de 89,34 % , 80,34 % , 73,34 % et 61,34 %. Ces pourcentages correspondent successivement à 10,66 % , 19,66 % , 26,66 % et 38,66 % de lyses. Par contre, à la même concentration de NaCl (9 mg/mL), les différentes doses (1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) de l'extrait EHR ont données des pourcentages d'inhibitions respectifs de 83,67 % , 78,34 % , 69 % et 59,34 %. Ils équivalent à 16,33 % , 21,66 % , 31 % et 40,66 % de lyses. Par ailleurs, en milieu très hypotonique (1 mg/mL de NaCl), l'inhibition de l'hémolyse par l'extrait EAR aux différentes doses (0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) a été de 35,67 % , 34,44 % , 28,67 % , 23,34 % et 11,34 % (respectivement 64,33 % , 65,56 % , 71,33 % , 76,66 % et 88,66 % de lyses). De même que pour l'extrait EHR, l'inhibition de l'hémolyse aux différentes doses (0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) a été successivement de 34,67 % , 31,67 % , 25,34 % , 19,34 % et 6,34 % (lyse respective : 65,33 % , 68,33 % , 74,66 % , 80,66 % et 93,66 %). Comme le révèlent les différents graphiques l'inhibition de l'hémolyse a été observée pour toutes les concentrations des substances testées, de manière dose-dépendante.

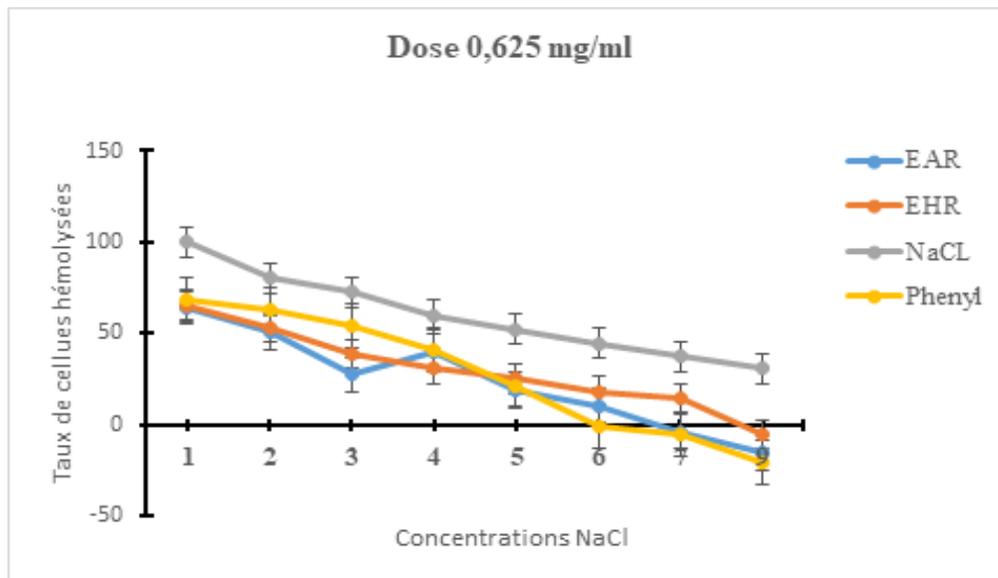


Figure 11 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 0,625 mg/mL d'extrait

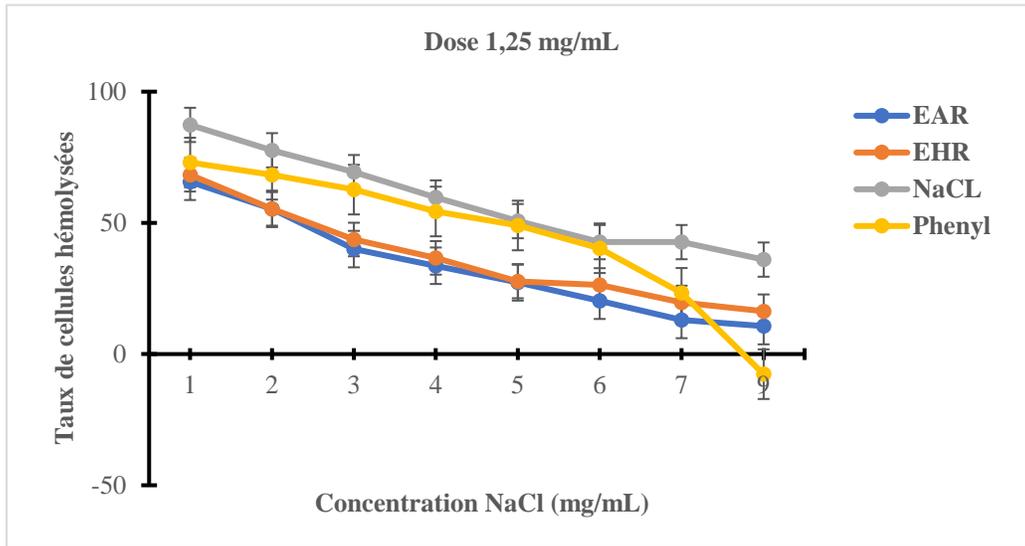


Figure 12 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 1,25 mg/mL d'extrait

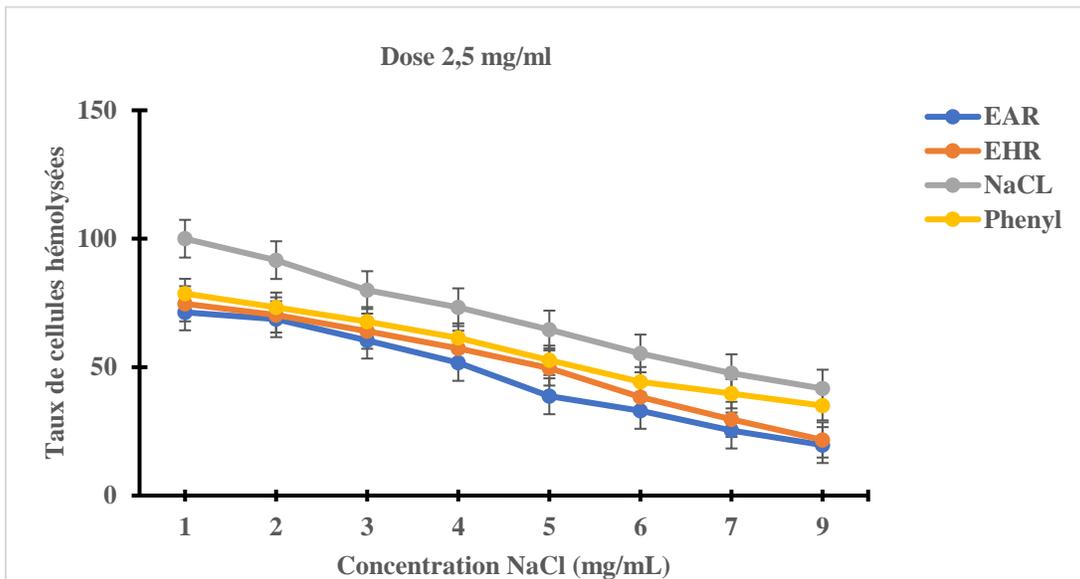


Figure 13 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 2,5 mg/mL d'extrait

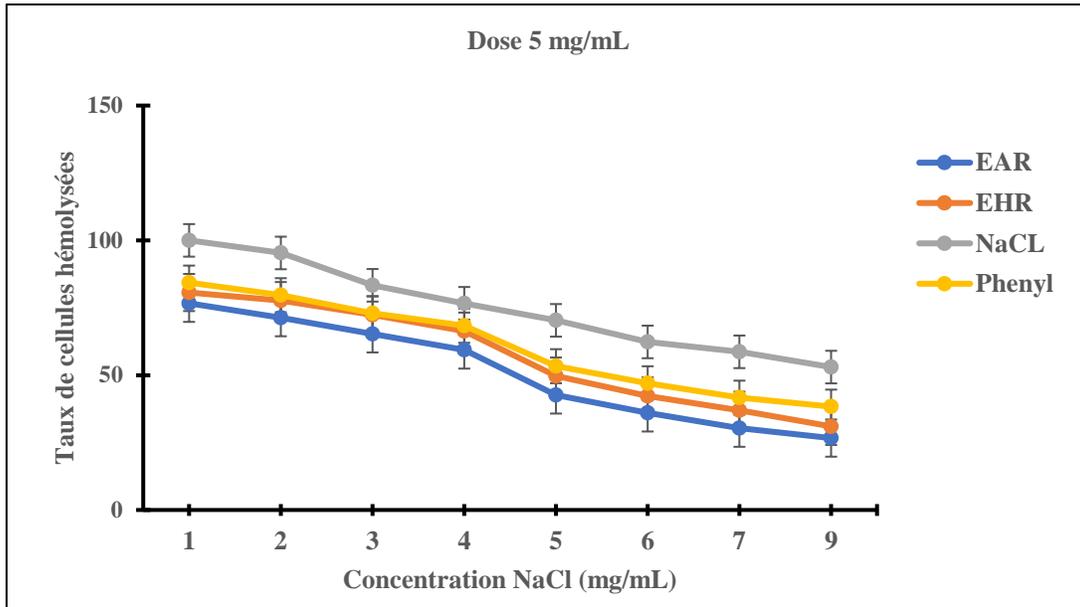


Figure 14 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 5 mg/mL d'extrait

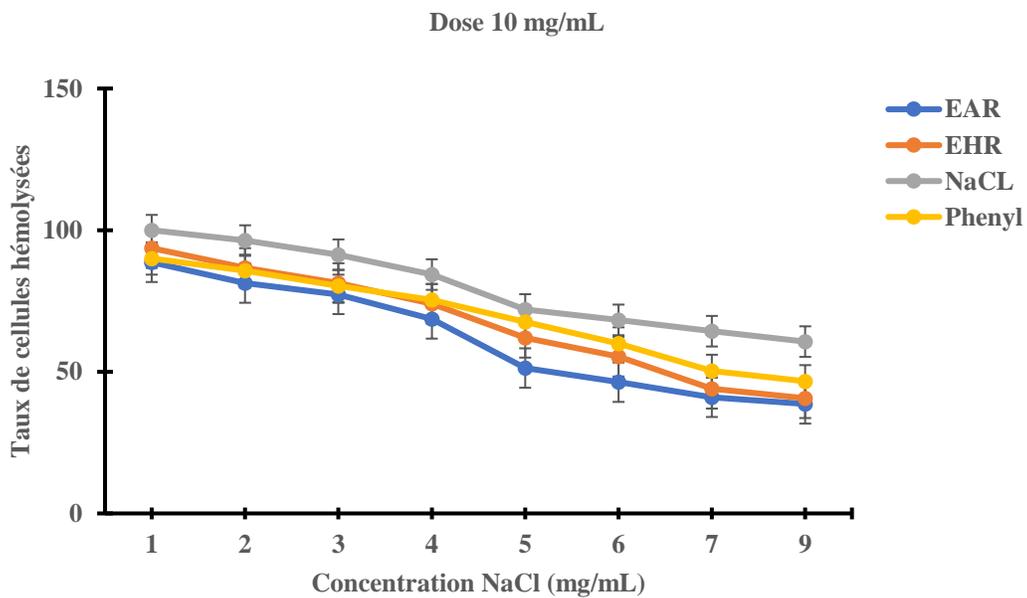


Figure 15 : Evolution du taux de cellules hémolysées en fonction des concentrations croissantes de NaCl à 10 mg/mL d'extrait

1.6.4. Effet des extraits sur la fragilité corpusculaire moyenne

Lors des tests de la fragilité membranaire, il a été obtenu pour l'extrait EAR aux doses suivantes : 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL, des valeurs de CI_{50} respectivement de : 2,19 ; 2,41 ; 2,80 ; 3,04 et 3,43. Quant à l'extrait EHR à ces mêmes doses, il a permis d'avoir des valeurs de CI_{50} respectivement de : 2,48 ; 2,75 ; 3,10 ; 3,47 et 3,98. Cependant, étant donné que la fragilité corpusculaire est liée à la CI_{50} qui a été déterminée graphiquement, alors, lorsque celle-ci est plus faible, la substance utilisée est bonne. Par conséquent, il est possible de dire que l'extrait EAR a donné les meilleures CI_{50} aux différentes doses.

1.7. Activité anti-inflammatoire des différents extraits

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits sont représentés par deux types de figures (variation du taux de croissance des œdèmes et variation du pourcentage d'inhibition). Les figures 16 et 17 décrivent la variation du taux de croissance tandis que 18 et 19, la variation du taux d'inhibition. En ce qui concerne la variation du taux de croissance (Figure 16 et 17), il est observé de manière générale, une phase ascendante et une phase descendante avec un pic quel que soit la substance et la concentration utilisées. Sur ces deux figures, il est aussi remarqué que les courbes décrites par les extraits EAR et EHR aux doses de 200 mg/mL et le diclofénac (molécule de référence) à 10 mg/mL sont au-dessus de celles obtenues par EAR et EHR aux doses respectives de 400 et de 800 mg/mL. Cependant, les courbes des extraits EAR et EHR à ces doses se caractérisent globalement par le fait que dans la phase ascendante de la 1^{ère} heure à la 3^e heure, les courbes décrites respectivement par EAR et EHR aux doses de 400 sont en-dessous de celles des doses 800 mg/mL. A partir de la 3^e heure, il y a une inversion. Néanmoins, particulièrement sur la figure 16, le pic a été observé à partir de la 4^e heure sur les courbes obtenues par l'extrait EHR aux doses de 200 et 400 mg/mL, et pour le diclofénac à 10 mg/mL. Ce constat a été le même pour la figure 17. Quant aux extraits EAR et EHR à la dose de 800 mg/mL, leur pic a été constaté à la 3^e heure pour les deux courbes. Pour la dose de 800 mg/mL, les valeurs des pics à la 3^e heure sont de $20,66 \pm 0,51$ % pour l'extrait EAR et de $23,16 \pm 0,40$ % pour l'extrait EHR. Quant aux doses respectives de 200 et 400 pour les deux extraits, et celle du diclofénac (10 mg/mL), ces pics sont successivement de $41,66 \pm 0,51$ % et $22,16 \pm 0,4$ % (extrait EAR), de $43,18 \pm 1,27$ % et $25,71 \pm 0,56$ % (extrait EHR) et de $33,66 \pm 0,51$ % (diclofénac) pour la 4^e heure.

Au niveau du taux d'inhibition représenté par les figures 18 et 19, en général, il est observé deux types de courbes. Il s'agit d'une courbe ayant une phase ascendante et descendante avec un pic et une courbe ayant la forme d'une droite. La première courbe est obtenue par les extraits EAR et EHR en fonction des doses utilisées. Tandis la seconde est décrite par le diclofénac. En ce qui concerne les courbes obtenues à partir des extraits EAR et EHR, il est remarqué dans l'ensemble que plus la dose de l'extrait utilisée est petite plus la courbe décrite est en dessous. Quant à la courbe du diclofénac, il est constaté que jusqu'à la 4^e heure, elle est au-dessus des doses de 200 et 400 mg/mL des extraits EAR et EHR et en-dessous de la dose 800 mg/mL des deux extraits. A partir de la 5^e heure, elle est au-dessus des différentes doses des deux extraits. Concernant les pics, ils ont été observés à la 4^e heure pour les deux extraits (EAR et EHR), aux diverses doses et pour les deux figures. Ces pics sont successivement de $38,28 \pm 0,66 \%$, $55,15 \pm 0,75 \%$ et $64,33 \pm 0,77 \%$ pour l'extrait EAR, et de $43,4 \pm 0,66 \%$, $60,48 \pm 0,75 \%$ et $76,51 \pm 0,77 \%$ % pour l'extrait EHR aux doses respectives de 200 , 400 et 800 mg/mL.

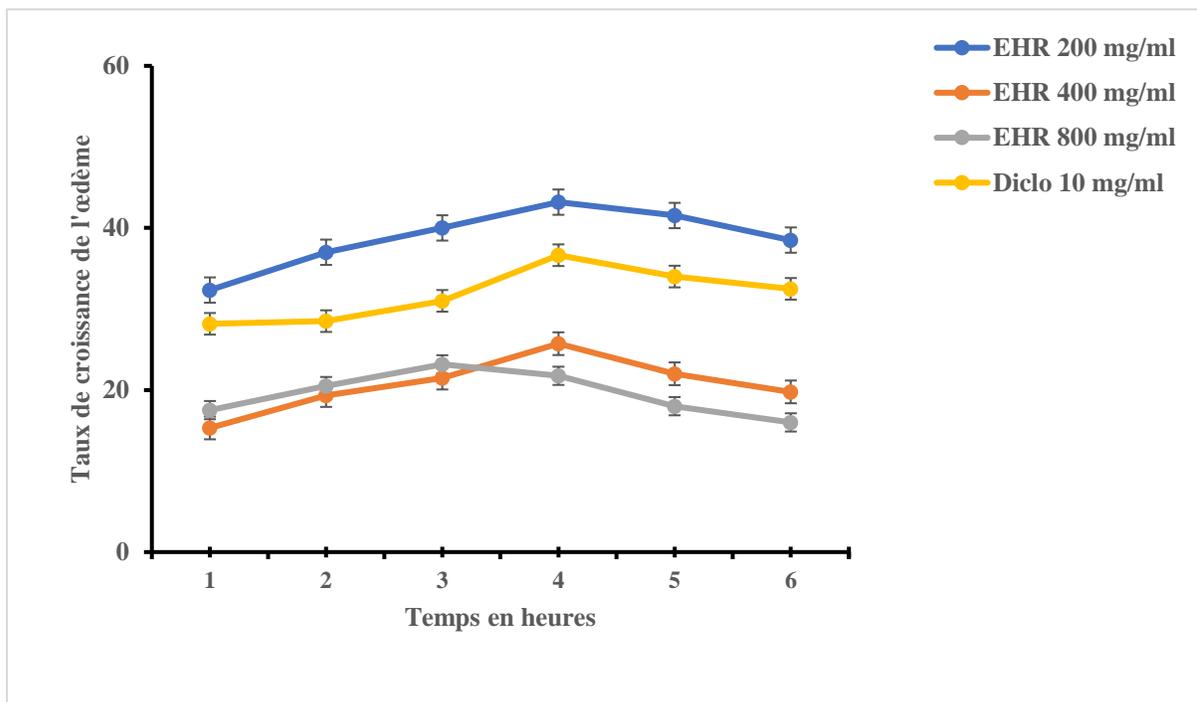


Figure 16 : Variation du taux de croissance de l'œdème des rats traités avec l'extrait EHR

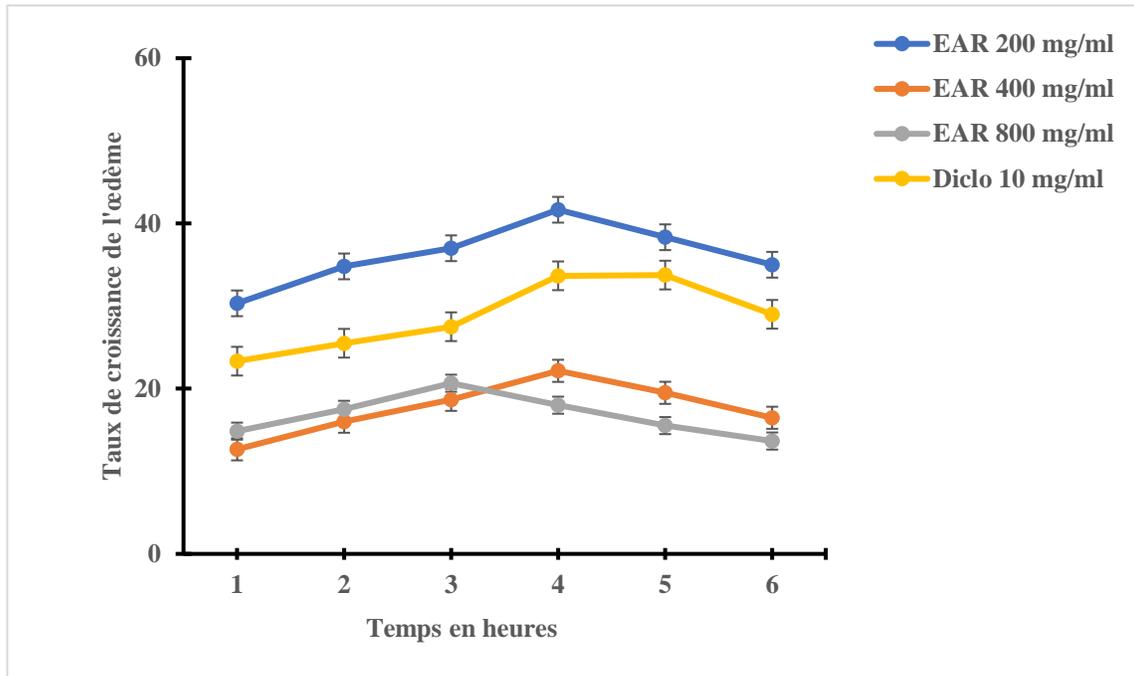


Figure 17 : Variation du taux de croissance de l'œdème des rats traités avec l'extrait EAR

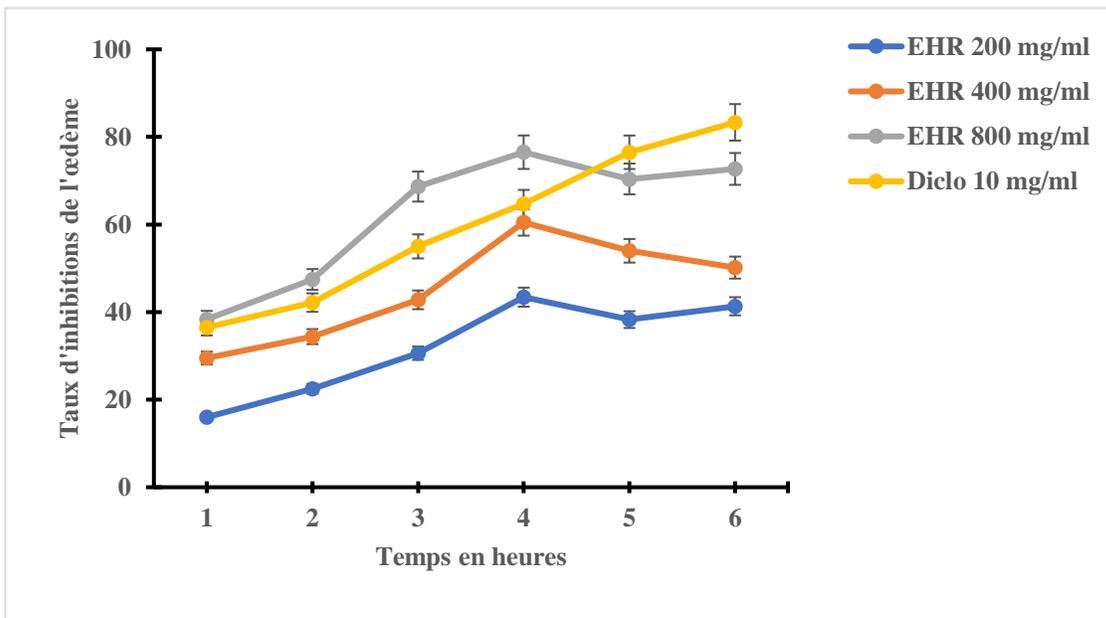


Figure 18 : Variation du taux d'inhibition de l'œdème des rats traités avec du diclofénac et de l'extrait EHR

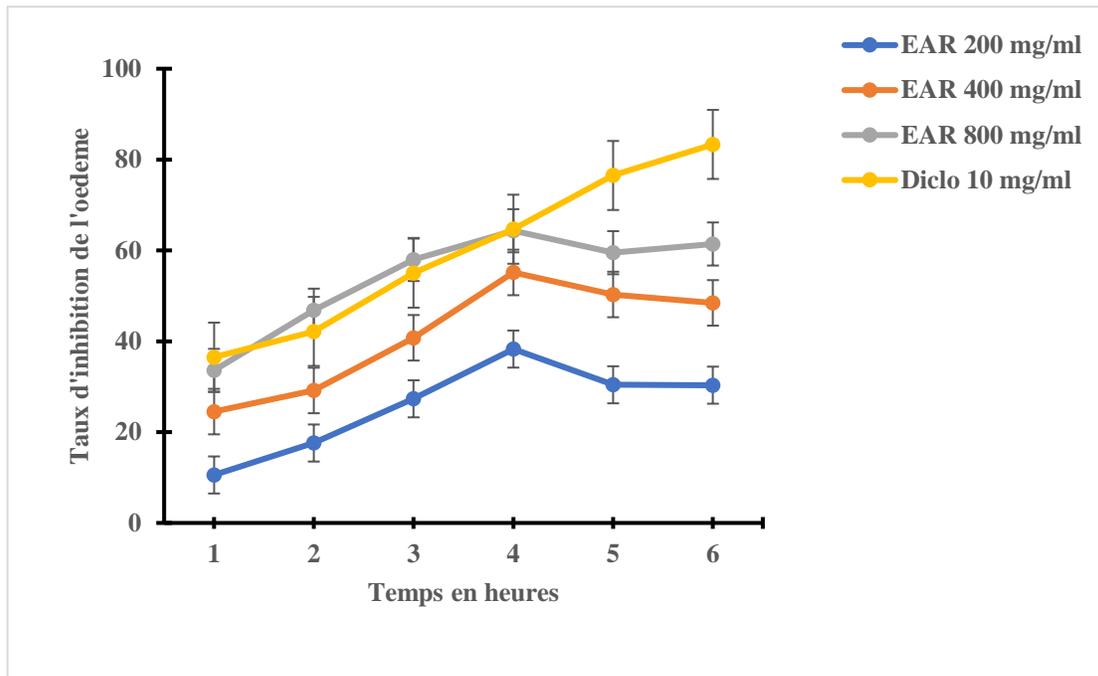


Figure 19 : Variation du taux d'inhibition de l'œdème des rats traités avec du diclofénac et de l'extrait EAR

1.8. Activité analgésique des différents extraits

Dans le tableau VIII sont représentés l'ensemble des résultats du nombre de spasmes et du taux d'inhibition de la douleur par les extraits (EAR et EHR) et l'ibuprofène induite par injection de l'acide acétique. Les figures 20 , 21 , 22 et 23 montrent l'effet individuel des extraits EAR et EHR, ainsi que de l'ibuprofène, sur l'activité analgésique, sans le témoin. Elles illustrent les valeurs présentées dans le tableau IX. De manière générale, les figures 20 et 21 sont en rapport avec le nombre de torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses des extraits (EAR et EHR). Alors que les figures 22 et 23 montrent les taux d'inhibition de la douleur chez les rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses des extraits (EAR et EHR).

Au niveau des torsions, avec le témoin (eau distillée), la valeur est de $57,66 \pm 2,07$ pendant qu'elle est de $11 \pm 1,20$ pour la molécule de référence (ibuprofène). La comparaison de l'action des diverses doses (200 à 800 mg/Kg/PC) des extraits (EAR et EHR) au témoin a permis d'avoir dans l'ensemble des valeurs de torsions qui oscillent entre $12 \pm 1,35$ et $24,67 \pm 1,06$ (EAR), et $7,66 \pm 0,06$ et $23,66 \pm 1,16$ (EHR). Elles sont de manière générale statistiquement différente. Lors de la

comparaison des valeurs de torsions des deux extraits avec celle de l'ibuprofène, il a été observé que les valeurs pour l'extrait EAR, sont significatives aux doses de 200 et 800 mg/kg/PC mais non significative à la dose de 400 mg/kg/PC. En revanche, les valeurs pour l'extrait EHR sont significatives à toutes les doses (Tableau VIII).

Concernant l'inhibition, l'action du témoin (eau distillée) est nulle (0 %). Par contre, l'ibuprofène a mis en évidence, une inhibition de $80,92 \pm 1,06$ % tandis que celle de l'extrait EAR et de l'extrait EHR varient respectivement de $57,23 \pm 0,86$ à $79,18 \pm 1,19$ % et de $58,96 \pm 1,03$ à $86,71 \pm 0,09$ %. Les variations ont été significatives pour l'extrait EAR aux doses de 200 et 800 mg/kg/PC, mais non significative à la dose de 400 mg/kg/PC. En ce qui concerne l'extrait EHR, elles ont été significatives à toutes les doses (Tableau VIII).

Tableau VIII : Nombre de spasmes et taux d'inhibition de la douleur par les extraits EAR, EHR et l'ibuprofène

Produits	Doses (mg/kg/PC)	Torsions	Inhibition (%)
Eau distillée	1 mL/100 g	$57,66 \pm 2,07$	00
Ibuprofène	10	$11 \pm 1,20^a$	$80,92 \pm 1,06^a$
EAR	200	$24,67 \pm 1,06^b$	$57,23 \pm 0,86^b$
	400	$12 \pm 1,35^a$	$79,18 \pm 1,19^a$
	800	$14 \pm 0,97^c$	$75,71 \pm 0,73^c$
EHR	200	$23,66 \pm 1,16^b$	$58,96 \pm 1,03^b$
	400	$8,66 \pm 1,01^c$	$84,97 \pm 0,99^c$
	800	$7,66 \pm 0,06^c$	$86,71 \pm 0,09^c$

EAR : Extrait Aqueux de la Recette ; EHR : Extrait Hydro-éthanolique de la Recette. Les résultats sont exprimés en moyennes accompagnées de l'erreur type. Pour évaluer la différence entre deux moyennes, le test t de Student a été utilisé. Les lettres a, b, c affectées à des valeurs indiquent que ces valeurs présentent une différence significative. Deux valeurs possédant la même lettre ne présentent aucune différence significative. La lecture se fait dans le sens des colonnes.

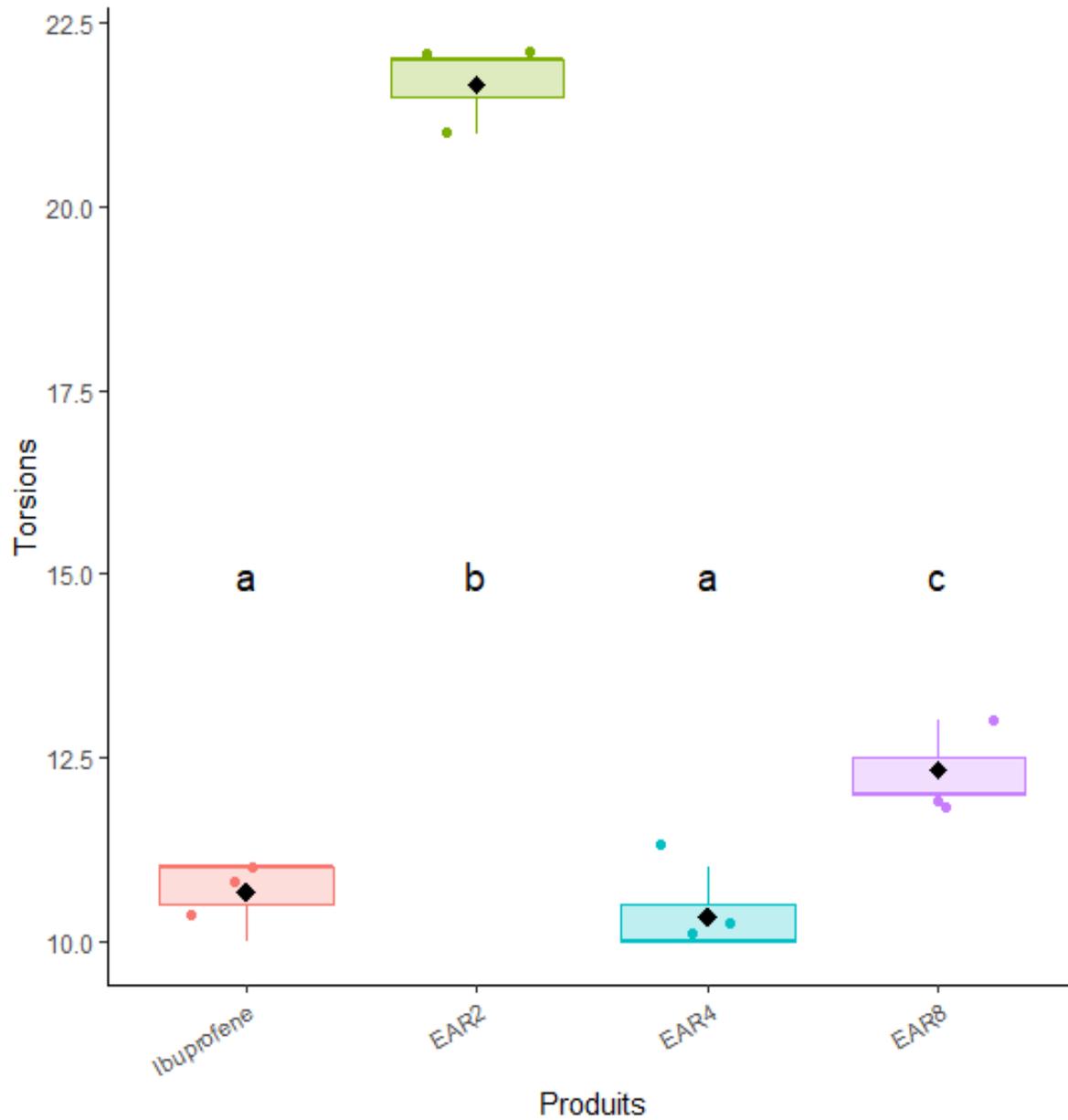


Figure 20 : Nombre de torsions des rats traités à l’ibuprofène et aux différentes doses de EAR

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $p > 0,05$)

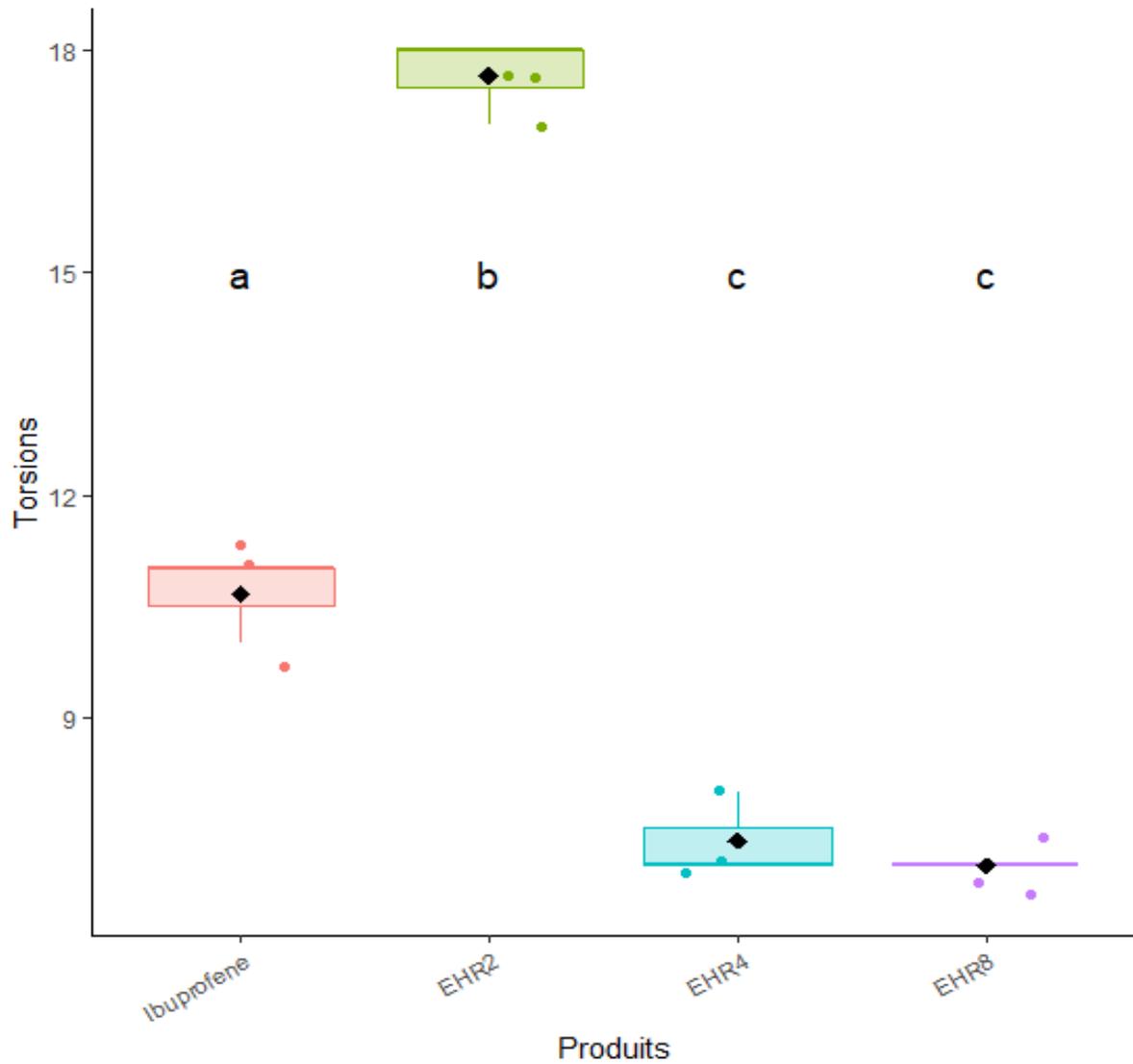


Figure 21 : Nombre de torsions des rats traités à l’ibuprofène et aux différentes doses de EHR
 Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $p > 0,05$)

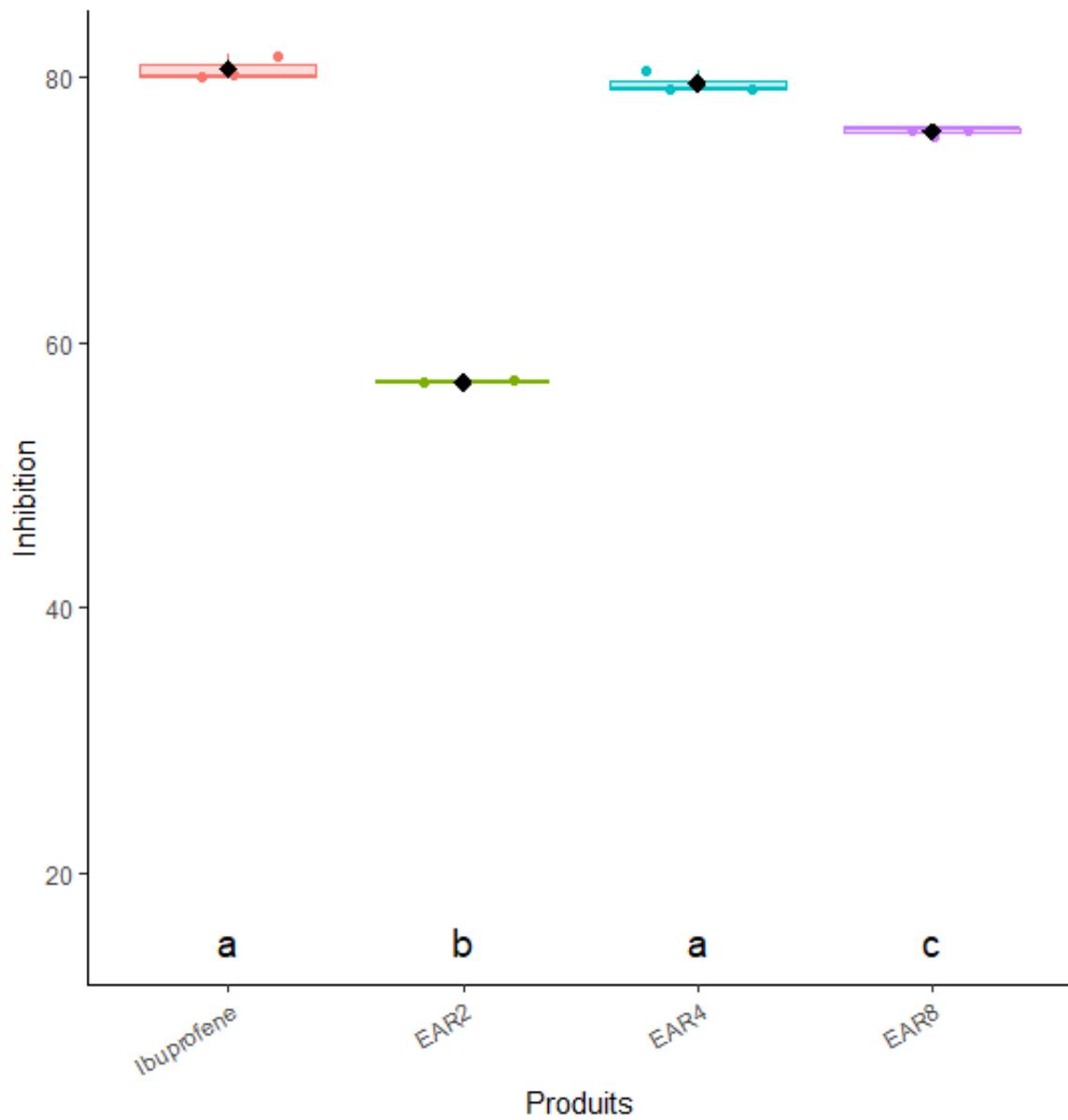


Figure 22 : Taux d'inhibition des torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EAR

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $p > 0,05$)

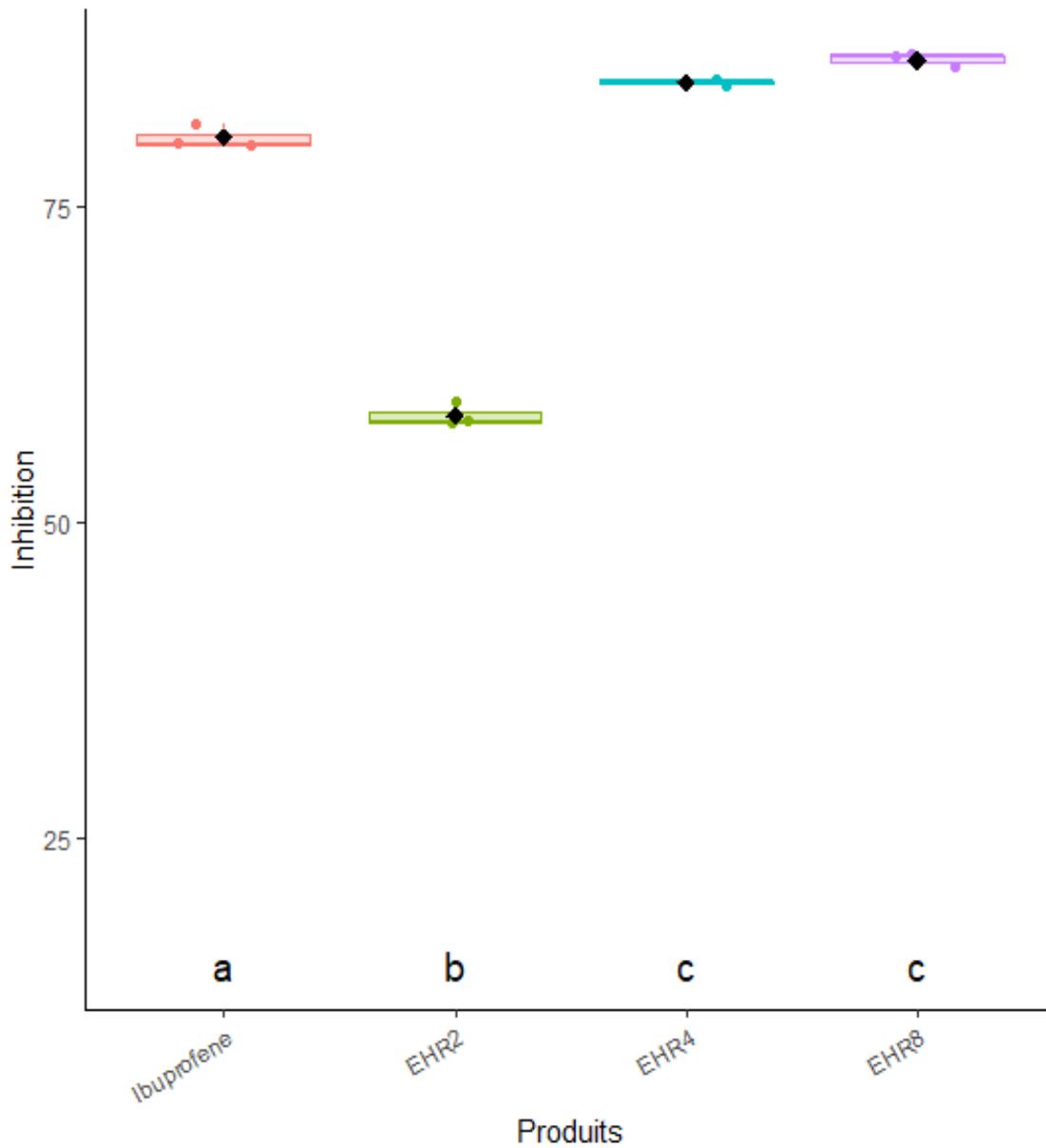


Figure 23 : Taux d'inhibition des torsions des rats traités à l'ibuprofène et aux différentes doses de EHR

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $p > 0,05$)

2. Discussion

L'extraction du produit végétal de base des plantes avec de l'eau distillée a donné un rendement élevé de 19,02 % contre 12,56 % pour l'extraction avec le mélange éthanol-eau (70/30 : V/V). Ces résultats sont largement comparables en termes de répartition en fonction des extraits utilisés à ceux de Fanou *et al.* (2021) qui ont obtenu un rendement de 32,33 % avec l'extraction aqueuse de *Ocimum gratissimum* contre 10,13 % avec l'extrait hydro-éthanolique. Selon les mêmes auteurs, la valeur d'extraction est plus élevée avec l'extrait aqueux qu'avec l'extrait hydro-éthanolique. Ils ont montré que l'eau distillée est un meilleur solvant d'extraction pour la plante étudiée que l'extrait hydro-éthanolique. Les résultats obtenus dans cette étude obéissent au même principe. Par ailleurs, les travaux de Okou (2012) et de Sibri *et al.* (2023) précisent qu'en général, l'utilisation d'un solvant donné pour l'extraction des substances bioactives d'une plante médicinale peut favoriser un groupe de composés actifs par rapport à un autre. Ainsi, selon les mêmes auteurs, l'eau peut être utilisée pour isoler des molécules bioactives comme les anthocyanes, les tanins, les saponines, etc. Pendant que l'éthanol peut être utilisé pour mettre en évidence les tanins, les polyphénols, les polyacétylènes, etc. En outre, selon Okou *et al.* (2018) et Sibri *et al.* (2023), l'extraction des substances bioactives des plantes médicinales à partir de l'eau distillée (qui est plus polaire) permet également d'isoler des macromolécules, en plus des composés précédemment cités. Contrairement à l'éthanol (qui est moins polaire), l'eau distillée peut mettre en évidence ces macromolécules car elles sont moins solubles dans l'éthanol. Par conséquent, les travaux de ces auteurs tout comme ceux de Ibrahim *et al.* (2010) pourraient justifier le rendement élevé de l'extraction à l'eau distillée de l'étude.

Dans le cadre de la recherche sur les propriétés phytochimiques des plantes médicinales, un criblage phytochimique a été réalisé sur deux types d'extraits (ERA et EHR). Les résultats ont révélé une abondance de polyphénols et de saponines dans l'extrait EAR, tandis que l'extrait EHR contient principalement des flavonoïdes. En commun, les deux extraits présentent une quantité significative de flavonoïdes et d'anthocyanes. De plus, l'extrait EHR contient également des polyphénols et de saponines. Par ailleurs, une présence modérée d'alcaloïdes, de terpènes et de tanins catechiques a été détectée dans les deux types d'extraits. Ces résultats vont dans le sens que ceux de Okou (2012) et Sibri *et al.* (2023). En fait, ces auteurs ont montré que non seulement un solvant peut faciliter l'isolement d'un composé bioactif particulier, mais que la combinaison d'un solvant avec un autre peut mettre en évidence un genre de substance bioactive soluble à la fois

dans les deux solvants. Ces constatations pourraient justifier la présence non négligeable d'anthocyanes dans les deux types d'extraits (EAR et EHR), ainsi qu'une relative présence dans ceux-ci, d'alcaloïdes, de terpènes et de tanins catechiques. Il faut noter que ces résultats sont similaires à ceux de Piba *et al.* (2021). Ces auteurs ont réalisé des travaux sur *Ficus mucosa*, *Zizyphus mauritiana* et *Tamarindus indica*. Selon Pooja & Devang (2019), la richesse des extraits issus des plantes médicinales en composés chimiques actifs pourrait expliquer les nombreuses propriétés telles que : antioxydantes, antihypertensives, antiinflammatoires, etc, prêtées à celles-ci. En clair, selon Krief (2003), Yezza & Bouchama (2014) et Sibri *et al.* (2023), tous les composés organiques susmentionnés appartiennent aux trois principaux groupes de métabolites secondaires (composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes). Ces derniers possèdent un large éventail d'activités (système cardiovasculaire, immunologie, diabète, maladies liées au stress, activités antimicrobiennes et antivirales, etc). Par conséquent, selon Deghal & Derradji (2018) et Sibri *et al.* (2023), la présence de polyphénols dans les extraits utilisés peut constituer un atout pour les utilisateurs car ils protègent l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres susceptibles d'accélérer le vieillissement cellulaire. De plus, l'action contre le stress oxydatif pourrait être renforcée par la présence des flavonoïdes qui sont de puissants antioxydants (Seyoum *et al.*, 2006 ; Adriouch *et al.*, 2017 ; Sibri *et al.*, 2021). Quant aux alcaloïdes, ils pourraient servir de réserves d'azote et seraient impliqués dans les propriétés stimulantes dans l'organisme (Merghen, 2009 ; Sibri *et al.*, 2023). Tout comme les molécules bioactives précédentes, la présence de terpènes dans les différents extraits (EAR et EHR) pourrait protéger les utilisateurs à cause de leurs probables propriétés antioxydantes, antiinflammatoires, analgésiques et antibactériennes selon Ba *et al.* (2010) ; Haddouchi *et al.* (2016) et Sibri *et al.* (2021). Ces composés, appartenant aux principaux groupes de métabolites secondaires, sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, antiinflammatoires et antimicrobiennes. Etant donné que les polyphénols et les flavonoïdes sont de puissants antioxydants, leur présence dans les extraits utilisés pourrait offrir une protection contre le stress oxydatif et les dommages cellulaires, aspects cruciaux dans la gestion de la drépanocytose. De plus, les alcaloïdes et les terpènes pourraient apporter des bénéfices additionnels grâce à leurs propriétés stimulantes et analgésiques, aidant ainsi à améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de cette maladie.

Concernant le dosage quantitatif des deux extraits (EAR et EHR), il a été révélé que l'extrait EAR contenait $66,19 \pm 2,44$ mg EAG/g MS de polyphénols, tandis que l'extrait EHR en contenait $63,04 \pm 2,81$ mg EAG/g MS. Bien que les polyphénols soient en proportion similaire dans les deux extraits, il est notable que la valeur des polyphénols totaux dans l'extrait EAR est supérieure à celle obtenue par Kouamé et al. (2021), qui était de $0,23 \pm 0,04$ mg EAG/g MS pour l'extraction aqueuse des jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*. Par ailleurs, la valeur des polyphénols dans l'extrait EHR est bien plus élevée que celle trouvée par Meziti (2009) ($33,64 \pm 0,34$ mg EAG/g MS), mais inférieure à celle obtenue par Boudiaf (2006) lors de l'extraction de *Nigella sativa* au chloroforme ($191,06$ mg EAG/g MS).

En ce qui concerne les flavonoïdes, le dosage quantitatif a révélé que l'extrait EAR contenait $135,60 \pm 2,47$ mg EqQ/g MS, contre $314,51 \pm 5,14$ mg EqQ/g MS pour l'extrait hydro-éthanol du produit végétal de base. Il est donc clair que l'extrait EHR contient plus de flavonoïdes que l'extrait aqueux.

Les polyphénols et les flavonoïdes possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui peuvent aider à réduire le stress oxydatif et l'inflammation, deux facteurs cruciaux dans la gestion de la drépanocytose. Les extraits riches en ces composés, tels que l'extrait EHR, pourraient offrir des bénéfices thérapeutiques en réduisant les dommages cellulaires et en améliorant la circulation sanguine.

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits EHR et EAR du produit végétal de base à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm en comparaison au témoin, il a été montré que l'extrait EHR présentait un pouvoir antioxydant plus important que l'extrait EAR. En plus, cette activité est dose-dépendante. En effet, selon Dieng *et al.* (2017), cette capacité de réduction est déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les substances antiradicalaires. De même, les résultats du pouvoir antioxydant des différents extraits testés à diverses concentrations dans cette étude ont montré que le taux d'inhibition de l'extrait EHR est supérieur à celui de l'extrait EAR, quel que soit la concentration utilisée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Dieng *et al.* (2017). En fait, ces auteurs ont montré qu'à toutes les concentrations testées, les extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de l'écorce de *Piliostigma thonningii* inhibaient significativement le radical DPPH de manière dose-dépendante. Certains auteurs tels que Bougandoura & Bendimerad (2013), Diomandé *et al.* (2018) et Sibri *et al.* (2023) ont démontré que les molécules antioxydantes comme l'acide ascorbique, le tocophérol, les

flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH grâce à leur capacité à libérer de l'hydrogène. Ainsi, les polyphénols, et en particulier les flavonoïdes, contenus dans les extraits de produits de base sont probablement responsables de l'activité antioxydante. Cette affirmation est en accord avec les travaux réalisés par Effo *et al.* (2021) sur des extraits d'*Irvingia gabonensis*, une espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques dont l'activité antioxydante et anti-inflammatoire. Aussi, les recherches menées par Evenamedé *et al.* (2017), corroborées par les études de Diomandé *et al.* (2018) et de Sibri *et al.* (2023), ont révélé une corrélation entre la concentration en phénols totaux et l'activité antiradicalaire des extraits végétaux. Ces chercheurs ont montré que la capacité des extraits végétaux à neutraliser les radicaux libres est due à la présence de groupes hydroxyles (OH) sur les noyaux benzoïques des composés phénoliques. De même, le test FRAP a été utilisé pour évaluer autrement l'activité antioxydante des extraits EAR et EHR du produit végétal de base avec toujours pour témoin la Vitamine C. Cette méthode a révélé que les pouvoirs réducteurs des extraits du produit de base sont dépendants de la dose et de la probable présence de polyphénols et de flavonoïdes. Globalement, cette étude démontre que les extraits ayant la plus grande capacité à piéger les radicaux libres DPPH possèdent également une excellente capacité à réduire le Fe^{3+} . Selon Sibri *et al.* (2021), la drépanocytose se caractérise principalement par la production massive de radicaux libres, entraînant un stress oxydatif sévère et la consommation de monoxyde d'azote par les radicaux libres de l'oxygène. Ce stress oxydatif influence également le rapport Fe^{3+}/Fe^{2+} , qui est assez élevé dans les cellules falciformes, et joue un rôle dans l'hémolyse des drépanocytes. Les résultats obtenus avec les extraits EAR et EHR démontrent qu'ils contiennent des molécules anti-oxydants capables d'agir selon deux mécanismes d'action différents (la réduction d'un radical libre stable, le DPPH, par un antioxydant et la capacité d'une substance à réduire un ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux Fe^{2+}). Ainsi, les propriétés anti-oxydantes des extraits EAR et EHR pourraient justifier l'utilisation de la recette contre la drépanocytose.

Dans le contexte de la drépanocytose, où l'oxydation est un facteur prédominant, l'idée d'un traitement basé sur l'administration d'agents réducteurs ou anti-oxydants a naturellement émergé. Ainsi, les recherches de Uwakwe & Nwaoguikpe (2008), Abdou (2009) et Antia *et al.* (2015) ont mis en évidence l'efficacité des minéraux tels que le fer, le zinc, le sodium, le cuivre, le calcium et le magnésium contre les radicaux libres. Ainsi, la présence de ces composés inorganiques, combinée à l'activité anti-oxydante, anti-hémolytique, anti-inflammatoire et analgésique de ces

extraits (EAR et EHR), pourrait aider les personnes atteintes de drépanocytose à combattre les symptômes de la maladie (Manzo, 2012 ; Kengni *et al.*, 2016 ; Zondegoumba *et al.*, 2019).

Une analyse des résultats des extraits EAR et EHR a révélé une composition minérale significativement différente. Il est à noter que l'extrait EHR contenait une concentration plus élevée de fer, tandis que l'extrait EAR était riche en magnésium, calcium, cuivre, sodium et zinc. Selon Picaud (2017), ces minéraux sont essentiels pour les fonctions physiologiques humaines et animales. En particulier, la teneur en fer est cruciale pour la synthèse de l'hémoglobine, une protéine qui transporte l'oxygène. En effet, elle varie significativement entre les extraits EAR et EHR, avec des valeurs respectives de $20,21 \pm 1,77$ mg/100 g et $31,97 \pm 2,32$ mg/100 g. En fait, un faible taux de fer peut réduire la capacité des globules rouges à transporter l'oxygène, entraînant une anémie.

Par ailleurs, l'étude a révélé que l'extrait EAR possède une teneur en calcium huit fois supérieure à celle de l'extrait EHR, avec des moyennes respectives de $476,28 \pm 0,52$ mg/100 g et $56,33 \pm 1,12$ mg/100 g. Cependant, ces valeurs restent inférieures à celles rapportées par Tchiegang & Mbougueng (2005). De plus, l'analyse a montré que les extraits EAR et EHR diffèrent significativement en termes de teneur en cuivre. Selon Brody (1994), le calcium est un élément essentiel des os et joue un rôle clé dans la contraction musculaire, l'ossification, le système nerveux et la coagulation sanguine (Flood *et al.*, 2005). Il a également une activité anti-carcinogène et, en combinaison avec le magnésium, il peut aider à combattre l'ostéoporose (Saddik, 2021). Ces propriétés sont particulièrement pertinentes pour les patients atteints de drépanocytose. Les patients drépanocytaires sont sujets à des complications osseuses, et un apport suffisant en calcium pourrait aider à renforcer les os et réduire les crises de douleurs osseuses. De plus, la drépanocytose peut augmenter le risque de complications de coagulation, et le calcium, étant vital pour ce processus, pourrait potentiellement réguler la coagulation chez ces patients. Le calcium est également crucial pour le bon fonctionnement du système nerveux, ce qui pourrait aider à atténuer les symptômes neurologiques associés à la drépanocytose. Le cuivre est un oligo-élément essentiel impliqué dans plusieurs processus physiologiques. L'étude a révélé que les extraits EAR et EHR contiennent des quantités différentes de cuivre, ce qui est en accord avec les observations de Picaud (2017) et Saddik (2021). Le cuivre joue un rôle important dans la formation des globules rouges, ce qui peut améliorer la qualité et la fonction des globules rouges chez les patients atteints de drépanocytose. De plus, le cuivre contribue à la santé des vaisseaux sanguins, aidant ainsi à

minimiser les dommages, et il joue un rôle dans l'immunité, ce qui pourrait renforcer les défenses immunitaires et réduire les infections chez ces patients. Le cuivre est également essentiel pour la production d'ATP, la principale source d'énergie cellulaire, et agit comme un cofacteur pour les enzymes antioxydantes, facilitant l'absorption et l'utilisation du fer. Dans cette étude, une variation significative de la teneur en sodium des extraits EAR et EHR a été observée avec des valeurs de $135,55 \pm 1,05$ mg/100 g pour l'extrait EAR et de $93,09 \pm 0,34$ mg/100 g pour l'extrait EHR. Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par Deshpande & Damodaran (1990) sur le niébé, mais inférieures à celles rapportées par Guil *et al.* (1998) et Vivek & Garg (2006) sur les plantes comestibles d'Espagne et de l'Inde. Le sodium, principal électrolyte extracellulaire, joue un rôle crucial dans l'entretien de l'équilibre hydrique de l'organisme humain, en particulier dans la balance acido-basique. Il est indispensable pour la transmission de l'influx nerveux, le transport du glucose dans les cellules, le maintien de l'équilibre des fluides dans le corps et le fonctionnement normal des nerfs et des muscles (Taylor, 2003 ; Nader, 2021). Ces fonctions sont particulièrement pertinentes pour les patients atteints de drépanocytose, car un équilibre électrolytique adéquat est essentiel pour leur santé globale et pour éviter les complications. En ce qui concerne le zinc, la teneur dans les extraits EAR et EHR est respectivement de $5,86 \pm 0,04$ mg/100 g et de $4,11 \pm 0,05$ mg/100 g. Le zinc est un oligo-élément essentiel impliqué dans de nombreuses fonctions biologiques, y compris la fonction immunitaire et la cicatrisation des plaies (Houston *et al.*, 2011). Une supplémentation en zinc pourrait diminuer la fréquence des crises et des infections chez les personnes drépanocytaires (Antia *et al.*, 2015). Le zinc agit également comme un antioxydant important en étant un cofacteur avec le cuivre de la superoxyde dismutase, en ayant une action anti-radicalaire directe sur la formation du radical hydroxyle, et en maintenant une concentration élevée en métallothionéines, riches en sulfhydryle (SH), ce qui équivaut à une fonction piègeur de radicaux libres (Abdou, 2009 et Picaud, 2017). L'atome de zinc, présent dans plus de 200 métallo-enzymes, agit de différentes manières sur le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. Ces propriétés sont cruciales pour les patients atteints de drépanocytose, car elles peuvent contribuer à améliorer la réponse immunitaire et à réduire les complications liées au stress oxydatif. Les quantités de magnésium dans les extraits EAR et EHR sont respectivement de $429,68 \pm 1,59$ mg/100 g et de $224,79 \pm 1,62$ mg/100 g. Le magnésium, en combinaison avec le calcium, peut aider à combattre l'ostéoporose (Saddik, 2021) et joue un rôle clé dans de nombreuses fonctions physiologiques, y compris le métabolisme énergétique et la fonction musculaire. Pour

les patients drépanocytaires, un apport adéquat en magnésium est essentiel pour soutenir la santé osseuse et musculaire, réduire les risques de crises et améliorer la qualité de vie. Les résultats de cette étude ont montré que les extraits EAR et EHR, avec leurs teneurs élevées en calcium, cuivre, sodium, zinc et magnésium, pourraient offrir des avantages significatifs pour la gestion de la drépanocytose. En mettant en évidence les propriétés bénéfiques de ces éléments, il est possible d'améliorer les résultats cliniques et la qualité de vie des patients atteints de cette maladie.

Les macromolécules telles que les protéines, les lipides, les glucides et les fibres sont essentielles pour le corps humain. Dans le contexte de la drépanocytose, ces nutriments jouent des rôles clés dans la gestion de la maladie et l'amélioration de la qualité de vie des patients. Les protéines sont impliquées dans presque tous les processus cellulaires, y compris la croissance et la réparation des tissus, la réponse immunitaire et la transmission des signaux nerveux. Elles peuvent également activer la génération de thrombine, un facteur clé dans la coagulation du sang (Conran & Belcher, 2018). Dans la drépanocytose, certaines protéines, comme l'hémoglobine, jouent un rôle crucial. En effet, une défectuosité de l'hémoglobine entraîne une forme anormale des globules rouges (Nader, 2021). De plus, selon Sombie *et al.* (2011), certaines protéines peuvent interagir avec les lipides membranaires des érythrocytes pour les protéger contre la destruction et l'oxydation. Les lipides fournissent une source d'énergie concentrée, servent de matériau de construction pour les membranes cellulaires et jouent un rôle dans la signalisation cellulaire (Falck *et al.*, 2007). Dans le cadre de la drépanocytose, des changements dans la composition lipidique de la membrane des globules rouges peuvent affecter leur flexibilité et leur fonction (Lê, 2015). Les résultats obtenus lors de l'analyse des macronutriments (lipides, protéines, glucides et fibres) montrent que les teneurs varient entre les extraits EAR et EHR. Cette variabilité pourrait être due à la nature des extraits eux-mêmes. Les glucides et les fibres sont également importants pour la santé générale des patients atteints de drépanocytose. Les glucides fournissent l'énergie nécessaire pour les activités quotidiennes et le métabolisme cellulaire. Les fibres, quant à elles, favorisent une bonne digestion et peuvent aider à réguler les niveaux de glucose dans le sang. Les résultats sur les macronutriments de cette étude ont montré des teneurs différentes par rapport à ceux de Dappah *et al.* (2018) sur *Corchorus olitoris*, mais similaires à ceux d'Abdou (2009) sur *Dorstenia psilurus* avec des valeurs respectives de $4,82 \pm 0$ et $10,16 \pm 0,40$. Toutefois, il est à noter que les valeurs obtenues pour les protéines et les lipides dans les extraits EAR et EHR sont inférieures à celles déterminées par Tchiégang & Mbougoueng (2005). Les extraits EAR et EHR peuvent être de

bonnes sources de macronutriments (lipides, protéines, fibres et glucides) végétaux et peuvent potentiellement améliorer l'efficacité du traitement de la drépanocytose. Ces macronutriments jouent des rôles essentiels dans le maintien de la santé des globules rouges, la gestion de l'énergie, la signalisation cellulaire, et la protection contre l'oxydation et la destruction des cellules. En intégrant ces nutriments dans le régime alimentaire des patients, il est possible d'améliorer leur qualité de vie et de réduire les complications liées à la drépanocytose.

L'étude de la fragilité membranaire a été menée pour évaluer l'effet des extraits (EAR et EHR) et de la phénylalanine sur la stabilité de la membrane des globules rouges érythrocytaires à travers un test d'hémolyse. Au cours de cette étude, le NaCl a été utilisé afin d'observer le comportement des cellules sanguines lors du passage de la pression osmotique d'un milieu très hypotonique à un milieu isotonique. Ainsi, il a été constaté une diminution progressive du nombre de cellules lysées. Les lyses cellulaires ont été également observées avec les extraits (EAR et EHR) et la phénylalanine dans les mêmes conditions. De manière générale, l'utilisation de ces deux extraits a fortement réduit le nombre de cellules lysées avec une meilleure performance de l'extrait EAR. Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les globules rouges ont été protégés à toutes doses utilisées, mais particulièrement aux doses de 0,625 et 1,25 mg/mL (isotonie). À la dose de 0,625 mg/mL, les extraits EAR et EHR ont la même activité que la phénylalanine (100 % d'inhibition). Néanmoins, l'activité diffère à la dose de 1,25 mg/mL des extraits (EAR et EHR) et de la phénylalanine. En effet, elle est respectivement de 89,34 % (EAR), 83,67 % (EHR) et 100 % (phénylalanine). Ces résultats montrent que l'extrait EAR inhibe la lyse membranaire des érythrocytes plus que l'extrait EHR. Les résultats obtenus sont conformes avec ceux de Elekwa *et al.* (2005) qui ont travaillé dans les mêmes conditions sur l'extrait aqueux de *Zanthoxylum macrophylla*. Il est essentiel de noter que l'effet supérieur de la phénylalanine par rapport aux extraits (EAR et EHR) sur la protection des membranes érythrocytaires s'explique par le fait que la phénylalanine est une molécule de référence, contrairement aux autres. En général, les métabolites secondaires étudiés ont une action protectrice sur les membranes des érythrocytes (Mpiana *et al.*, 2010). Cette activité peut être attribuée à la présence de flavonoïdes dans les extraits, ce qui est en accord avec les résultats de Ramdé-Tiendrébéogo *et al.* (2018). Ces chercheurs ont démontré que l'activité anti-hémolytique et anti-péroxydation lipidique de *Ficus sycomorus* était due à l'action des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Ils sont connus pour leur capacité à protéger les globules rouges contre la lyse membranaire et la peroxydation

lipidique. Il est reconnu que la drépanocytose est une forme d'anémie hémolytique causée par l'hémolyse précoce des érythrocytes du sang drépanocytaire. Cette hémolyse précoce conduit à une diminution du taux d'hémoglobine, une protéine vitale du sang, entraînant ainsi l'anémie. Selon Mpiana *et al.* (2016), toute substance capable de prévenir ou de réduire cette hémolyse serait bénéfique pour les personnes atteintes de drépanocytose. En 2005, Elekwa *et al.* avaient déjà montré que l'extrait aqueux de *Zanthoxylum macrophylla* stabilisait la membrane des érythrocytes SS contre l'hémolyse. Dans la même veine, Ngbolua *et al.* (2013) ont également montré que l'extrait aqueux de *Hypoxis angustifolia* et *Trema orientalis* protégeaient aussi les membranes des érythrocytes SS. Tout comme les précédents, Ansa *et al.* (2023) ont révélé que l'extrait hydro-éthanolique de *Newbouldia laevis* protégeait la membrane des érythrocytes contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO), empêchant ainsi la déformation des membranes et l'hémolyse. Cette activité serait due à la présence d'alkaloïdes et de composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, etc.) dans l'extrait hydro-éthanolique de *Newbouldia laevis*. En résumé, il est possible d'affirmer que les plantes qui contiennent des métabolites secondaires tels que les terpénoïdes et les polyphénols ont un effet protecteur sur la membrane érythrocytaire contre la lyse. D'après plusieurs études, les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, possèdent des propriétés anti-radicalaires. Ils sont capables de neutraliser ou de piéger les radicaux libres (Thephinlap *et al.*, 2013 et Khalili *et al.*, 2014). De plus, les polyphénols agissent comme des chélateurs des métaux de transition, ce qui réduit la vitesse de la réaction de Fenton. Ils peuvent aussi prévenir les oxydations provoquées par les radicaux libres au niveau de la membrane érythrocytaire (Wong *et al.*, 2006). Plusieurs études antérieures ont révélé que les propriétés anti-drépanocytaires de certaines plantes médicinales peuvent être dues à la présence de composés phénoliques (Mpiana *et al.*, 2012 ; Kambale *et al.*, 2013 ; Ramdé-Tiendrébéogo *et al.*, 2018 ; Kplé, 2023). Cette activité anti-hémolytique expliquerait l'utilisation de cette recette contre la drépanocytose.

Les conséquences de la lyse membranaire (la destruction) des globules rouges sont nombreuses entre autres, elles peuvent provoquer des anomalies graves au niveau de la membrane érythrocytaire et divers dysfonctionnements. Ces problèmes peuvent contribuer à l'apparition de crises vaso-occlusives. Selon, Hierso (2015), elles sont les symptômes les plus invalidants de la maladie. Chez l'adulte, elles sont généralement de nature ostéoarticulaire, associées à des douleurs intenses et peuvent survenir à des fréquences variables. Les crises vaso-occlusives étant les

complications les plus courantes de la drépanocytose, les analgésiques sont donc les médicaments les plus couramment utilisés par les personnes atteintes de drépanocytose pour la douleur (Kple, 2023). L'administration des extraits (EAR et EHR) aux doses de 200 ; 400 et 800 mg/kg de pc a entraîné une diminution du nombre de spasmes abdominales provoquées par l'acide acétique. Les différents extraits EAR et EHR aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc ont eu un effet similaire à celui de l'ibuprofène. En fait, le taux d'inhibition de la douleur à la dose de 400 mg/kg de pc était de $79,18 \pm 1,19$ % et $84,97 \pm 0,99$ % pour EAR et EHR respectivement, puis de $75,71 \pm 0,73$ % et $86,71 \pm 0,09$ % à la dose de 800 mg/kg de pc pour les mêmes extraits, tandis que celui de l'ibuprofène était de $80,92 \pm 1,06$ %. Cette activité des extraits est dose-dépendante. La comparaison du taux d'inhibition de la douleur aux doses de 400 et 800 mg/Kg de PC des extraits (EAR et EHR) révèlent que l'extrait EHR a un meilleur taux d'inhibition (respectivement $84,97 \pm 0,99$ % et $86,71 \pm 0,09$ %). Quant à l'ibuprofène (molécule de référence), à la dose de 10 mg/kg de pc, elle a permis d'avoir une inhibition de $80,92 \pm 1,06$ %. Cette observation peut s'expliquer par le fait que l'ibuprofène est une molécule pure contrairement à l'extrait EHR. L'effet analgésique des extraits pourrait être dû à l'inhibition de la libération des médiateurs pro-inflammatoires par la présence d'alcaloïdes. En effet, selon Aprioku *et al.* (2014), les alcaloïdes sont reconnus pour leur capacité à inhiber la perception de la douleur. De plus, Koua *et al.* (2018) ont démontré que la présence de flavonoïdes dans les extraits de *Crinum scillifolium* aurait inhibé les torsions induites par l'injection d'acide acétique. La présence de ces composés chimiques dans les extraits EAR et EHR serait donc à l'origine de l'activité analgésique.

En ce qui concerne l'inflammation, elle est un facteur clé dans la pathologie de la drépanocytose. En particulier, lorsqu'elle est persistante, elle favorise davantage le blocage des vaisseaux sanguins *via* divers processus biochimiques. Pour atténuer ces conséquences délétères chez les personnes atteintes de drépanocytose, une inflammation a été induite chez des rats. La carragénine a été employée pour déclencher une inflammation aiguë et évaluer l'efficacité préventive et thérapeutique des extraits EAR et EHR. Le test de l'œdème provoqué par la carragénine révèle des traits communs avec l'inflammation aiguë, comme l'augmentation de l'extravasation de cellules et de liquides dans les tissus (Obiri *et al.*, 2014). La réponse inflammatoire est un processus en trois phases. La première phase située entre 1 h et 2 h est due à la libération de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine, qui favorise la vasodilatation et la transsudation plasmatique. Une deuxième phase située entre 2 h et 3 h implique des kinines, principalement la

bradykinine, comme médiateur augmentant la perméabilité vasculaire et la formation d'œdèmes. La dernière phase située entre 3 h et 6 h est caractérisée par la libération accrue des métabolites de l'acide arachidonique tels que les prostaglandines, la migration des neutrophiles et la libération de radicaux libres d'oxygène dans la zone inflammatoire (Koua *et al.*, 2018). Dans le contexte de l'inflammation aiguë, les résultats montrent que l'extrait EHR aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc inhibe de manière significative la formation de l'œdème des pattes de rat, tout comme le produit de référence, le diclofénac (10 mg/kg de pc). Toutefois, à la dose de 800 mg/kg pc, l'extrait EHR a une meilleure action à toutes les heures. Comparativement au diclofénac (molécule de référence), la dose de 800 mg/kg pc de l'extrait EHR atteint son meilleur effet à la 4^e heure. Tandis que le diclofénac, l'a à la 6^e heure. Selon Mansour (2015), le diclofénac est un anti-inflammatoire non stéroïdien qui exerce une activité anti-inflammatoire en inhibant la cyclo-oxygénase et en supprimant la production de prostaglandine, d'histamine et de sérotonine. Ces substances sont impliquées dans la vasodilatation et la perméabilité vasculaire. La réduction du volume de l'œdème de la patte des rats par l'extrait EHR à la dose de 800 mg/kg de pc pourrait être due à la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans ces extraits. Ces composés auraient agi comme des antagonistes de l'histamine, de la sérotonine, de la bradykinine et de la biosynthèse des prostaglandines.

L'efficacité observée avec les extraits EAR et EHR suggère qu'il pourrait y avoir un effet synergique ou additionnel des molécules des différentes plantes utilisées dans la recette. La combinaison de ces plantes offre donc un espoir tangible dans la recherche de molécules bioactives pour une prise en charge plus abordable de la drépanocytose.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude visait à évaluer le potentiel anti-drépanocytaire de la recette composée de *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* et *Carpolobia lutea*, tout en apportant une justification scientifique à son emploi dans la médecine traditionnelle par certains praticiens pour traiter la drépanocytose. Cette évaluation a été réalisée à partir de deux extraits issus de la recette dont l'extrait aqueux (EAR) et l'extrait hydro-éthanolique (EHR).

Le criblage phytochimique des deux extraits a révélé la présence de multiples composés actifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les polyphénols, les terpènes, les saponosides, les tannins catéchiques et les anthocyanes.

Comparé à l'extrait aqueux, les teneurs en polyphénols de l'extrait hydro-éthanolique et en flavonoïdes ont été plus importantes et évaluées à $63,04 \pm 2,81$ mgEAG/g MS et à $314,51 \pm 5,14$ mgEqQ/g MS respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que l'extrait EHR présente une capacité d'inhibition du radical DPPH plus élevée ($78,69 \pm 1,34$ % à $5 \mu\text{g/mL}$) que l'extrait EAR ($75,99 \pm 1,02$ % à $10 \mu\text{g/mL}$). De plus, l'extrait EHR affiche une CI_{50} plus faible ($1,19 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$) par rapport à l'extrait EAR ($2,13 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$), indiquant une efficacité antioxydante supérieure à plus faible concentration. En revanche, dans le test FRAP, l'extrait EAR démontre une capacité réductrice plus élevée ($435,864 \pm 0,23$ % à $10 \mu\text{g/mL}$) que l'extrait EHR ($353,679 \pm 2,10$ %), suggérant une meilleure aptitude à la réduction des ions ferriques.

Les analyses des extraits EHR et EAR ont révélé des différences significatives dans leur composition minérale. L'extrait EHR se distingue par une teneur élevée en fer ($31,97 \pm 2,32$ mg/100 g), tandis que l'extrait EAR affiche des concentrations remarquables en zinc, sodium, calcium, cuivre et magnésium.

En ce qui concerne la composition en macromolécules, les analyses montrent que l'extrait EAR présente des concentrations significativement plus élevées en protéines ($6,92 \pm 0,33$ %), en fibres ($1,50 \pm 0,25$ %), en glucides ($76,68 \pm 0,03$ %), et en valeurs énergétiques ($371,57 \pm 0,49$ Kcal) par rapport à l'extrait EHR. Cependant, l'extrait EHR a des concentrations significativement plus élevées en lipides ($4,79 \pm 1,77$ %).

L'étude de la fragilité membranaire montre que, dans des conditions isotoniques les extraits EAR et EHR présentent un effet inhibiteur significatif évalué à 100 % sur l'hémolyse à la dose de $0,625$ mg/mL. Par contre, en milieu hypotonique la meilleure activité a été observée à la dose de $0,625$ mg/mL pour les deux extraits.

Les extraits EAR et EHR ont un effet anti-inflammatoire notable à la dose de 800 mg/kg/pc avec des pourcentages d'inhibition comprises entre 63 % et 77 %. A cette même dose, cet effet est doublé d'une activité analgésique avec des pourcentages variant entre 79 % et 86 %.

Toutes ces données justifient l'usage traditionnel de cette recette dans la prise en charge des manifestations symptomatiques associées à la drépanocytose dans la région du Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire). Cependant, la démarche méthodologique mise en œuvre dans le cadre de cette étude a permis d'améliorer significativement les effets de la recette traditionnelle (extrait aqueux) en passant à un extrait hydroalcoolique.

Pour les travaux ultérieurs, il est envisagé :

- d'identifier, isoler et caractériser le ou les principes actifs anti-drépanocytaires impliqués dans les différentes activités pharmacologiques étudiées ;
- d'étudier la toxicité subaiguë et chronique des extraits pour garantir la sécurité d'utilisation ;
- et de proposer une formulation galénique pour un médicament traditionnel amélioré basé sur la recette étudiée.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abdou B.A. (2009). Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle. Thèse de Doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires de l'Institut National Polytechnique de Lorraine et de l'Université de Ngaoundéré (Lorraine, France), 228 p.
- Adomou A.C., Yedomonhan H., Djossa B., Legba S.I., Oumorou M & Akoegninou A. (2012). Etude ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical sciences*. 6(2) : 745-772.
- Adriouch S., Kesse-Guyot E., Hercberg S., Touvier M. & Fezeu L.K. (2017). Association entre les apports en polyphénols et le risque de maladies cardiovasculaires : résultats d'une étude prospective sur 84 000 adultes français. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 31(3) : 238 p.
- AFNOR (1984). Recueil française : corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés. Paris. 459 p.
- Akunyili D.N. (2000). Anticonvulsant Activity of the Ethanolic extract of *Newbouldia laevis*. 2nd NAAP Scientific conference, Zaria, *Book of Abstract*, pp. 155-158.
- Amer J. & Fibach E. (2005). Chronic oxidative stress reduces the respiratory burst response of neutrophils from beta-thalassaemia patients. *British Journal of Haematology*, 129(3) : 435–441.
- Amer J., Ghoti H., Rachmilewitz E., Koren A., Levin C. & Fibach E. (2006). Red blood cells, platelets and polymorphonuclear neutrophils of patients with sickle cell disease exhibit oxidative stress that can be ameliorated by antioxidants. *British Journal of Haematology*, 132(1) :108-113.
- Amer J., Goldfarb, A. & Fibach, E. (2003). Flow cytometric measurement of reactive oxygen species production by normal and thalassaemic red blood cells. *European Journal of Haematology*, 70(2) : 84–90.
- Ansa A.A., Akpere O & Onwudinjo K.I. (2023). Constituant phytochimique et effet hématologique de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Newbouldia laevis* sur la toxicité induite par le glyphosate chez les lapins males. *Animal Research international*, 20(3) : 5175-5184.
- Antia B.S., Ita B.N. & Udo U.E. (2015). Composition nutritive et propriétés antioxydantes *in vitro* des extraits de *Harungana madagascariensis* Stembark. *Journal of Medicinal Food*, 18(5) : 609- 614.

- Anupama A.S., Kishor N.R., Rahul D.K. & Kanchan S.M. (2012). Evaluation of antiinflammatory and analgesic activity of *Tamarindus indica* seeds. *International Journal Pharmacology Sciences Drug Research*, 4(3) : 213-217.
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 15 th Edition. Washington, DC, USA, 684 p.
- Aprioku J.S., Nwidu L.L. & Amadi C.N. (2014). Evaluation of toxicological profile of ibuprofen in wistar albino rats. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 6(1) : 32-40.
- Arnal C. & Girot R. (2002). Drépanocytose chez l'adulte. Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 16-22.
- Asakura T., Minakata K., Adachi K., Russell M.O. & Schwartz E. (1977). Denatured hemoglobin in sickle erythrocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 59(4) : 633-640.
- Aslan M., Thornley-Brown D. & Freeman B.A. (2000). Reactive species in sickle cell disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899 : 375-391.
- Aubry Pierre & Gaüzère B-A. (2019). Hémoglobinoses Actualités. Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France) 16 p.
- Aufradet E. (2012). Drépanocytose et activité physique : conséquences sur les mécanismes impliqués dans l'adhérence vasculaire, l'inflammation et le stress-oxydatif. Université de Lyon, Science et Technique des Activité Physique et Sportive, Lyon, France 264 p.
- Ba K., Tine E., Destain J., Cissé N. & Thonart P. (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnologie, Agronomie, Société et environnement*, 14 : 131-139.
- Balla J., Jacob H.S., Balla G., Nath K., Eaton, J.W. & Vercellotti G.M. (1993). Endothelial-cell heme uptake from heme proteins: induction of sensitization and desensitization to oxidant damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(20) : 9285-9289.
- Barwick L. (2004). Turning it all upside down . . . Imagining a distributed digital audiovisual archive. *Literary and Linguistic Computing*, 19(3), 253-263.
- Beetsch J.W., Park T.S., Dugan L.L., Shah A.R. & Gidday J.M. (1998). Xanthine oxidase-derived superoxide causes reoxygenation injury of ischemic cerebral endothelial cells. *Brain Research*, 786(1-2) : 89-95.

- Belcher J.D., Marker P.H., Weber J.P., Hebbel R.P. & Vercellotti G.M. (2000). Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vaso-occlusion. *Blood*, 96(7) : 2451–2459.
- Benzie I.F.F & Strain J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 209 : 70-76.
- Benzie I.F.F. & Strain J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 209 : 70-76.
- Bernard J., Lévy J.P., Varet B., Clauvet J.P., Rain J.D. & Sultan Y. (1996). Abrégés d'hématologie. In : le globule rouge et pathologie. 8^{ème} Edition Masson, Paris, 68-74.
- Bernaudin F., Verlhac S., Chevret S., Torres M., Arnaud C., Kamdem A., Grazia N.M. & Delacourt C. (2010). Long-term results of related, myeloablative stem cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*, 110(7) : 2749-2756.
- Beyeme-Owono M. & Chiabi A. (2004). Physiopathologie et clinique de la drépanocytose chez l'enfant. *Clinics in Mother and Child Health*, 1: 1-6.
- Bhagat S., Patra P.K., & Thakur A.S. (2012). Association of Inflammatory Biomarker C-Reactive Protein, Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity Marker with HbF Level in Sickle Cell Disease Patients from Chattisgarh. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 27(4) : 394-399.
- Blockmans D., Deckmyn H. & Vermynen J. (1995). Platelet activation. *Blood Reviews*, 9(3) : 143-156.
- Bolanos-Meade J. & Brodsky R.A. (2009). Blood and marrow transplantation for sickle cell disease: overcoming barriers to success. *Current opinion oncology*, 21 : 158-161.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. *Biochimie Pathologique : Aspects Moléculaires et Cellulaires*, 549 p
- Bossopki I.P.L. (2003). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae). These de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako (Bamako, Mali), 127 p.
- Boudiaf K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Magistère thesis, Biology Department, Université Ferhat Abbas (Sétif, Algeria), 57 p.

- Bougandoura N. & Bendimerad N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briquet *Nature & Technologie*, 9 : 14-19.
- Brandão M.M., Fontes A., Barjas-Castro M.L., Barbosa L. C., Costa F.F., Cesar C.L. & Saad, S.T.O. (2003). Optical tweezers for measuring red blood cell elasticity: application to the study of drug response in sickle cell disease. *European Journal of Haematology*, 70(4) : 207–211.
- Brittain, J. E., & Parise, L. V. (2008). The alpha4beta1 integrin in sickle cell disease. *Transfusion Clinique et Biologique : Journal de La Société Française de Transfusion Sanguine*, 15(1-2), 19-22.
- Brody. T. (1994). *Nutritional Biochemistry*. San Diego. CA: Academic Press.
- Brot N., & Weissbach H. (2000). Peptide methionine sulfoxide reductase: biochemistry and physiological role. *Biopolymers*, 55(4) : 288-296.
- Brugnara C. & Tosteson D.C. (1987). Inhibition of K transport by divalent cations in sickle erythrocytes. *Blood*, 70(6) : 1810-1815.
- Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. technique & documentation et médicales internationales*, 3^{ème} édition. Paris (France), 1120 p.
- Bukhari (2013). The central analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *carthamus oxycantha*. *Journal of Physiologyand*, 64(3) : 369-375
- Burkill, H.M. (1995). *The Useful Plants of West Tropical Africa*, 1ère édition, *Kew, Royal Botanic Gardens*, Kew, (Royaume-Uni), 857 p.
- Burrows C.J. & Muller J.G. (1998). Oxidative Nucleobase Modifications Leading to Strand Scission. *Chemical Reviews*, 98(3) : 1109-1152.
- Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., Pouget J. P., Ravanat J. L. & Sauvaigo S. (1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutation Research*, 424(1-2) : 9-21.
- Callahan M.K., Williamson P. & Schlegel R.A. (2000). Surface expression of phosphatidylserine on macrophages is required for phagocytosis of apoptotic thymocytes. *Cell Death and Differentiation*, 7(7) : 645-653.
- Campanella M.E., Chu H., Wandersee N.J., Peters L.L., Mohandas N., Gilligan D.M. & Low P.S. (2000). Characterization of glycolytic enzyme interactions with murine erythrocyte membranes in wild-type and membrane protein knockout mice. *Blood*, 112(9) : 3900-3906.

- Carboni C. (2014). La drépanocytose au Sénégal : un exemple de médecine traditionnelle. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier, Faculté de Pharmacie de Grenoble (Grenoble, France), 185 p.
- Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.-C., Pénicaud L., & Casteilla L. (2006). [Physiological and physiopathological consequences of mitochondrial reactive oxygen species]. *Médecine Sciences: M/S*, 22(1) : 47–53.
- Castro O., Brambilla D.J., Thorington B., Reindorf C.A., Scott R.B., Gillette P. & Levy P.S. (1994). The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood*, 84(2) : 643-649.
- Chaar V., Picot J., Renaud O., Bartolucci P., Nzouakou R., Bachir D. & El Nemer W. (2010). Aggregation of mononuclear and red blood cells through an $\alpha_4\beta_1$ -Lu/basal cell adhesion molecule interaction in sickle cell disease. *Haematologica*, 95(11) : 1841-1848.
- Champion H.C., Bivalacqua T.J., Takimoto E., Kass D.A. & Burnett A.L. (2005). Phosphodiesterase-5A dysregulation in penile erectile tissue is a mechanism of priapism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5) : 1661-1666.
- Chang J., Shi P.A., Chiang E. Y. & Frenette P.S. (2008). Intravenous immunoglobulins reverse acute vaso-occlusive crises in sickle cell mice through rapid inhibition of neutrophil adhesion. *Blood*, 111(2) : 915-923.
- Charache S., Terrin M.L, Moore R.D., Dover G.J., Barton F.B. Eckert S.V., McMahon R.P. & Bonds D.R. (1995). Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crisis in sickle cell anemia. Investigators of the multicenter study of hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *New England Journal of Medicine*, 332(20) :1317-1322.
- Chiang E.Y. & Frenette P.S. (2005). Sickle cell vaso-occlusion. *Hematology/oncology Clinics of North America*, 19(5) : 771-784.
- Chiang E.Y., Hidalgo A., Chang J., & Frenette P.S. (2007). Imaging receptor microdomains on leukocyte subsets in live mice. *Nature Methods*, 4(3) : 219-222.
- Chies J.A. & Nardi N.B. (2001). Sickle cell disease: a chronic inflammatory condition. *Medical Hypotheses*, 57(1) : 46-50.
- Chiu D., Lubin B., Roelofsen B. & Deenen L.L. (1981). Sickled erythrocytes accelerate clotting *in vitro*: an effect of abnormal membrane lipid asymmetry. *Blood*, 58(2) : 398-401.

- Cho C.S., Kato G.J., Yang S.H., Bae S.W., Lee J.S., Gladwin M.T. & Rhee S.G. (2010). Hydroxyurea-induced expression of glutathione peroxidase 1 in red blood cells of individuals with sickle cell anemia. *Antioxidants & Redox Signaling*, 13(1) : 1-11.
- Connes P. (2011). Altered autonomic nervous system function in sickle cell disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 184(4) : 398-400.
- Connes P., Lamarre Y., Waltz X., Ballas S. K., Lemonne N., Etienne-Julan M. & Romana M. (2014). Haemolysis and abnormal haemorheology in sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology*, 165(4) : 564-572.
- Connie C.W & Hsia, M.D (1998). Respiratory Function of Hemoglobin. *The New England Journal of Medicine*, 338(4) : 239-247.
- Conran N. & Belcher J.D. (2018). Inflammation in sickle cell disease. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 68(2-3) : 263-299.
- Croizat H. (1994). Circulating cytokines in sickle cell patients during steady state. *British Journal of Haematology*, 87(3) : 592-597.
- Dappah K. D., N'Dri Y.D. & Kouassi K. N. (2018). Evaluation of nutritive value of two traditional African vegetables (*Corchorus oleratus* and *Hibiscus sabdariffa*) commonly consumed in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 23(4) : 1-8.
- Das S.K. & Nair R.C. (1980). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *British Journal of Haematology*, 44(1) : 87-92.
- Dasgupta T., Hebbel R.P. & Kaul D.K. (2006). Protective effect of arginine on oxidative stress in transgenic sickle mouse models. *Free Radical Biology & Medicine*, 41(12) : 1771-1780.
- De Franceschi L., Fumagalli L., Olivieri O., Corrocher R., Lowell C.A. & Berton G. (1997). Deficiency of Src family kinases Fgr and Hck results in activation of erythrocyte K/Cl cotransport. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(2) : 220-227.
- Deghal L. & Derradji S. (2018). Étude de l'effet antioxydant des polyphénols extraits de la tomate commerciale. Mémoire de Master en Agronomie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem (Algérie), 66 p.
- Delattre J., Beaudoux J., Bonnefont-Rousselot D. (eds), Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Cachan, France: *Éditions Médicales internationales*, pp. 114–167.

- Deshpande S.S. & Damodaran S. (1990). Food legumes: chemistry and technology. In *Advances in Cereal Sci. and Technology* (Vol. X) (Y. Pomeranz, ed.). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc. pp, 147-241.
- Dieng S.I.M., Fall A.D., Diatta-Badji K., Sarr A., Sene M., Sene M., Mbaye A., Diatta W. & Bassene E. (2017). Evaluation of the antioxidant activity of hydro-ethanolic extracts of *Piliostigma thonningii* Schumach leaves and barks. *International Formulae Group*, 11(2) : 768-776.
- Diomandé A., Yao K., Sylla Y., Tra B.F.H., Bakayoko A. & Kone M.W. (2018). Pouvoir antioxydant et teneurs en composés phénoliques de deux espèces du genre *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman et *Albertisia scandens* (Mangenot & J. Miège) Forman (Menispermaceae). *European Scientific Journal*, 14(30) : 128-145.
- Djukic-Cosic D., Ninkovic M., Malicevic Z., Matovic V. & Soldatovic D. (2007). Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnesium research*, 20(3) : 177-186.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi H., Badoc A. & Gmira N. (2003). Phytochemical screening of an endemic Iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin de la Société Pharmaceutique de Bordeaux*, 29 : 233-239.
- Douamba S., Nagalo K., Tamini L., Traoré I., Kam M. & Yé D. (2017). Syndromes drépanocytaires majeurs et infections associées chez l'enfant au Burkina Faso. *The Pan African Medical Journal*, 26-30.
- Dröge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1) : 47-95.
- Dubois B. (2015). Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Médecine-Pharmacie, Université Claude-Bernard Lyon I (Lyon, France), 188 p.
- Durpès M.C., Nebor D., du Mesnil P.C., Mougénel D., Decastel M., Elion J. & HardyDessources M.D. (2010). Effect of interleukin-8 and rantes on the Gardos channel activity in sickle human red blood cells: role of the Duffy antigen receptor for chemokines. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 44(4) : 219-223.

-
- Eaton W. & Bunn H. (2017). Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood*, 129 : 2719-2726.
- Effo K., Adehouni Y., Odo A., Kone Y., Akre L., Adiko M., Kouakou S., Djadji A., Irié-N'guessan A.G. & Kouakou-Siransy N. (2021). Antioxidant activity of a dry extract of the juice and an aqueous extract of the epicarp of the fruit of *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) and total polyphenol content. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 20(1) : 32-37.
- Eldor A. (1978). Abnormal platelet functions in beta thalassaemia. *Scandinavian Journal of Haematology*, 20(5) : 447- 452.
- Elekwa I., Monanu O.M. & Anosike O.E. (2005). Effects of aqueous extracts of *Zanthoxylum macrophylla* roots on membrane stability of human erythrocytes of different genotypes. Nigerian Society for experimental biology. *Biokemistry*, 17(1) : 7-12.
- Elekwa I., Monanu O.M., Anosike O.E., (2005). Effects of aqueous extracts of *Zanthoxylum macrophylla* roots on membrane stability of human érythrocytes of different genotypes. *Nigerian Society for experimental biology. Biokemistri*, 17(1) : 7-12.
- Embury S.H. (1997). Drépanocytose et hémoglobinopathies associées. *Traité de médecine, Médecinescience*, Flammarion Paris, 882-893.
- Emmel V.E. (1917). Study of the érythrocytes in case of severe anemia with elongated and sickle shaped red blood corpuscles. *Archives of International Medicine*, 20 : 586-599.
- Esievo K.B., Anthony S.O., Fatokun O.T & Kunle O.F. (2018). *Ficus capensis* Thumb (Moraceae) : Review of its ethnomedicinal used, pharmacological activities and phytochemical constituents. *Archives of Current Research International*, 12(3) : 1-7.
- Evelyne A.T., Guy B.B., Fatimata N., Manon G., Esse L.W., Allison L., Henri M., Zanahi F. T., Michel F. & Marie-Laure F. (2020). Seasonal effect on the chemical composition, insecticidal properties and other biological activities of *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. *Essential Oils. Foods*, 9(5) : 2304-8158
- Evenamedé K.S., Kpegba K., Simalou O., Boyode P., Agbonon A. & Gbeassor M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(6) : 2924-2935.

- Fadlon E., Vordermeier S., Pearson T.C., Mire-Sluis A.R., Dumonde D.C., Phillips J. & Brown K.A. (1998). Blood polymorphonuclear leukocytes from the majority of sickle cell patients in the crisis phase of the disease show enhanced adhesion to vascular endothelium and increased expression of CD64. *Blood*, 91(1) : 266-274.
- Falck E., Rog T., Karttunen M. & Vattulainen I. (2007). Lateral diffusion in lipid membranes through collective flows. *Journal of the American chemical society*, 130(1) : 44-45.
- Fang F. C. (1997). Perspectives series: host/pathogen interactions. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(12) : 2818-2825.
- Fankam A.G., Kuete V., Voukeng I.K., Kuate J.R. & Pages J.M. (2011). Antibacterial activities of selected Cameroonian spices and their synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant phenotypes. *Biology Medicine Central Complementary and Alternative Medicine*, 104(11) : 1472-6882.
- Fanou B.A., Klotoe J.R., Dougnon V., Soha A., Yovo M. & Loko F. (2021). Etude comparative de la composition chimique, de l'activité antiradicalaire et de la toxicité de quatre plantes utilisées dans le traitement traditionnel des candidoses au Bénin. *Pharmacopée de la Médecine Traditionnel Africaine*, 20(2) : 54-64.
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture). (2002). Food energy-methods of analysis and conversion factors. *Food and Nutrition Paper*, 77: 93 p.
- Fathallah H., Coezy E., de Neef R. S., Hardy-Dessources M. D. & Giraud F. (1995). Inhibition of deoxygenation-induced membrane protein dephosphorylation and cell dehydration by phorbol esters and okadaic acid in sickle cells. *Blood*, 86(5) : 1999-2007.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et du potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Fern, K. (2014). Useful Tropical Plants Database. Available at <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Newbouldia+laevis> consulté le 26 Avril 2024.
- Finkel T. (2000). Redox-dependent signal transduction. *FEBS Letters*, 476(1-2) : 52-54.
- Flood A.U., Peters N., Chatterjee J.J., Lacey C. & Schatzkin A.S. (2005). Calcium from Diet and supplements is associated with reduced risk of colorectal cancer in a prospective cohort of women. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 14(1) : 126-132.

- Francis R.B. & Haywood L.J. (1992). Elevated immunoreactive tumor necrosis factor and interleukin-1 in sickle cell disease. *Journal of the National Medical Association*, 84(7) : 611-615.
- Gbolo B.Z., Asambo L.S., Bongo G.N., Tshibangu D.S.T., Kasali F.M., Memvanga, P.B., Ngbolua, K.N., Mpiana, P.T. (2017). Bioactivity and Chemical Analysis of Drepanoalpha® hard capsules: An Anti-Sickle Cell Anemia Poly-Herbal Formula from Congo-Kinshasa. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 5 : 1-7.
- Gizi A., Papassotiriou I., Apostolou F., Lazaropoulou C., Papastamataki M., Kanavaki I. & Kanavakis E. (2011). Assessment of oxidative stress in patients with sickle cell disease: The glutathione system and the oxidant-antioxidant status. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 46(3) : 220-225.
- Graido-Gonzalez E., Doherty J.C., Bergreen E.W., Organ G., Telfer M. & McMillen M.A. (1998). Plasma endothelin-1, cytokine, and prostaglandin E2 levels in sickle cell disease and acute vaso-occlusive sickle crisis. *Blood*, 92(7) : 2551-2555.
- Guil J.L., Martinez J.J.G. & Isasa M. E. (1998). Mineral nutrient composition of edible wild plants. *Journal Food Composition and Analysis*, 11 : 322-328.
- Guzik T. J., Korb R., & Adamek-Guzik T. (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology : An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 54(4) : 469-487.
- Habibi A., Arlet J.-B., Stankovic K., Gellen-Dautremer J., Ribeil J.-A., Bartolucci P. & Lionnet F. (2015). Recommandations françaises de prise en charge de la drépanocytose de l'adulte : actualisation 2015. *La Revue de Médecine Interne*, 36(5) : 553-584.
- Habibi A., Bachir D. & Godeau B. (2004). Complications aiguës de la drépanocytose. *La Revue du Practicien*, 54 : 1548-1556.
- Haddouchi F., Chaouche T.M & Halla N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes subsahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*.16 : S254- S262.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C. & Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale*, 62(10) : 628-638.
- Halliwell B. & Gutteridge J.M. (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet*, 1(8391) :1396-1397.

- Hamasaki N. (2006). [Band 3 protein as a metabolic sensor-CO₂ regulates the amount of oxygen delivered to tissues from red blood cells]. *Rinsho Byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology*, 54(3) : 263-269.
- Hebbel R.P. & Miller, W. J. (1984). Phagocytosis of sickle erythrocytes: immunologic and oxidative determinants of hemolytic anemia. *Blood*, 64(3) : 733-41.
- Hebbel R.P., Morgan W.T., Eaton J.W. & Hedlund B.E. (1988). Accelerated autoxidation and heme loss due to instability of sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(1) : 237-241.
- Hebbel R.P., Visser M.R., Goodman J.L., Jacob H.S. & Vercellotti G.M. (1987). Potentiated adherence of sickle erythrocytes to endothelium infected by virus. *The Journal of Clinical Investigation*, 80(5) : 1503-1506.
- Hierso R. (2015). Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drépanocytose : crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge. Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie, Université des Antilles et de la Guyane, Faculté de Sciences exactes et naturelles (Pointe-à-Pitre, France), 185 p.
- Hofstra T.C., Kalra V.K., Meiselman H.J. & Coates T.D. (1996). Sickle erythrocytes adhere to polymorphonuclear neutrophils and activate the neutrophil respiratory burst. *Blood*, 87(10) : 4440-4447.
- Hunter M.J. (1977). Human erythrocyte anion permeabilities measured under conditions of net charge transfer. *The Journal of Physiology*, 268(1) : 35-49.
- Huynh-Moynot S., Moynot J.C., Commanneur D., Danguy D.D.M., Montelescaut E., Kenane N & Drouillard. (2011). Drépanocytose : des aspects moléculaires à la pratique : à propos d'un cas et revue de la littérature. *Annales de Biologie Clinique*, 69(6) : 679-684.
- Ibrahim J., Ajaegbu V.C. & Egharevba H.O. (2010). Pharmacognostic and Phytochemical Analysis of *Commelina benghalensis* L. *Ethnobotanical Leaflets*, 14 : 610-615.
- Iuliano L., Colavita A. R., Leo R., Praticò D. & Violi F. (1997). Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radical Biology & Medicine*, 22(6) : 999-1006.
- Iwu M.M. (2000). Handbook of African Medicinal Plants. *CRC Press, Inc.* London p. 19.
- Iyanus E.W., Turner E.A. & Asakura T. (2002). *In vitro* effects of NIPRISAN (Nix-0699): a naturally occurring, potent antisickling agent. *British Journal of Haematology*, 118(1) : 337-343.

- Jandrot-Perrus M. & Nurden P. (2007). Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. *La revue de médecine interne*. Elsevier Masson, (France), 323 p.
- Jeney, V., Balla, J., Yachie, A., Varga, Z., Vercellotti, G. M., Eaton, J. W., & Balla, G. (2002). Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme. *Blood*, 100(3) : 879-887.
- Kadiri A. B., Olowokudejo J. D. & Travih V.A. (2012). An Ethnobotanical Survey of Herbal Markets and Medicinal Plants in Lagos State of Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets* 12 : 851-865.
- Kamara I., Packo S.C., Yao N. A., Comoé N., Gbadi D., Tadibé O.D., Bognini S., Kouassi G.K., Sanogo I. & Edoh V. (2017). Profil des infections urinaires bactériennes chez les drépanocytaires au service d'Hématologie du CHU de Treichville (Abidjan – Côte d'Ivoire). *Série D*, 3(2) : 41-44.
- Kambale J., Ngolua K., Mpiana P., Mudogo V., Tshibangu D., Wumba D., Mvumbi L., Kalala L., Mesia K & Ekutsu E. (2013). Evaluation *in vitro* de l'activité antifalcémiant et effet antioxydant des extraits d'*Uapaca heudelotii* Baill. (Euphorbiaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(2) : 523-534.
- Kato, G.J., Gladwin M.T. & Steinberg M.H. (2007). Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Reviews*, 21(1) : 37-47.
- Kayanoki Y., Kawata S., Yamasaki E., Kiso S., Inoue S., Tamura S. & Matsuzawa Y. (1999). Reduced nitric oxide production by L-arginine deficiency in lysinuric protein intolerance exacerbates intravascular coagulation. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 48(9) : 1136-1140.
- Kengni F., Fodouop S.P.C., Tala S.D., Djimeli N.M., Fokunang C. & Gatsing D. (2016). Antityphoid properties and toxicity evaluation of *Harungana madagascariensis* Lam (Hypericaceae) aqueous leaf extract. *Journal of Ethnopharmacol*, 6(2) : 62-76.
- Khalili M., Ebrahimzadeh M.A. & Safdari Y. (2014). Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 65 : 399-406.
- Klings E.S. & Farber H.W. (2001). Role of free radicals in the pathogenesis of acute chest syndrome in sickle cell disease. *Respiratory Research*, 2(5) : 280-285.

- Koffi K.G., Youbare B., Toure A.H., Nanho D.C., Sanogo I & Sangare A. (2002). Etude analytique des facteurs d'aggravation de l'anémie au cours de la drépanocytose SC. Expérience du service d'hématologie clinique CHU de yopougon. *Médecine d'Afrique Noire*, 49(7) : 317-320.
- Kolawole O.T. and Akanji M.A. (2013). Inhibitory effect of leaf extract of *Newbouldia laevis* on the metabolic activities of alpha-glucosidase and alpha-amylase. *Bangladesh Journal of pharmacology*, 8(4) : 371-377.
- Koua K.B.D., Irié-N'guessan A.G., Effe K.E., Kouakou S.L., Ayoman T.L.D., Tetchi A.F. & Yapi H.F. (2018). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Crinum scillifolium* Extracts in Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry and Biophysics* 6(4) : 77-82.
- Kouadria M. (2020). L'effet protecteur du zinc (Zn) et du magnésium (Mg) contre la toxicité subchronique au Cadmium (Cd) (Aspects Biochimiques et Neurocomportementaux) chez les rats Wistar. Thèse de Doctorat en Neurobiologie Animale, Faculté des Sciences Biologiques, Université Badji Mokhtar Annaba (Annaba, Algérie), 143 p.
- Kouakou K.J.S. (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'effet antifalcimiant des extraits acétate d'éthyle, butanolique, et extrait aqueux de graines de *Cajanus cajan* (Fabaceae), une plante de la pharmacopée traditionnelle Ivoirienne. Thèse de Doctorat en Pharmacie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Felix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), 140 p.
- Kouamé K.T., Siaka S., Kassi A.B.B. & Soro Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae). *International Journal Biological and Chemical Sciences*, 15(1) : 97-105.
- Koudougou J. (2004). Etude des propriétés antipyrétiques du phytomédicament antidrépanocytaire FACA et de ses composantes *Fagara xanthoxyloides* Lam (Rutaceae) et *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Ouagadougou. 77 p.
- Kplé T.K.M. (2023). Activité anti drépanocytaire, investigations phytochimique et toxicologique de la combinaison de quelques plantes médicinales utilisées en Côte d'Ivoire pour la prise en charge de la drépanocytose. Thèse de Doctorat en Pharmacologie des Substances Naturelles, Science du Vivant, Université Felix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), 221 p.

- Krief S. (2003). Plant secondary metabolites and animal behavior. Thèse de Doctorat en Ecologie et Chimie des Substances Naturelles, Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris, France), 345 p.
- Krinsky N.I. (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 7(6) : 617-635.
- Kugler M. (2020). Sickl cell disease: Causes, Effects and treatments. Accès internet : <https://www.verywellhealth.com/sickle-cell-anemia-2861015#symptoms>. Consulté le 25 Avril 2024
- Kunh V., Diederich L. & Suvorava T. (2017). Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Forum Review Article*, 26(13) : 16-17.
- Labie D. & Elion J. (2005). Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie*, 220-239.
- Labie D. (2010). The complex relations between haemoglobinopathies and malaria. *Médecine Sciences*, 26(8-9) : 685-687.
- Lamarre Y. (2013). L'implication de l'hémorhéologie dans la physiopathologie de la drépanocytose. Thèse de Doctorat en Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie, France, Université des Antilles et de la Guyane, Faculté de Sciences exactes et naturelles, 198 p.
- Lamine T., Assane D., Isabelle Z.C., François N.D., Ndiogou S., Djibril B., Aliou A. N., Idrissa B., Babacar N., Indou D.L., Assane S., Ibrahima D. & Ousmane N. (2017). Profils épidémiologiques, cliniques et hématologiques de la drépanocytose homozygote SS en phase inter critique chez l'enfant à Ziguinchor, Sénégal. *The Pan African Medical Journal*, 28(208) : 1-6.
- Lapoumériou C., Benkerrou M., Odièvre M. H., Ducrocq R., Brun M., & Elion, J. (2005). Decreased plasma endothelin-1 levels in children with sickle cell disease treated with hydroxyurea. *Haematologica*, 90(3) : 401-403.
- Lard L. R., Mul F.P., Haas M., Roos D. & Duits A.J. (1999). Neutrophil activation in sickle cell disease. *Journal of Leukocyte Biology*, 66(3) : 411-415.
- Lê Q.H. (2015). Rôle des lipides oxydés dans la régulation de l'activation plaquettaire par les lipoprotéines de haute densité (HDL) plasmatiques et implication dans le diabète de type 2.

- Thèse de Doctorat en Biochimie, Faculté des Sciences et Technologies, Université Claude Bernard Lyon 1 (Lyon, France), 217 p.
- Lenzi F. (2011). Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traineau en course de sprint. 25-56 pp
- Lesage N., Deneux Tharoux C., Saucedo M., Habibi A., Galacteros F., Girot R., Bouvier C.M. & Kayem G. (2015). Maternal mortality among women with sickle-cell disease in France, 1996-2009. *Obstetrical, Gynecology, Reproduction, Biology*, 194 : 183-188.
- Lewis W.H. & Manony P.F.E. (1977). Medical Botany: Plants Affecting Man's Health. John Wiley and Sons. New York, USA p. 240.
- Lippi G., Mercadanti M., Alberta C. & Franchini M. (2010). An unusual case of spurious, transfusion acquired haemoglobin S. *Blood Transfusion*, 8 : 199-202.
- Liu S.C., Derick L.H., Zhai S. & Palek J. (1991). Uncoupling of the spectrin-based skeleton from the lipid bilayer in sickled red cells. *Science*, 252(5005) : 574-576.
- Mabiala-Babela J.R., Nkanza-Kaluwako S.A.T., Ganga-Zandzou P.S., Nzingoula S. & Senga P. (2005). Causes d'hospitalisation des enfants drépanocytaires : influence de l'âge (C.H.U. de Brazzaville, Congo). *Bulletin Sociologie Pathologie Exotique*, 98 : 392-393.
- Makani J., Brousse V. & Rees D. (2014). Management of sickle cell disease in the community. *Journal of Pain and Symptom Management*, 1765 : 1-9.
- Manodori A.B., Barabino G.A., Lubin B.H. & Kuypers F.A. (2000). Adherence of phosphatidylserine-exposing erythrocytes to endothelial matrix thrombospondin. *Blood*, 95(4) : 1293-1300.
- Mansour S. (2015). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides*. Etude *in vivo*. Thèse de Doctorat en Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (Oran, Algérie) 155 p.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. & Kefalas P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89 : 411-420.
- Manzo M. (2012). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes antipaludiques utilisées en médecine traditionnelle congolaise. Thèse de Docteur en Sciences Biomédicales et

- Pharmaceutiques, Université de Liège, Université de Kinshasa (Liège, Belgique ; Kinshasa, Congo). 221 p.
- Marieb E.N. (1999). Anatomie et physiologie humaine. Edition du Renouveau Pédagogique Inc., Paris (France), 637-638.
- Mavian P.W. (2012). Activité antifalcémiant et screening phytochimique de la fraction éthérométhanolique de BEAT-SS. Thèse de Doctorat en Pharmacie ; Université de Kinshasa (Kinshasa, Congo), 188 p.
- Mellouli F. & Bejaoui M. (2008). The use of hydroxyurea in severe forms of sickle cell disease: study of 47 Tunisian paediatric cases. *Archive Pediatrics*, 15(1) : 24-8.
- Merghen R. (2009). Elément de biochimie végétale. Bahaeddine 1^{ère} édition. 153 p.
- Meziti A. (2009). Antioxidant activity of *Nigella sativa* L seed extracts: *In vitro* and *in vivo* study. Master's thesis in Biochemistry. Université El-Haj Lakhdar Batna. Department of Biological Sciences, 41-49.
- Misra H.P. & Fridovich I. (1972). The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*, 247(21) : 6960-6962.
- Mohamed A.O., Hashim M.S., Nilsson U.R. & Venge P. (1993). Increased *in vivo* activation of neutrophils and complement in sickle cell disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(6) : 799-803.
- Mozzarelli A., Hofrichter J. & Eaton W.A. (1987). Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling *in vivo*. *Science*, 237(4814) : 500-506.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Bokota M.T., Kasonga T.K., Atibu E.K., Tshibangu D.S. & Mudogo V. (2010). *In vitro* effects of anthocyanin extract from *Justicia secunda* Vahl on the solubility of haemoglobin S and membrane stability of sickle erythrocytes. *Blood Transfusion*, 8 : 248-254.
- Mpiana P.T., Dianzenza E., Ngbolua K., Tshibangu D., Mbala B., Mhigo S., Atibu E., Kakule M. & Bokota M. (2012). Antisickling properties, thermal and photochemical degradations of anthocyanin extracts from *Annona senegalensis* (Annonaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(5) : 2241-2251.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Mbala B.M., Kahumba B., Bokota M.T. & Makelele L.T. (2012). The Potential Effectiveness of Medicinal Plants used

- for the Treatment of Sickle Cell Disease in the Democratic Republic of Congo Folk Medicine: A Review. *Progress in Traditional and Folk Herbal Medicine*, 1 : 1-11.
- Mpiiana P.T., Misakabu F.M., Yuma P.M., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Mwanyishay C.L., Misengabu N.M., Gbolo Z.B. & Kayembe J.S. (2014). Antisickling activity and physico-chemical stability of anthocyanin extracts from *Ipomoea batatas* Leaves. *Journal of Life Medicine*, 2 (1) : 25-31.
- Mpiiana P.T., Kasali F.M., Bwirhonde F., Gbolo B.Z., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Memvanga P.B. & Kadima J.N. (2016). Acute and Sub-acute Oral Toxicity Study of Drepanoalpha® (A Poly-Herbal Formula Used in the Management of Sickle Cell Disease) in Guinea-pigs. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 10(5) : 1-8.
- Murayama M. (1966). Tertiary structure of sickle cell hemoglobin and its functional significance. *Journal of Cellular Physiology*, 67(3) : 21-32.
- Murugalakshmi M., Mari S.J., Vallimail M., Anitha P.R.J. & Thangapandian V. (2014). Preliminary phytochemical analysis of *Jatropha gossypifolia*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (7) : 1127-1135.
- N'draman-donou E., Fofié Y., Adjambri E., Mélédje M.F. & Sawadogo D. (2015). Caractérisation et évaluation *in vitro* de l'effet antifalcémiant des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) sur les drépanocytes à Abidjan - Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5) : 2300-2308.
- Nader E. (2021). Modulateurs de la rhéologie érythrocytaire et de l'éryptose dans la drépanocytose : pierre angulaire entre microparticules érythrocytaires et dysfonction vasculaire ? Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie, Biologie, Santé, Université Claude Bernard Lyon 1 (Lyon, France), 288 p.
- Nagababu E., Fabry M.E., Nagel R.L. & Rifkind J.M. (2008). Heme degradation and oxidative stress in murine models for hemoglobinopathies: thalassemia, sickle cell disease and hemoglobin C disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 41(1) : 60-66.
- Naumann H.N., Diggs L.W., Barreras L. & Williams B.J. (1971). Plasma hemoglobin and hemoglobin fractions in sickle cell crisis. *American Journal of Clinical Pathology*, 56(2) : 137-147.

- Neuzil J. & Stocker R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *Federation of European Biochemical Societies*, 331(3) : 281-284.
- Ngbolua K.N., Rafatro H., Rakotoarimanana H., Ratsimamanga Urverg S., Mudogo V., Mpiana P.T. & Tshibangu D.S.T. (2011). Pharmacological screening of some traditionally-used antimalarial plants from the Democratic Republic of Congo compared to its ecological taxonomic equivalence in Madagascar. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (5) : 1997-1804.
- Ngbolua K.N., Mudogo V., Mpiana P.T., Malekani M.J., Rafatro H., Urverg R.S., Takoy L., Rakotoarimana H. & Tshibangu D.S.T. (2013). Evaluation de l'activité anti-drépanocytaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la République démocratique du Congo et de Madagascar. *Ethnopharmacologia*, 50(1) : 7-12.
- Ngbolua K.N., Inkoto C.L., Mongo N.L., Ashande C.M., Masens Y.B. & Mpiana P.T. (2019). Étude ethnobotanique et floristique de quelques plantes médicinales commercialisées à Kinshasa, République Démocratique du Congo. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 7 (1) : 118-128.
- Ngo D.A., Aygun B., Akinsheye I., Hankins J.S., Bhan I., Luo H.Y. & Chui D.H.K. (2012). Fetal haemoglobin levels and haematological characteristics of compound heterozygotes for haemoglobin S and deletional hereditary persistence of fetal haemoglobin. *British Journal of Haematology*, 156(2) : 259-264.
- Nishino T., Nakanishi S., Okamoto K., Mizushima J., Hori H., Iwasaki T. & Nakazawa H. (1997). Conversion of xanthine dehydrogenase into oxidase and its role in reperfusion injury. *Biochemical Society Transactions*, 25(3) : 783-786.
- Nolan V.G., Adewoye A., Baldwin C., Wang L., Ma Q., Wyszynski D.F. & Steinberg M.H. (2006). Sickle cell leg ulcers: associations with haemolysis and SNPs in Klotho, TEK and genes of the TGF-beta/BMP pathway. *British Journal of Haematology*, 133(5) : 570-578.
- Nur E., Biemond B.J., Otten H.M., Brandjes D.P. & Schnog J.J.B. (2011). Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American Journal of Hematology*, 86(6) : 484-489.
- Nur E., Brandjes D.P., Teerlink T., Otten H.M., Oude E.R.P.J., Muskiet F. & Schnog J.J.B. (2012). N-acetylcysteine reduces oxidative stress in sickle cell patients. *Annals of Hematology*, 91(7) : 1097-1105.

- Nwidu L.L., Nwafor P.A., Da Silva V.C., Rodrigues C.M., Dos Santos L.C & Vilegas W. (2011). Effets anti-nociceptifs de *Carpolobia lutea* G. Don (Polygalaceae) fractions foliaires dans des modèles animaux. *Inflammopharmacology*, 19(4) : 215-25.
- Obiri D.D., Newman O., Patrick G.A. & Aaron O.A. (2014). *Xylopi*a *aethi*opica (Annonaceae) fruit extract suppresses Freund's adjuvant-induced arthritis in Sprague-Dawley rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 152 : 522-531.
- Odièvre M.H., Lapoumérولية C. & Elion J. (2009). Effect of hydroxyurea on adhesion proteins in sickle cell anemia. *Archives de Pédiatrie : Organe Officiel de La Société Française de Pédiatrie*, 16(2) : 95-98.
- Okou O.C. & Yapo S.E.S. (2018). Activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum*: Extraits de feuilles de *Solanum torvum* (Solanaceae) sur la croissance *in vitro* de 3 souches d'entérobactéries. Editions universitaires européennes, Berlin (Allemagne), pp. 1-43.
- Okou O.C. (2012). Efficacité et spectre d'activité des extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc. Ex Schult + Scult.f. (Rubiaceae) et de l'acide fusidique sur les bactéries Cocci Gram-positives. Thèse de doctorat en Biochimie-Pharmacologie, Université Félix Houphouët-Boigny, (Abidjan, Côte d'Ivoire), 229 p.
- OMS (2010). Drépanocytose : Une stratégie pour la région Africaine de l'OMS. Rapport du Directeur Régional, Malabo (Guinée équatoriale), 9 p.
- OMS (2012). Drépanocytose : une stratégie pour la Région africaine de l'OMS : rapport du Directeur régional, Malabo (Guinée équatoriale), 8 p.
- Ono T., Tsuruta R., Fujita M., Aki H.S., Kutsuna S., Kawamura Y. & Maekawa T. (2009). Xanthine oxidase is one of the major sources of superoxide anion radicals in blood after reperfusion in rats with forebrain ischemia/reperfusion. *Brain Research*, 1305 : 158-167.
- Osarogiagbon U.R., Choong S., Belcher J.D., Vercellotti G.M., Paller M.S. & Hebbel R.P. (2000). Reperfusion injury pathophysiology in sickle transgenic mice. *Blood*, 96(1) : 314-320.
- Ouattara A. (1991). Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. et *Calotropis procera* et d'un médicament usuel

- de référence: la dihydroergotoxine au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo. Thèse de Doctorat en Médecine ; Université de Ouagadougou ; 150 : 197 p.
- Özcan M. (2004). Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry* 84 : 437-440.
- Parpart A.K., Lorenz P.B., Parpart E.R., Gregg J.R. & Chase A.M. (1947). The osmotic resistance (fragility) of human red cells. *Journal of Clinical. Investigation*, 26 : 636-638.
- Pernow J. & Jung C. (2013). Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovascular Research*, 98(3) : 334-343.
- Philippidis P., Mason J.C., Evans B.J., Nadra I., Taylor K.M., Haskard D.O. & Landis R.C. (2004). Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses *in vitro*, in resolving skin blisters *in vivo*, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation Research*, 94(1) : 119-126.
- Piba S.C., Konan P.A.K., Kone L.N., Kouame A.G., Kouakou R.K.D. & Tra H.F.B. (2021). Phytochemistry, antioxidant activity and acute toxicity of medicinal plants used against stroke sequelae in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 15(2) : 652-663.
- Picaud C. (2017). Oligo-éléments : Excès, carences et conseil officinal. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Université de Limoges (Limoge, France), 145 p.
- Piel F.B., Patil A.P., Howes R.E., Nyangiri O.A., Gething P.W., Williams T.N. & Hay S.I. (2010). Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nature Communications*, 1(8) : 104-111.
- Piel F.B. (2013). Distribution géographique de la drépanocytose en (2010). University of Oxford, Tinbergen building, Department of Zoology, South Parks Road, OX1 3PS, Oxford, Royaume-Uni, 29(11) : 965-967.
- Piel F.B. (2017). Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*, 376(16) : 1561-1573.
- Pinta M. (1973). Méthodes de références pour détermination des éléments dans les végétaux : détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par Absorption atomique. *Oléagineuse*, 28(2) : 87-92.

- Platt O.S., Brambilla D.J., Rosse W.F., Milner P.F., Castro O., Steinberg M.H. & Klug P.P. (1994). Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *The New England Journal of Medicine*, 330(23) : 1639-1644.
- Pooja A & Devang J.P. (2019). A Complete Review on Medicinally Active Herbal Weed: *Commelina benghalensis* L. (Commelinaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 11(4) : 1165-1171.
- Radomski M.W. & Moncada S. (1993). Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. *Thrombosis and Haemostasis*, 70(1) : 36-41.
- Ramdé-Tiendrébéogo A., Belemnaba L., Ouattara N., Ouédraogo N. & Guissou I.P. (2018). Propriétés anti hémolytique et anti peroxydation lipidique des extraits totaux de feuilles de *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de la drépanocytose. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle africaine*, 19(1) : 1-9.
- Ramde-Tiendrebeogo A., Koala M., Ouedraogo G., Ouedraogo N., Kini B.F., Chalard P. & Guissou I.P. (2019). Utilisation des feuilles de *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) dans la prévention de l'hypercoagulation chez les drépanocytaires : identification de composés phénoliques potentiellement anticoagulant et antiagrégant plaquettaire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2) : 824-835.
- Redding-Lallinger R. & Knoll C. (2006). "Sickle cell disease--pathophysiology and Treatment. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 36(10) : 346-376.
- Reiter C.D., Wang X., Tanus-Santos J.E., Hogg N., Cannon R.O., Schechter A.N. & Gladwin M.T. (2002). Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nature Medicine*, 8(12) : 1383-1389.
- Repka T. & Hebbel R.P. (1991). Hydroxyl radical formation by sickle erythrocyte membranes: role of pathologic iron deposits and cytoplasmic reducing agents. *Blood*, 78(10) : 2753-2758.
- Richard V., Dodson G.G. & Mauguén Y. (1993). Human deoxyhaemoglobin-2,3-diphosphoglycerate complex low-salt structure at 2.5 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 233(2) : 270-274.
- Riddington C. & Wang W. (2002). Blood transfusion for preventing stroke in people with sickle cell disease. *Cochrane Database of Systematic Review*, (1) : CD003146.

- Rifkind J. M. & Nagababu E. (2013). Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(17) : 2274-2283.
- Roberts I. & De Montalembert M. (2007). Sick cell disease as a paradigm of immigration hematology: new challenges for hematologists in Europe. *Haematologica*, 92(7) : 865-871.
- Sabaa N., de Franceschi L., Bonnin P., Castier Y., Malpeli G., Debbabi H. & Tharaux P.L. (2008). Endothelin receptor antagonism prevents hypoxia-induced mortality and morbidity in a mouse model of sickle-cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(5) : 1924-1933.
- Saddik H. (2021). La densité minérale osseuse chez les sujets âgés ayant un faible indice de masse musculaire squelettique : Relations avec les caractéristiques anthropométriques et les indices de force musculaire. Thèse de Doctorat en Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives, Ecole Doctorale Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant, Université d'Orléans (Orléans, France), 229 p.
- Sangare A., Koffi K.G., Allangba O., Tolo A., Coulibaly F.H., N'Dhartz, Sanogo I. & Toure A.H. (1998). Etude comparative du Ketoprofène et de la Buprenorphine dans le traitement des crises douloureuses drépanocytaires. *Medecine d'Afrique Noire*, 4 : 138-143.
- Sangronis E. & Machado C.J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT*, 40 : 116-120.
- Schacter L., Warth J.A., Gordon E.M., Prasad A. & Klein B.L. (1988). Altered amount and activity of superoxide dismutase in sickle cell anemia. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2(3) : 237-243.
- Schaer C.A., Vallelian F., Imhof A., Schoedon G. & Schaer D.J. (2007). CD163-expressing monocytes constitute an endotoxin-sensitive Hb clearance compartment within the vascular system. *Journal of Leukocyte Biology*, 82(1) : 106-110.
- Schaffler A. & Mence N. (2004). Anatomie Physiologie Biologie, 2^{ème} édition, Maloine, Paris, 239 p.
- Schlüter K. & Drenckhahn D. (1986). Co-clustering of denatured hemoglobin with band 3: its role in binding of autoantibodies against band 3 to abnormal and aged erythrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(16) : 6137-6141.

- Sebastiani P., Wang L., Nolan V.G., Melista E., Ma Q., Baldwin C. T. & Steinberg M.H. (2008). Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: Bayesian modeling of genetic associations. *American Journal of Hematology*, 83(3) : 189-195.
- Seck N., Bop K., Mbacke O., Diagne I., Thiam L., Ndongo A.A., Keïta Y., Basse I., Boiro D. & Sow A. (2021). Les Syndromes Drépanocytaires Majeurs Chez L'enfant et L'adolescent : Étude de la Cohorte du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis (Sénégal). *European Scientific Journal*, ESJ, 17(34) : 70-85.
- Setty B.N.Y. & Betal S.G. (2008). Microvascular endothelial cells express a phosphatidylserine receptor: a functionally active receptor for phosphatidylserine-positive erythrocytes. *Blood*, 111(2) : 905-914.
- Setty B.N.Y., Kulkarni S. & Stuart M.J. (2002). Role of erythrocyte phosphatidylserine in sickle red cell-endothelial adhesion. *Blood*, 99(5) :1564-1571.
- Seyoum A., Asres K. & El Fiky F.K. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67 : 2058-2070.
- Shao J., Miyata T., Yamada K., Hanafusa N., Wada T., Gordon K.L. & Nangaku M. (2001). Protective role of nitric oxide in a model of thrombotic microangiopathy in rats. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(10) : 2088-2097.
- Sibri J.F., Akue J.A., Ackah J.A.A.B., Soro M., Yayé G.Y. & Kple T.K.M. (2021). Assessment of sickling inhibitory activity of *Ficus carpensis*, *Newbouldia laevis*, *Carpolobia lutea* and *Carpolobia caudata* on human erythrocytes HbSS. *The Journal of Phytopharmacology*, 10(1) : 15-18.
- Sibri J.F., Akue J.A., Okou O.C. & Kple T.K.M. (2023). Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and hydro-ethanolic extracts of *Ficus carpensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*. *Asian Journal of Research in Biochemistry*, 13(4) : 9-15.
- Sibri J.F., Akue J.A., Vanié S.C., Kple T.K.M., Soro M. & Okou O.C. (2023). Phytochemical evaluation and determination of the content of some natural antioxidants (polyphenols and flavonoids) from *Ficus carpensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*. *Asian Journal of Biology*, 19(4) : 29-37.
- Siegmund E.A., Cadmus R.A. & Lu G. (1957). Screening of analgesics including aspirin type compound based upon the antagonism of chemically induced writhing in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 119 : 184-186.

- Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxydant substrates and antioxydants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 : 152-178.
- Sombie P.A.E.D., Hilou A., Coulibaly A.Y., Tibiri A., Kiendrebeogo M. & Nacoulma O.G. (2011). Brain protective and erythrocytes hemolysis inhibition potentials from galls of *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6(4) : 361-370.
- Studt J.D., Kremer H.J. A., Antoine G.H.M., Rieger M., Scheiflinger F. & Lämmle B. (2005). Fatal congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with apparent ADAMTS13 inhibitor: *in vitro* inhibition of ADAMTS13 activity by hemoglobin. *Blood*, 105(2) : 542-544.
- Taylor M. D. (2003). Nerve impulse conduction and electrical conduction. *Rothwell Press: London*, 245 p.
- Tchiégang C. & Mbougoung D. (2005). Composition chimique des épices utilisées dans la préparation du na'a poh et du kui de l'Ouest Cameroun. *Tropicultura*, 23(4) : 193-200.
- Thephinlap C., Kanjana P., Maitree S. & Somdet S. (2013). Anti-oxidant properties and antihemolytic activity of *Psidium guajava*, *Pandanous odoros* and *Rhinacanthus nasutus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(27) : 2001-2009.
- Théron, P., Denis, B. (2005). Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote: effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides.
- Tripette J., Alexy T., H-D., Mouguel D., Beltan E., Chalabi T. & Connes P. (2009). Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica*, 94(8) : 1060-1065.
- Turrens J.F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2) : 335-344.
- Uwakwe A.A. & Nwaoguikpe R.N. (2008). In vitro anti-sickling effects of *Xylopiya aethiopia* and *Monodora myristica*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2:119-124.
- Vivek S. & Garg A.N. (2006). Availability of essential trace elements in Indian cereals, vegetables and spices using INAA and the contribution of spices to daily dietary intake. *Food Chemistry* 94 : 81-89.

- Wagner H. & Bladt S. (2001). *Plant Drug Analysis : A thin Layer Chromatography Atlas* (2nd ed.). Springer, Berlin, 368 p.
- Wajcman H. (2004). Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. *Revue du Praticien*, 54 :1543-1547.
- Wambebe C., Khamofu H. & Momo H. (2001). Doubleblind, placebo-controlled, randomized crossover clinical trial of NIPRISAN in patients with sickle cell disorder. *Phytomedicine*, 8(4) : 252-261.
- Weatherall D.J. & Clegg J.B. (2001). Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bulletin of the WHO*, 79(8) : 704-712.
- Wembonyama S.O. (2021). *Moringa oleifera*, une aubaine dans la prise en charge du syndrome drépanocytaire majeur ? *Journal of Medicine, Public Health and Policy Research* 1(1) : 31-35.
- Wolf J.P. (1968). *Manuel d'analyse des corps gras ; Azoulayéd. Paris (France)*, 519 p.
- Wong S., Leong L. & Williamkoh J. (2006). Activités antioxydantes d'extraits aqueux de plantes sélectionnées. *Chimie Alimentaire*, 99(4) : 775-783.
- Wood K., Russell J., Hebbel R.P. & Granger D.N. (2004). Differential expression of E- and Pselectin in the microvasculature of sickle cell transgenic mice. *Microcirculation*, 11(4) : 377-385.
- Wood K.C. & Granger D.N. (2007). Sickle cell disease: role of reactive oxygen and nitrogen metabolites. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 34(9) : 926-932.
- Wun T., Paglieroni T., Field C. L., Welborn J., Cheung A., Walker N.J. & Tablin F. (1999). Plateleterythrocyte adhesion in sickle cell disease. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research*, 47(3) : 121-127.
- Yezza S & Bouchama S (2014). *Index des métabolites secondaires des végétaux. Licence des Sciences de la Nature et de la Vie, Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée*, 73 p.
- Yousseu N.W., Ateufack G., Abdul J.S., Fazli W., Mbiantcha M., Muhammad A. Y., Syed L.S., Kashif B., Wasim S., Jules-Roger K., Kamanyi A. & Taous K. (2019). Curative effects of *Distemonanthus benthamianus* Baillon. Trunk-bark extracts on enteropathogenic *Escherichia coli* 31-induced diarrhea in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 16(4) : 7 p.

- Yves-Alain B., Janat A., Mamyrbekova B., Boua B., Fézan H.T. & Ehouan E. (2007). Ethnobotanical study and phytochemical screening of *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature*, 4(2) : 217-225.
- Zachowski A., Favre E., Cribier S., Hervé P. & Devaux P.F. (1986). Outside-inside translocation of aminophospholipids in the human erythrocyte membrane is mediated by a specific enzyme. *Biochemistry*, 25(9) : 2585-2590.
- Zandecki M. (2006). Hématologie biologique Faculté de Médecine CHU 49000 Angers France, 4-8.
- Zelko I.N., Mariani T.J., & Folz R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3) : 337-349.
- Zhou Z., Han H., Cruz M.A., López J.A., Dong J.F. & Guchhait P. (2009). Haemoglobin blocks von Willebrand factor proteolysis by ADAMTS-13: a mechanism associated with sickle cell disease. *Thrombosis and Haemostasis*, 101(6) : 1070-1077.
- Zirihi G., Kra A.K.M. & Guédé-Guina F. (2003). Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kantze (Astéracée) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine*, 17 : 11-18.
- Zondegoumba E.N.T., Dibahteu W.L., de Araujo A., Vidari G., Liu Y., Luo S., Li S., Junior F.J.B.M., Scotti L. & Tullius M. (2019). Cytotoxic and Schistosomidal activities of extract, fractions and isolated compounds from *Zanthoxylum leprieurii* (Rutaceae). *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 44 : 209-222.
- Zwaal R.F.A., Comfurius P. & Bevers E.M. (2005). Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(9) : 971-988.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'enquête : identification de plantes médicinales pour traitement d'une pathologie

▪Date de recensement N° de fiche.....

▪Nom et adresse de l'enquêteur :

▪Lieu :

Tradipraticien (ne) de santé

▪Nom et prénoms :

▪Nationalité : Ethnie :

▪Age : Année d'expérience : ▪Sexe :
Masculin Féminin

▪Contact :

▪Niveau académique : Néant Primaire Secondaire Universitaire

Matériel végétal :

Maladie (s) ou symptômes fréquemment traité (s) ? Oui Non

Si oui lesquelles ?

Avez-vous des plantes pour soigner les symptômes de la drépanocytose ? Oui Non

Si oui lesquelles, quel est la plante principale utilisée :

A

▪ Nom vernaculaire : Nom scientifique :

▪ Type de plante : Sauvage Cultivée Adventice

▪ Plante seule Association possible (de plantes)

▪ Partie utilisée : Tige Fleurs Fruits Graine Écorce Racine Rhizome Bulbe Feuilles
 Plante entière Autres combinaisons :

▪ État de la plante : Fraîche séché

Age de la plante :

▪ Moment de la récolte (saison)

▪ Méthode de séchage : Quantité prise :

Rapport plante liquide :

Parole ou incantation avant récolte oui non

B

▪ Nom vernaculaire : Nom scientifique :

▪ Type de plante : Sauvage Cultivée Adventice

▪ Plante seule Association possible (de plantes)

▪ Partie utilisée : Tige Fleurs Fruits Graine Écorce Racine Rhizome Bulbe Feuilles Plante entière Autres combinaisons :

▪ État de la plante : Fraîche séché Age de la plante

▪ Moment de la récolte (saison)

▪ Méthode de séchage : Quantité prise :

Rapport plante liquide

Parole ou incantation avant récolte oui non

C

▪ Nom vernaculaire : Nom scientifique :

▪ Type de plante : Sauvage Cultivée Adventice

▪ Plante seule Association possible (de plantes)

▪ Partie utilisée : Tige Fleurs Fruits Graine Écorce Racine Rhizome Bulbe Feuilles Plante entière Autres combinaisons :

▪ État de la plante : Fraîche séché

Age de la plante

▪ Moment de la récolte (saison)

▪ Méthode de séchage : Quantité prise :

Rapport plante liquide

Parole ou incantation avant récolte oui non

Ingrédients

Ingrédients 1 :Quantité.....

Ingrédients 2 : Quantité.....
Ingrédients 3 : Quantité.....

▪ **Mode de préparation :**

Infusion Décoction Macération Cataplasme Cru Cuit Autres
.....

▪ **Dose précise :**

Quantité en g / verre : Quantité en g/ litre : Autres

▪ **Mode d'administration :**

Oral Massage Rinçage Badigeonnage Autres :

▪ **Posologie :** nombre de prise par jour.

▪ **Durée du traitement :**

Un jour Une semaine Un mois Jusqu'à la guérison

▪ **Méthode de conservation :**

A l'abri de la lumière Exposé à la lumière Autres :

Autres maladies traitées par ce remède :

▪ **Effet secondaires :**

Pourquoi une association de plantes pour la confection des remèdes ?

..... Utilisation
autre que médicale de la plante oui, si oui dites laquelle Remarque (indiquer toute information
particulière, par exemple, signification des noms locaux importance des éléments dans le
remède, etc.)

.....

.....

Annexe 2 : Fiche d'enquête sur les personnes drépanocytaires

Question 1

Nom : Prénom :

Question 2

Date et lieu de naissance :/...../..... À

Question 3

Nationalité :

Question 4

Lieu d'habitation :

Question 5

Sexe : Fille ().....Garçon ()

Question 6

Statut matrimonial : Marié(e) Célibataire () Divorcé (e) Veuf ()

Question 7

Niveau d'étude

- Jamais scolarisé (e)
- Primaire
- Secondaire (collège/lycée)
- Universitaire

Question 8

Le sujet est-il ?

- En activité
- Elève/étudiant
- Sans emploi
- Autre réponse

Question 9

Fonction :

Question 10

Avez-vous fait une électrophorèse avant mariage ? ; oui () non ()

Question 11

A quel âge avez-vous appris que vous étiez drépanocytaire ? :.....

Question 12

Quelles sont les noms locaux autres que ce que vous connaissez ?

12 :.....3 :.....4 ;.....

Question 13

Quelle est la forme de votre maladie ?

SS ()

SC ()

S β-Thalassémie ()

Ne sait pas ()

Question 14

Vous a-t-on donné des nouvelles explications sur la drépanocytose ? Oui () Non ()

Question 15

Vous a-t-on expliqué le rôle des facteurs déclenchant des crises vaso-occlusives? Oui() Non()

Question 16

Combien de crises faites-vous par mois ou semaine ?

Question 17

Combien de temps durent les crises ?

Question 18

Quelles sont les complications les plus fréquents ?

Question 19

Quels sont les aliments que vous consommez 24h avant les crises ?

:.....

Question 20

Quelles sont vos sources d'information sur le Drépanocytose ?

Agents socio sanitaires (.) Vieilles personnes () Voisinage () Parents () Radio ()
Télé () animateurs ONG () Autres à préciser ()

Question 21

Quels peuvent être les recours en cas de découverte de la maladie ?

Médecine moderne () Tradithérapeute () Marabout () Autres ()

Question 22

Est-ce que vous vous adressez directement à un médecin lors des crises ? Oui () Non ()

Question 23

Quel médicament prenez-vous pour calmer vos douleurs ? :

Paracétamol ()

Codéine ()

Tramadol ()

Anti-inflammatoire ()

Morphine ()

Question 24

Prenez-vous régulièrement

Hydréa ()

Siklos ()

Spéciafoldine ()

Kinésithérapie respiratoire préventive ()

Autre réponse ()

Question 25

Pensez-vous prendre correctement vos médicaments ? Oui () Non ()

Question 26

D'autres membres de votre famille sont-ils atteints de cette maladie ?

Oui ()

Non ()

Ne sait pas ()

Question27

Avez-vous fait une transfusion sanguine ces trois derniers mois ? Oui () Non ()

Question 28

Faites-vous partir d'une association ? Oui () Non ()

Question 29

Si oui comment êtes-vous organisé pour freiner la drépanocytose ?

.....
.....
.....

Question 30

Si non, êtes-vous prêt(e)s à intégrer une association ? Oui () Non ()

Question 31

Etes-vous prêt(e) à accompagner la science dans la lutte contre la drépanocytose en donnant un échantillon de votre sang pour des tests biologiques ? Oui () Non ()

Patient ou parent(s)

Contact(s) :

Signature

Annexe 3 : Materiel technique et biologique



PUBLICATIONS

Publication 1



Phytochemical Evaluation and Determination of the Content of Some Natural Antioxidants (Polyphenols and Flavonoids) from *Ficus Capensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*

Jean François Sibri ^{a*}, Joël Akakpo-Akue ^b,
Stéphane Claver Vanié ^c, Tatiana Kangah Mireille Kple ^b,
M'Bèfèhê Soro ^a and Obou Constantin Okou ^a

^a Laboratoire d'Agrovalorisation, UFR Agroforestry, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG),
BP 150, Daloa, Côte d'Ivoire.

^b Biology and Health Laboratory, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB),
22 BP 582, Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

^c Laboratoire de Nutrition et Sécurité Alimentaire, UFR Science et Technologie Des Aliments,
Universitee Nangui Abrogoua (UNA), 02BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/AJOB/2023/v19i4374

Open Peer Review History:

This journal follows the Advanced Open Peer Review policy. Identity of the Reviewers, Editor(s) and additional Reviewers, peer review comments, different versions of the manuscript, comments of the editors, etc are available here:
<https://www.sdiarticle5.com/review-history/109129>

Original Research Article

Received: 11/09/2023

Accepted: 14/11/2023

Published: 27/11/2023

*Corresponding author: E-mail: sibrijean1991@gmail.com;

ABSTRACT

Scientific interest in the search for natural antioxidants (secondary metabolites) from medicinal plants has increased considerably in recent years, due to the involvement of free radicals in the genesis of many diseases. The aim of the present study is to determine qualitatively and quantitatively the secondary metabolites of aqueous and hydroethanol extracts from the leaves of the medicinal plants under investigation. Qualitative determination is based on staining and/or precipitation reactions, while quantitative determination is based on the assay of secondary metabolites. The results of their qualitative determinations revealed an abundance of polyphenols and saponins, a significant presence of flavonoids and anthocyanins, and a moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins in the aqueous extract. In the hydroethanol extract, on the other hand, there is an abundance of flavonoids, a significant presence of polyphenols, saponins and anthocyanins, and a moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins. Gallic tannins and quinones are absent in both extracts. While their quantitative assay revealed an abundance of flavonoids (314.51 ± 5.14 mgEAG/g extract) and total polyphenols (66.19 ± 2.44 mgEQ/g extract). Thus, the high flavonoid and polyphenol content of the various extracts (aqueous and hydroethanolic) of the leaves of the plants studied would justify their use in traditional medicine in the care of sickle-cell patients.

Keywords: Medicinal plants; polyphenols; flavonoids; sickle cell disease.

1. INTRODUCTION

For centuries, natural products have been an important source of new active compounds used to treat a wide range of diseases [1]. A number of studies have been carried out on the biological properties of extracts from certain medicinal plants, leading to the discovery of numerous active ingredients used in modern medicine [2]. Examples include quinine, theophylline, morphine and vitamin A. It is estimated that over half of all bioactive molecules in clinical use come from medicinal plants [3]. In fact, the various plant organs take part in variable physico-chemical and metabolic reactions. These metabolic variabilities are physiological adaptation responses to environmental conditions and stresses [4]. In addition, the aerial parts of plants are the seat of photosynthesis and are exposed to solar stresses, including ultraviolet rays. All these stresses can result in the formation of free radicals, leading to the synthesis of distress substances that can cause leaf wilting, leading to plant dieback and/or death. Similarly, free radicals can also affect the genetic integrity and stability of plants [4]. However, despite constant stress, plants can survive, grow and multiply by synthesizing anti-free radical substances. Plants are therefore natural sources of antioxidant substances [5]. However, the plant kingdom is not the only one stressed by abiotic and biotic factors: the human organism produces free radicals on a daily basis, which are unstable, highly reactive compounds containing a single electron. Because of their stability, free radicals attack certain biological

molecules, creating other free radicals and triggering chain reactions that damage numerous cellular components such as proteins, lipids and DNA. These free radicals are thought to be at the root of certain chronic diseases (cardiovascular, cancerous and neurodegenerative), as well as ageing. Thus, the ultimate cause of most pathologies is free radicals [6]. The role of free radical scavengers is to reduce the harmfulness of free radicals, stopping the process by neutralizing these highly reactive species. For some years now, these scavengers have been synthetic antioxidant molecules. However, the use of synthetic antioxidant molecules is currently being called into question because of the potential toxicological risks they may pose. This is why the active search for new sources of natural antioxidants is of the utmost importance [7]. In this case, the focus is increasingly on medicinal plants as sources of bioactive substances.

The use of medicinal plants for their therapeutic, cosmetic, chemical, dietary, pharmaceutical, agri-food and industrial properties is an ancient practice [8]. In fact, according to Béné et al. [9], medicinal plants are part of the history of every continent. Also, according to the World Health Organization (WHO) in 2013, around 80% of people in developing countries rely on traditional medicine, particularly herbal medicine, for their health care needs. Africa's floristic heritage is rich in medicinal plants with proven efficacy. Indeed, it has been shown that the continent is home to almost 5,000 medicinal species [10-13]. What's more, research continues to show that

medicinal plants contain a variety of biologically active chemical principles with different pharmacological activities: antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, etc [12-14].

With this in mind, this study examined the antioxidant activity of various extracts from the leaves of (*Ficus capensis*; *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*). These medicinal plants have always been used in the Department of Daloa (west-central Côte d'Ivoire) by many traditional practitioners to treat people suffering from sickle-cell anemia.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant Material

The leaves of the medicinal plants used in this study were harvested in December 2019 in Daloa (Haut-Sassandra region, central-western Côte d'Ivoire). They were identified at the Agrovalorisation laboratory of the UFR Agroforestry of the Université Jean Lorougnon Guédé in Daloa. They were then air-dried for two weeks in the laboratory, and finely ground separately in an electric grinder to obtain distinct plant powders. The plant powders obtained from each plant were then mixed in equal quantities to produce a basic plant product, which was stored in a dark, dry place. Finally, the basic plant product obtained was used throughout the work, i.e. for the preparation of the various extracts (aqueous and hydro-ethanolic) and subsequent tests.

2.2 Preparation Methods for the Various Extracts

2.2.1 Preparing the aqueous extract

The aqueous extract of the basic plant product was prepared according to the method of Zirihi et al. [15]. To do this, one hundred grams of the basic plant product initially obtained was dissolved in one liter of water, then homogenized using a blender to obtain a homogenate. Next, the homogenate obtained was wrung out once on a square of white cloth, then filtered successively with absorbent cotton and finally on Wattman paper to obtain a filtrate. Finally, the filtrate obtained was oven-dried at 50°C for 48 hours to obtain the aqueous extract.

2.2.2 Preparation of hydroethanol extract

The hydroethanol extract of the basic plant product was prepared according to the method of

Zirihi et al. [15]. This consisted in placing one hundred grams of the basic plant product previously obtained in one liter of 70% ethanol (ethanol-distilled water: 70/30 (V/V)), then mixing with a blender to obtain a homogenate. The homogenate obtained was then wrung out once on a square of white cloth, then filtered successively with absorbent cotton and on Wattman paper to obtain a filtrate. The filtrate obtained was then oven-dried at 50°C for 48 hours to obtain the hydroethanol extract.

2.3 Yield Calculation

The various yields were calculated using the following formula:

$$\text{Yield (\%)} = \left(\frac{\text{quantity of dry matter extracted}}{\text{quantity of material used}} \right) \times 100$$

2.4 Qualitative Study or Phytochemical Screening of Different Extracts

2.4.1 Alkaloid research

Burchard and Dragendorff reagents were used, and 6 mL of each extract was evaporated to dryness. The residue was taken up with 6 mL of alcohol (ethanol) at 60°C. The addition of two drops of Dragendorff's reagent to the alcohol (ethanol) solution produced an orange coloration. Then, the addition of two drops of Burchard's reagent to the previous solution produced a precipitate that indicated the presence of alkaloids [16].

2.4.2 Polyphenol research

Polyphenols were identified by the ferric chloride reaction. A drop of aqueous ferric chloride solution was added to 2 mL of plant extract. A bluish-black or green coloration of varying intensity then indicated the presence of phenolic compounds [17].

2.4.3 Flavonoid research

Flavonoids were determined by the cyanidine reaction. To this end, 2 mL of each extract was evaporated and the residue taken up in 5 mL of twice-diluted hydrochloric alcohol (ethanol). Next, 2 to 3 magnesium chips were added, followed by heat release and a pink-orange or purplish coloration. Next, 3 drops of isoamyl alcohol (ethanol) were added, which either intensified the coloration or did not. This last observation

confirmed the presence or absence of flavonoids [18].

2.4.4 Saponin research

For their research, 10 mL of the total aqueous extract was placed in a test tube. The tube was shaken for ten seconds and left to stand for ten minutes. A persistent foam height of around 3 cm indicates the presence of saponins [19].

2.4.5 Tannin research

To test for catechic tannins, 5 mL of each extract was evaporated to dryness. Next, 15 mL of Stiasny's reagent was added to the residue. The mixture was then kept in a water bath at 80°C for 30 minutes. The presence of catechic tannins was revealed by the observation of a coarse flake precipitate. As for the gallic tannins, the previous solution was filtered and the filtrate saturated with sodium acetate. The subsequent addition of three drops of FeCl₃ produced an intense blue-black coloration, indicating the presence of gallic tannins [16].

2.4.6 Testing for quinone substances

These substances were detected by evaporating 2 mL of each extract to dryness. The residue was triturated in 5 mL hydrochloric acid diluted 1:5. The triturate was placed in a test tube and heated in a water bath at 80°C for 30 minutes. After cooling, it was extracted with 10 mL chloroform and 0.5 mL ammonia was added to the chloroform solution. Red or violet coloration revealed the presence of quinones [16].

2.4.7 Terpene research

This was carried out using Liebermann's reagent. A 5 mL volume of each extract was evaporated to dryness. The residue obtained was then dissolved hot in 1 mL acetic anhydride, then 0.5 mL concentrated sulfuric acid was added to the triturate. The appearance of a purple or violet ring at the interface, turning blue and then green, revealed the presence of terpenes [17].

2.5 Quantitative Study

2.5.1 Determination of total polyphenols in different extracts

For this study, a 1 mL volume of Folin's reagent (10-fold diluted) was added to 200 µL of sample (aqueous or hydroethanol extracts) or standard

(prepared in ethanol) with suitable dilutions. After 4 minutes, 500 µL of sodium carbonate solution (75 mg/mL) was added to the reaction medium. The mixture was then vortexed for ten (10) seconds and incubated at 40°C for 30 minutes. Then, after 1 hour incubation at room temperature, absorbance was measured at 760 nm. The concentration of total polyphenols was calculated from the regression equation of the calibration range established with gallic acid, and expressed in µg of gallic acid equivalent per milligram of extract (µg GAE/mg extract).

2.5.2 Dosage of flavonoids from different extracts

The total flavonoid content of each extract was determined using the aluminum trichloride colorimetric method [20]. To this end, 100 mL of each extract was mixed with 0.4 mL of distilled water, followed by 0.03 mL of a 5% NaNO₂ sodium nitrite solution. After 5 minutes, 0.02 mL of a 10% AlCl₃ solution was added. 0.2 mL of Na₂CO₃ (1 M) solution was then added to the previous mixture, followed by 0.25 mL of distilled water after a 5-minute rest. The mixture was then vortexed and the absorbance measured at 510 nm. Results were expressed as mg quercetin equivalent per g extract (mg QE/g).

3. RESULTS

3.1 Performance

Table 1 shows the yield of the different extracts (aqueous and hydroethanolic) per 100 g of the base plant product. The aqueous extract yielded 19.02%, while the hydroethanol extract yielded 12.56%. The percentage of the aqueous extract is therefore higher than that of the hydroethanolic extract.

Table 1. Yields of aqueous and hydroethanol extracts

Extraction solvent	Extract mass (g)	Extract yield (%)
Water	19.02	19.02
Ethanol-water (70/30: V/V)	12.56	12.56

3.2 Qualitative Study or Phytochemical Screening of Different Extracts

The results of phytochemical screening of extracts of the basic plant product are shown in Table 2. They reveal that the various extracts prepared contain alkaloids, polyphenols,

terpenes, catechic tannins, flavonoids, saponins and anthocyanins in varying proportions. However, they are characterized by the absence of gall tannins and quinones. The aqueous extract, for example, contains an abundance of polyphenols and saponins, a significant presence of flavonoids and anthocyanins, and a moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins. The hydroethanol extract showed abundant flavonoids, significant polyphenols, saponins and anthocyanins, and moderate alkaloids, terpenes and catechic tannins.

3.3 Quantitative Study

3.3.1 Determination of total polyphenols in various extracts

Fig. 1 shows the general distribution of polyphenols measured in the two extracts. Specifically, it shows that the value of polyphenols measured in the aqueous extract is 66.19 ± 2.44 mgEAG/gDM (gallic acid equivalent per g dry matter), whereas it is 63.04 ± 2.81 mgEAG/gDM in the hydroethanol extract. This chemical compound is therefore relatively more abundant in the aqueous extract than in the hydroethanol extract.

3.3.2 Dosage of flavonoids from different extracts

The results of the quantitative flavonoid assay are shown in Fig. 2, expressed as milligram quercetin equivalent per gram of dry matter (mgEQ/gMS). Generally speaking, they show that flavonoids are present in both extracts, but in different proportions. Their assay showed that the flavonoid content in the hydroethanol extract

was 314.51 ± 5.14 mgEqQ/gMS, whereas it was 135.60 ± 2.47 mgEqQ/gMS in the aqueous extract. Thus, this organic compound is more abundant in the hydro-ethanolic extract than in the aqueous extract.

4. DISCUSSION

Extraction of the base plant product with distilled water gave a high yield of 19.02%, compared with 12.56% for extraction with the ethanol-water mixture (70/30 : V/V). These results are broadly comparable to those obtained by Ibrahim et al. [21], who obtained a yield of 24.25% with distilled water extraction of the whole plant of *C. benghalensis*, compared with 12.56% with methanol. According to Ibrahim et al. [21], the higher extraction value with distilled water (24.25%) than with methanol (12.56%) suggests that distilled water is a better extraction solvent for the plant studied than methanol. The results obtained in this study follow the same principle. In addition, the work of Okou [11] states that, in general, the use of a given solvent for the extraction of bioactive substances from a medicinal plant can enhance one group of active compounds over another. Thus, according to these same authors, water can be used to isolate bioactive substances such as anthocyanins, tannins, saponins, etc., while ethanol can be used to highlight tannins, polyphenols, polyacetylenes, etc. Furthermore, according to Okou et al. [12], the use of distilled water (less polar) in an extraction of medicinal plants also isolates macromolecules like the aforementioned compounds, unlike ethanol (more polar), which cannot highlight these macromolecules apart from the compounds initially mentioned

Table 2. Phytochemical screening results

	Extracts	
	Aqueous (EA)	Hydro-ethanolic (EH)
alkaloids	+	+
polyphenols	+++	++
terpenes	+	+
catechic tannins	+	+
gallic tannins	-	-
flavonoids	++	+++
quinones	-	-
saponins	+++	++
anthocyanins	++	++

+++ : Abundance,
 ++ : Significant presence,
 + : Moderate presence,
 - Absence

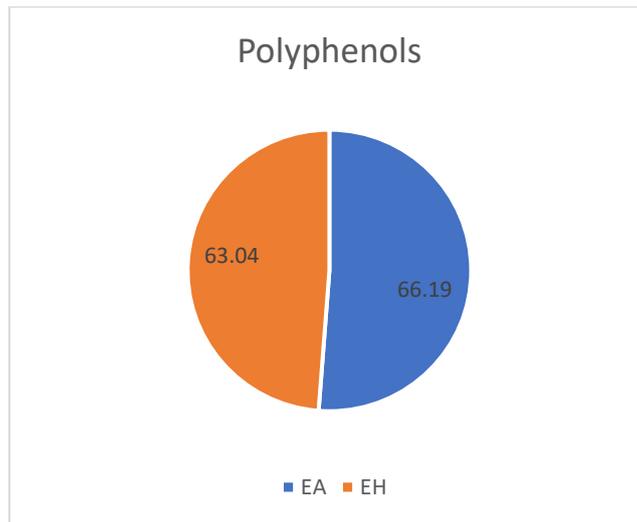


Fig. 1. Polyphenol content of different extracts
EA: Extrait Aqueux; EH: Extrait Hydroéthanolique

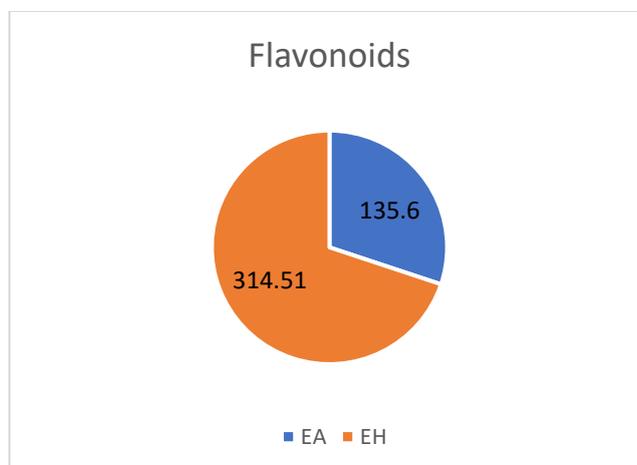


Fig. 2. Flavonoid content of different extracts
EA: Extrait Aqueux; EH: Extrait Hydro-éthanolique

(as they are less soluble in ethanol). Consequently, the work of the latter authors could justify the high yield of distilled water extraction in this study, as in that of Ibrahim et al. [21].

Phytochemical screening revealed an abundance of polyphenols and saponins in the aqueous extract, flavonoids in the hydroethanol extract, and a significant presence of flavonoids and anthocyanins in the aqueous extract, and polyphenols, saponins and anthocyanins in the hydroethanol extract, and a moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins in both the aqueous and hydroethanol extracts. These results corroborate those of Okou [11] as previously cited. Similarly, the work of Okou [11]

showed that not only can a solvent isolate specific bioactive compound, but the combination of solvents can reveal a type of bioactive substance that is soluble in both solvents. These latter observations could explain the non-negligible presence of anthocyanins in both the aqueous and hydro-ethanol extracts, and the moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins in both the aqueous and hydro-ethanol extracts. Thus, phytochemical screening showed that both extracts contain secondary metabolites and the results of this study are similar to those of Piba et al. [22] who worked on *Ficus mucoso*; *Zizyphus mauritiana* and *Tamarindus indica*. According to Pooja et al. [23], the richness of these extracts in active chemical compounds could confirm the antioxidant,

antihypertensive and anti-inflammatory properties of medicinal plants. Also according to Krief [24]; Yezza and Bouchama [25], all the above-mentioned organic compounds belong to the three major groups of secondary metabolites (phenolic compounds, alkaloids and terpenoids) which possess a wide range of activities (cardiovascular system, immunology, diabetes, stress-related diseases, antimicrobial and antiviral activities, etc.) in human biology.

Quantitative assay of the two extracts showed that the aqueous extract contained 66.19 ± 2.44 mgEAG/gMS of polyphenols, compared with 63.04 ± 2.81 mgEAG/gMS of the same compound in the hydroethanol extract. These results show that polyphenols are relatively more abundant in the aqueous extract than in the hydroethanol extract. However, the value of total polyphenols found in the aqueous extract of the basic plant product in this study is higher than the content obtained by Meziti [26], which is 27.07 ± 0.58 mgEAG/g, and that of Boudiaf [27], which is 23.81 ± 2.67 mgEAG/mg in the aqueous extraction of *Nigella sativa* and that of Bougandoura & Bendimerad [20] with a content of phenolic compounds of 12.6 ± 0.775 mg EAG/g on the aqueous extract of *Satureja calamintha*. Similarly, the polyphenol assay value of the hydroethanol extract of the base product in this study is much higher than that found by Meziti [26], which is 33.64 ± 0.34 mg EAG/g. On the other hand, these results are below the value obtained by Boudiaf [27] when extracting *Nigella sativa* with chloroform (191.06 ± 23.34 mgEAG/g) and by Kukric et al. [28] who reported in their work a phenolic compound content of 208.37 ± 11.02 mgEAG/g of nettle leaf extract, using 80 % ethanol as extraction solvent. Quantitative determination of flavonoids revealed that the aqueous extract contained 135.60 ± 2.47 mgEqQ/gMS, compared with 314.51 ± 5.14 mgEqQ/gMS for the hydroethanol extract of the base plant product. These results therefore show that the hydro-ethanolic extract contains more flavonoids than the aqueous extract. On the basis of the polyphenol and flavonoid assay data, it can be said that flavonoids are present to a greater extent than total polyphenols in both extracts (aqueous and hydro-ethanolic) of the base plant product. Furthermore, the sum of the two chemical compounds (flavonoids and polyphenols) that are phenolic compounds in a given extract shows that the hydro-ethanolic extract contains more of these phenolic compounds (flavonoids and polyphenols) than the aqueous extract. This latter observation is in

line with the results of work by Meziti [26] and Boudiaf [27], who also found that the phenolic compound content (flavonoids and polyphenols) was higher in the methanolic extract than in the aqueous extract. This shows that alcoholic solvents (ethanol and methanol) concentrate these phenolic compounds more than aqueous extracts.

5. CONCLUSION

The present study has shown that distilled water is a better solvent for extracting secondary and primary metabolites than ethanol for the base plant product prepared. In addition, phytochemical screening of both extracts revealed the presence of numerous secondary metabolites. This presence is characterized by an abundance of polyphenols and saponins in the aqueous extract, and flavonoids in the hydro-ethanolic extract, a significant presence of flavonoids and anthocyanins in the aqueous extract, polyphenols, saponins and anthocyanins in the hydroethanol extract, and a moderate presence of alkaloids, terpenes and catechic tannins in both the aqueous and hydroethanol extracts. As for the quantitative assay, it revealed a relative abundance of polyphenols in the aqueous extract than in the hydro-ethanolic extract, in contrast to an abundance of flavonoids in the hydro-ethanolic extract than in the aqueous extract. Moreover, flavonoids and polyphenols (phenolic compounds) are more accumulated in the hydro-ethanolic extract than in the aqueous extract.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Saloufou KI, Boyode PB, Simalou O, Eloh K, Melila M, Kpegba K, Novidzro KM, Gaslonde T, Michel S. Identification of two biologically active phytosterols from cyclohexane extract of *Ficus* sur (Moraceae) leaves. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2017 ;11(5):2510-2520. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i5.44>
2. Gbenou JD, Ahounou JF, Ladouni P, Agbodjogbe WKDD, Tossou R, Dansou P, Moudachirou M. Anti-inflammatory properties of *Sterculia setigera* Delileet aqueous extracts and *Aframomum*

- melegueta* K. *Schum-Citrus aurantifolia* Christm et Panzer mixture. Int. J. Biol. Chem. Sci. 2011;5(2):634-64.
Available:<http://ajol.info/index.php/ijbcs>
3. Zitouni AÉY. Polyphenolic profile and antioxidant activity of two medicinal plants *Pistacia lentiscus* L and *Gymnocarpus decander* Forsk. PhD thesis in cell biology and biochemistry. Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen (République Algérienne Démocratique et Populaire). 2017;165.
 4. Garrett KA, Dendy SP, Frank EE, Rouse MN, Travers SE. Climate change effects on plant disease: Genomes to ecosystems. The Annual Review of Phytopathology. 2006;44:489-509.
DOI: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143420
 5. Sarr SO, Fall AD, Gueye R, DIOP A, Diatta K, DIOP N, Ndiaye B, Diop YM. Study of the antioxidant activity of *Vitex doniana* (*Verbenacea*) leaf extracts. Int. J. Biol. Chem. Sci. 2015;9(3):1263-1269.
DOI: <http://ajol.info/index.php/ijbcs>
 6. Pastre COJ. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Doctoral thesis, Université Paul-Sabatier, Toulouse. 2005 ;116.
 7. Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. *In vitro* antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. Journal of Food Composition and Analysis. 2007;20:323-329.
DOI: 10.1016/j.jfca.2006.08.004
 8. Lahsissene H, Kahouadji A, Tijane M, Hseini S. Catalog of medicinal plants used in the Zaër region, western Morocco. *Lejeunia*, Revue de Botanique. 2009;186.
 9. Bené K, Camara D, Fofié NBY, Kanga Y, Yapi AB, Yapo YC, Ambé SA, Zirihi GN. Ethnobotanical study of medical plants used in the Transua department, Zanzan District (Côte d'Ivoire). Journal of Animal & Plant Sciences. 2016;27(2):4230-4250.
 10. Adjanohoun EJ, Aké-Assi L. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire CRES. Center national de floristique, Université de Côte d'Ivoire. 1979;358.
 11. Okou OC. Efficacy and spectrum of activity of *Mitracarpus scaber* Zucc. Ex Schult + Scult.f. (Rubiaceae) extracts and fusidic acid on Gram-positive Cocci Bacteria. Doctoral thesis in Biochemistry-Pharmacology, Université Félix Houphouët-Boigny, (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2012;229.
 12. Okou OC, Yapo SE-S. Antibacterial activity of *Solanum torvum* leaves: Extracts of *Solanum torvum* (Solanaceae) leaves on the *in vitro* growth of 3 strains of enterobacteria. European University Publishing, Berlin (Germany). 2018;1-43.
 13. Okou OC, Yayé YG, Ackah JAAB, Hamed D, Djaman AJ. *In vivo* action of *Mucuna pruriens* and *Millettia pinnata* (Fabaceae) minerals on the biochemical parameters of *Oryctolagus cuniculus*. International Journal of Applied Science research. 2021;4(3):9-21.
 14. Lagnika L, Amoussa M, Adjovi Y, Sanni A. Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Benin pharmacopeia. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 2012;4(4):44-52.
 15. Zirihi G, Kra AKM, Guede-Guina F. Evaluation of the antifungal activity of *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O.Kantze (Asteraceae) "PYMI" on the *in vitro* growth of *Candida albicans*, Revue de Médecine et pharmacie Afrique. 2003;17:11-18.
 16. Dohou N, Yamni K, Tahrouch S, Idrissi H, Badoc A, Gmira N. Phytochemical screening of an endemic Iberomaroquine, *Thymelaea lythroides*. Bulletin de la Société Pharmaceutique de Bordeaux. 2003;29:233-239.
DOI: <https://doi.org/10.24310/abm.v29i0.7221>
 17. Fankam AG, Kuete V, Voukeng IK, Kuate JR, Pages JM. Antibacterial activities of selected Cameroonian spices and their synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant phenotypes. Bio. Med. Central Complementary and Alternative Medicine. 2011 ;11:104.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-104>
 18. Bruneton J. Phytochemistry-medicinal plants-techniques and documentation, J. Pharmacognosie, 5th Edition. Lavoisier. 1999;1120.
 19. Yves-Alain B, Janat A, Mamyrbekova B, Boua B, Fézan HT, Ehouan E. Ethnobotanical study and phytochemical screening of *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et *Zarucchi* (Caesalpinaceae). Sciences & Nature. 2007;4(2):217-225.
DOI: 10.4314/scinat.v4i2.42146

20. Bougandoura N, Bendimerad N. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. 2013;9:14-19.
21. Ibrahim J, Ajaegbu VC, Egharevba HO. Pharmacognostic and phytochemical analysis of *Commelina benghalensis* L. *Ethnobotanical Leaflets*. 2010;14:610-615. DOI: <https://opensiuc.lib.siu.edu/ebl/vol2010/iss5/7> du 19/12/2022
22. Piba SC, Konan PAK, Kone LN, Kouame AG, Kouakou RKD, Tra HFB. Phytochemistry, antioxidant activity and acute toxicity of medicinal plants used against stroke sequelae in Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2021;15(2):652-663. DOI: 10.4314/ijbcs.v15i2.21
23. Pooja A, Devang JP. A complete review on medicinally active herbal wee: *Commelina benghalensis* L. (Commelinaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019;11(4):1165-1171. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5(10).637-45
24. Krief S. Plant secondary metabolites and animal behavior. Doctoral thesis, Muséum National d'Histoire Naturelle. 2003;32.
25. Yezza S, Bouchama S. Index of plant secondary metabolites. Licence des sciences de la nature et de la vie, Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée. 2014;73.
26. Meziti A. Antioxidant activity of *Nigella sativa* L seed extracts: *In vitro* and *in vivo* study. Master's thesis in Biochemistry. Université el-haj lakhdar batna. Department of Biological Sciences. 2009;41-49.
27. Boudiaf K. Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Magistère thesis, Biology Department, Université Ferhat abbas (Sétif) Algeria ; 2006.
28. Kukric ZZ, Topalic-Trivunovic LN, Kukavica BM, Matos SB, Pavicic SS, Broja MM, Savic AV. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L). 2012;43:257-272.

© 2023 Sibri et al.; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:

The peer review history for this paper can be accessed here:
<https://www.sdiarticle5.com/review-history/109129>

Publication 2



Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Hydro-Ethanollic Extracts of *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*

Jean François Sibri ^{a*}, Joël Akakpo-Akue ^b,
Obou Constantin Okou ^a and Tatiana Kangah Mireille Kple ^b

^a Laboratoire d'Agrovalorisation, UFR Agroforestry, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), BP 150, Daloa, Côte d'Ivoire.

^b Biology and Health Laboratory, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), 22 BP 582, Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/AJRB/2023/v13i4267

Open Peer Review History:

This journal follows the Advanced Open Peer Review policy. Identity of the Reviewers, Editor(s) and additional Reviewers, peer review comments, different versions of the manuscript, comments of the editors, etc are available here: <https://www.sdiarticle5.com/review-history/109449>

Original Research Article

Received: 27/09/2023

Accepted: 30/11/2023

Published: 07/12/2023

ABSTRACT

Scientific interest in the search for natural antioxidants (secondary metabolites) in medicinal plants has increased considerably in recent years, as free radicals are at the root of many diseases. The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of aqueous and hydroethanol extracts from the leaves of a basic plant product consisting of equal quantities of *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*. Quantitative determination of antioxidant activity was based on the flavonoid content of the base plant product. It was assessed by DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) reduction tests and ferric ion reducing power (FRAP). The results of this study

*Corresponding author: E-mail: sibrijean1991@gmail.com;

showed that the hydro-ethanol extract of the basic plant product is richer in flavonoids than that of the aqueous extract. In addition, the IC₅₀ of the aqueous and hydro-ethanolic extracts of the base plant product with DPPH were $2.13 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ and $1.19 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ respectively. In the FRAP test, the reducing powers of the hydroethanolic extract were generally higher than those of the aqueous extract at all concentrations tested. Particularly at the high concentration of $10 \mu\text{g/mL}$, the reducing powers of the aqueous and hydroethanol extracts of the base plant product are $435.86 \pm 1.29 \mu\text{g/mL}$ and $453.68 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$ respectively. The hydroethanol extract therefore has better antioxidant activity than the aqueous extract.

Keywords: Extracts; flavonoids; antioxidant.

1. INTRODUCTION

Free radicals are thought to be at the root of a number of pathologies, including arthritis, asthma, cancer, diabetes, heart disease and atherosclerosis [1]. According to [2], the use of natural products (fruit, vegetables) rich in antioxidants could play an important role in preventing these diseases. However, the high cost of health care and modern medicines, as well as socio-economic factors, mean that a large proportion of the population use medicinal plants to treat themselves [3]. Today, 80% of the population have used herbal medicine at least once [4]. This attitude may also be linked to ancestral culture and civilization, which rely wholly or partly on phytotherapy because of the efficacy, accessibility and availability of medicinal plants [5]. In addition, numerous studies have shown that medicinal plants contain various biologically active chemical principles that exert different pharmacological activities: antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, etc [6,7,8,9,10].

It is in this context that this study investigated the antioxidant activity of aqueous and hydro-ethanolic extracts of the leaves of the equal mixture of *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea*. These medicinal plants have always been used in the Department of Daloa (central-western Côte d'Ivoire) by several traditional practitioners to treat people suffering from sickle-cell anemia.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant Material

The leaves of the medicinal plants used in this study were harvested in December 2019 in Daloa (Haut-Sassandra region, central-western Côte d'Ivoire). They were identified at the Agrovalorisation laboratory of the UFR Agroforestry of the Université Jean Lorougnon

Guédé in Daloa. They were then air-dried for two weeks in the laboratory, and finely ground separately in an electric grinder to obtain distinct plant powders. The plant powders obtained from each plant were then mixed in equal quantities to produce a basic plant product, which was stored in a dark, dry place. Finally, the basic plant product obtained was used throughout the work, i.e. for the preparation of the various extracts (aqueous and hydro-ethanolic) and subsequent tests.

3. PREPARATION OF DIFFERENT EXTRACTS

3.1 Preparing the Aqueous Extract

The aqueous extract of the basic plant product was prepared according to the method described in [11]. To do this, one hundred grams of the basic plant product initially obtained was dissolved in one liter of water, then homogenized using a blender to obtain a homogenate. Next, the homogenate obtained was wrung out once on a square of white cloth, then filtered successively with absorbent cotton and finally on Wattman paper to obtain a filtrate. Finally, the filtrate obtained was oven-dried at 50°C for 48 hours to obtain the aqueous extract.

3.2 Preparation of Hydroethanol Extract

The hydroethanol extract of the basic plant product was prepared according to the method of [11]. This consisted in placing one hundred grams of the basic plant product previously obtained in one liter of 70% ethanol (ethanol-distilled water: 70/30 (V/V)), then mixing it with a blender to obtain a homogenate. The homogenate obtained was then wrung out once on a square of white cloth, then filtered successively with absorbent cotton and on Wattman paper to obtain a filtrate. The filtrate obtained was then oven-dried at 50°C for 48 hours to obtain the hydroethanol extract.

3.3 Determination of Flavonoids in Various Extracts

The total flavonoid content of each extract was determined using the aluminum trichloride colorimetric method [12]. To this end, 100 mL of each extract was mixed with 0.4 mL of distilled water, followed by 0.03 mL of a 5% NaNO₂ sodium nitrite solution. After 5 minutes, 0.02 mL of a 10% AlCl₃ solution was added. 0.2 mL Na₂CO₃ (1 M) solution was then added to the previous mixture, followed by 0.25 mL distilled water after a further 5-minute rest. The mixture was then vortexed and the absorbance measured at 510 nm. Results were expressed as mg quercetin equivalent per g extract (mg QE/g).

3.4 Determination of Antioxidant Activity (DPPH Test)

Determination of free radical scavenging activity by the DPPH assay was carried out using the method described by Mansouri et al. [13] and slightly modified. To carry it out, an ethanolic solution of DPPH[•] was prepared by dissolving 4 mg of this product (DPPH) in 100 mL of ethanol. Then, to a volume of 50 µL of each initially prepared extract of given concentration was added 950 µL of the ethanolic solution of DPPH. The extracts and the reference (ascorbic acid) were tested at different concentrations (10; 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.312 µg/mL), then absorbances were measured at 517 nm after 30 minutes incubation in the dark. Three tests were carried out for each concentration of extract tested.

The antioxidant activity associated with the DPPH radical scavenging effect is expressed as percentage inhibition (PI) using the following formula:

$$PI = 100(A_0 - A_1) / A_0$$

A₀: DPPH absorbance

A₁: sample absorbance

3.5 Determination of Antioxidant Activity (FRAP Test)

The reducing power of the extracts was determined by the FRAP method described by and Strain [14]. To do this, a 0.4 mL volume of each extract previously prepared at different

concentrations was mixed with 1 mL phosphate buffer (0.2 M; pH=6.6) and 1 mL 1% potassium hexacyanoferrate [K₃Fe(CN)₆]. The mixture was then incubated at 50°C for 30 minutes. After this incubation time, 1 mL of 10% trichloroacetic acid was added, then the tubes were centrifuged at 3,000 rpm for 10 minutes. Again, a 1 mL volume of the supernatant from each tube was mixed with 0.2 mL of 0.1% FeCl₃ and allowed to stand in the dark for 30 minutes before measuring absorbances at 700 nm. Antioxidant activity related to the reducing power of extracts is expressed as Reducing Power (RP) using the following formula:

$$PR = 100(Ae - Ab) / Aa$$

Ae: absorbance of extract

Ab: absorbance of white

4. RESULTS

4.1 Determination of Flavonoids in Various Extracts

The results of the quantitative flavonoid assay are shown in Fig. 1 and expressed as milligram quercetin equivalent per gram of dry matter (mgEQ/g DM). The results show that flavonoid content is higher in the hydroethanol extract (314.51 ± 5.14 mgEQ/g DM) than in the aqueous extract (135.60 ± 2.47/mgEQ/g DM).

4.2 Determination of Antioxidant Activity

DPPH test: The results of the two Figs (2 and 3) reveal that, in general, DPPH radical inhibition is significant and depends on the extract concentrations (aqueous or hydroethanol) tested. Thus, it can be said that all extract concentrations used are dose-dependent. The hydro-ethanolic extract showed greater activity than the aqueous extract: at a concentration of 5 µg/mL of hydro-ethanolic extract, inhibition was 78.69 ± 1.34%, and 82.07 ± 1.14% at a concentration of 10 µg/mL. The aqueous extract, on the other hand, showed 75.99 ± 1.02% inhibition at 10 µg/mL (the highest concentration). To better appreciate the antioxidant activity of the extracts, their IC₅₀ are determined from the straight line equation (y=ax + b). Thus, the IC₅₀ of the hydroethanol extract is lower than that of the aqueous extract, with values of 1.19 ± 0.03 µg/ mL and 2.13 ± 0.01 µg/ mL respectively.

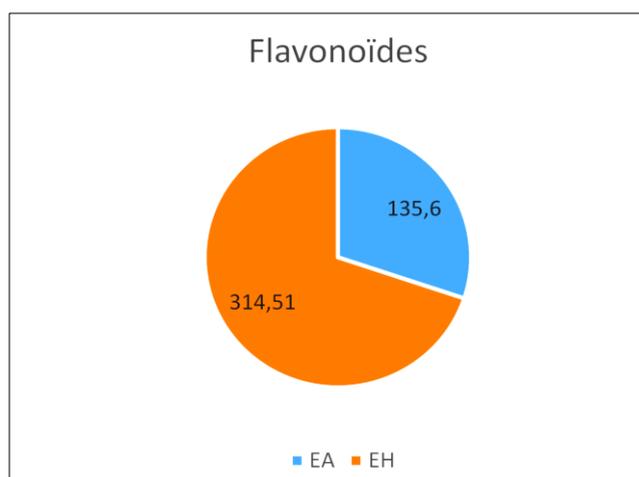


Fig. 1. Flavonoid content of different extracts.
EA: Extrait Aqueux; EH: Extrait Hydro-éthanolique

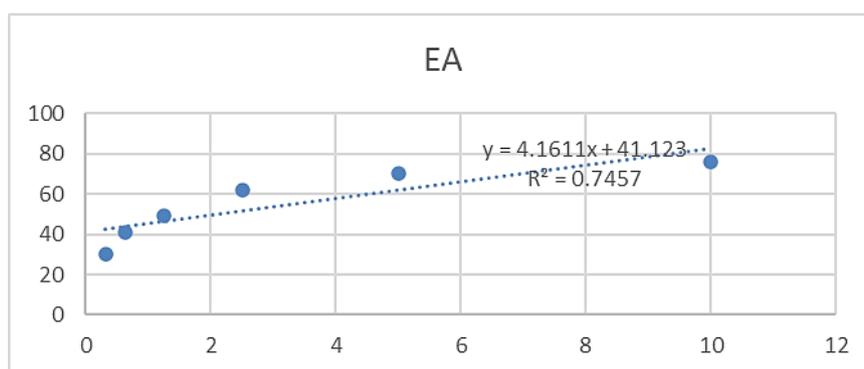


Fig. 2. Percentage inhibition of aqueous extract (EA)

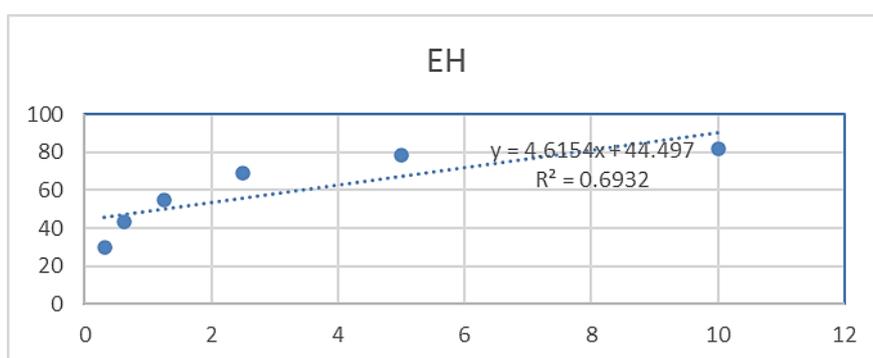


Fig. 3. Percentage inhibition of hydroethanol extract (HE)

FRAP test: The results of the FRAP test revealed that the reducing power of the hydro-ethanolic extract was better than that of the aqueous extract. In fact, whatever the extract concentration used (aqueous or hydro-ethanolic), it was found that the aqueous extract had a lower reducing power than the hydro-ethanolic extract. At a concentration of 0.312 $\mu\text{gEAA/mL}$ of aqueous extract and hydroethanol extract, the reducing power is $163.978 \pm 0.92\%$ and 175.301

$\pm 0.98\%$ respectively. Similarly, for concentrations ranging from 0.625; 1.25; 2.5; 5 and 10 $\mu\text{gEAA/mL}$ of aqueous extract and hydro-ethanolic extract, respective reducing powers of $200.476 \pm 2.03\%$; $243.147 \pm 0.54\%$; $305.712 \pm 1.63\%$; $378.664 \pm 0.52\%$ and $435.864 \pm 0.23\%$ respectively for the aqueous extract and $226.436 \pm 0.94\%$; $274.356 \pm 0.44\%$; $340.653 \pm 0.10\%$; $390.884 \pm 1.12\%$ and $353.679 \pm 2.10\%$ for the hydroethanol extract (Fig. 4).

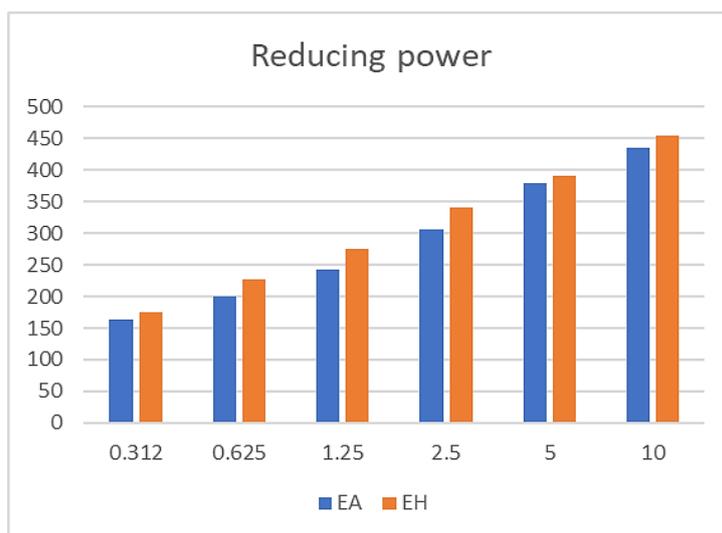


Fig. 4. Reducing power of different extracts
EA: Extrait Aqueux; EH: Extrait Hydro-éthanolique

5. DISCUSSION

The use of aqueous and hydro-ethanolic extracts has made it possible to extract polar compounds such as flavonoids, which are among the main components of medicinal plants with antioxidant activity, from the basic plant product [15,1]. These results corroborate the work carried out by [16] on *Piliostigma thonningii* leaves. However, determination of flavonoid content by the aluminum trichloride method for each extract revealed that the hydroethanol extract had more than double the flavonoid content of the aqueous extract, i.e. 314.51 ± 5.14 mgEqQ/gMS and 135.60 ± 2.47 mgEqQ/gMS respectively. From the flavonoid assay data, it can already be said that flavonoids are predominantly present in both extracts (aqueous and hydro-ethanolic) of the base plant product, with a strong predominance in the hydro-ethanolic extract. This latter observation is in line with the results of Meziti [17] and Boudiaf [18]. Indeed, these authors also found that flavonoid content was higher in the methanolic extract than in the aqueous extract. The results of their study, as well as these, indicate that alcoholic solvents (ethanol and methanol) concentrate more of this phenolic compound than aqueous extract.

Evaluation of the antioxidant activity of the hydro-ethanol and aqueous extracts of the base mixture using a spectrophotometer at 517nm showed that the hydro-ethanol extract exhibited greater antioxidant power in a dose-dependent manner. In fact, according to [19], this reduction capacity is determined by the decrease in

absorbance induced by antiradical substances. The antioxidant power results of the various extracts tested at different concentrations in this study showed that the percentage inhibition of the hydroethanol extract was higher than that of the aqueous extract, whatever the concentration used. These results are in line with those of Dieng et al. [19]. Indeed, these authors showed that at all concentrations tested, hydro-ethanolic extracts of *Piliostigma thonningii* leaves and bark significantly inhibited the DPPH[•] radical in a dose-dependent manner. In this study, the CI values₅₀ of each extract determined revealed that the aqueous extract is endowed with a moderate antioxidant power than that of the hydro-ethanolic extract with respective values of 1.19 and 2.13. Antioxidant molecules such as ascorbic acid, tocopherol, flavonoids and tannins have been shown to reduce and decolorize DPPH through their ability to release hydrogen [20]. Polyphenols and in particular flavonoids contained in base product extracts are probably responsible for antioxidant activity. This assertion is in line with work carried out by Effe et al. [21] on extracts of *Irvingia gabonensis*, a species rich in phenolic compounds which are responsible for numerous biological activities including antioxidant and anti-inflammatory activity.

A further assessment of the antioxidant activity of the hydroethanol and aqueous extracts of the base product was also possible using the method of Benzie and Strain [14] (the FRAP test). This is a simple, rapid and reproducible test. During this test, the reduction of Fe³⁺ /ferricyanide complex to the ferrous form (Fe²⁺) is triggered by the

presence of reducing agents in the plant extracts. According to [22], the ferrous ion (Fe²⁺) can be assessed by measuring and monitoring the increase in blue color density in the reaction medium at 700 nm. This method revealed that the reducing powers of the base product extracts are dose-dependent. This reducing power of the base product is probably due to the presence of hydroxyl groups in flavonoids (phenolic compounds). This presence of hydroxyl groups could act as electron donors. According to Zitouni [23], antioxidants can be considered as reducers and inactivators of oxidants. Some previous studies have also suggested that the reducing power of a compound can serve as a significant indicator of its potential antioxidant activity [24,1].

6. CONCLUSION

The present study demonstrated the antioxidant activity of aqueous and hydroethanol extracts of the leaves of the mixture *Ficus capensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea* (base plant product). According to the results obtained in this study, the basic plant product is a potential source of flavonoids with naturally-occurring antioxidant properties, justifying its traditional use in the treatment of numerous ailments linked to oxidative stress. However, the hydro-ethanolic extract showed the highest flavonoid content, very high DPPH free radical scavenging activity and high iron reduction capacity. These results could form the basis for research into new compounds with applications in the pharmaceutical industry.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Sarr SO, Fall AD, Gueye R, Diop A, Diatta K, Diop N, NDiaye B, Diop YM. Study of the antioxidant activity of *Vitex doniana* (Verbenaceae) leaf extracts. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2015;9(3):1263-1269. DOI:http://dx.doi.org/ 10.4314/ijbcs.v9i3.11
2. Pousset JL. National policies: the place of traditional medicines in Africa. Médecine Tropicale. 2006;66:606-609.
3. Agban A, Gbogbo KA, Hoekou YP, Atchou K, Tchacondo T, Batawila K, Souza C, Gbeassor M. Evaluation of the antifungal activity of *Cassia alata* L. and *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne Redh. (Fabaceae) extracts on *Candida albicans*. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2013 ;7(3):1041-104. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.12
4. Arbonnier M. Arbres, Arbustes et Lianes des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest. CIRAD-MNHN, Paris. 2002 ;576.
5. Akharalyi FC, Boboye B. Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. Journal of Natural Products. 2010;3:27-34
6. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sökmen A, Akpulat HA. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology. 2003;87(2-3):215-220.
7. Lagnika L, Amoussa M, Adjovi Y and Sanni A. Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Benin pharmacopeia. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 2012;4(4):44-52.
8. Dinzedi MR. Antibacterial activities of *Terminilia catappa* and *Thonningia sanguinea* extracts on multidrug-resistant *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* of human origin. Doctoral thesis, Specialization: Pharmacology of Natural Substances. Option: Biochimie Microbiologie, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2015;133.
9. Okou OC, Yapo SE-S. Antibacterial activity of *Solanum torvum* leaves: Extracts of *Solanum torvum* (Solanaceae) leaves on the *in vitro* growth of 3 strains of enterobacteria. European University Publishing, Berlin (Germany). 1201;8-43.
10. Okou OC, Yayé YG, Ackah JAAB, Hamed D, Djaman AJ. *In vivo* action of *Mucuna pruriens* and *Millettia pinnata* (Fabaceae) minerals on the biochemical parameters of *Oryctolagus cuniculus*. International Journal of Applied Science Research. 2021;4(3):9-21.
11. Zirih G, Kra AKM, Guede-Guina F. Evaluation of the antifungal activity of *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O.Kantze (Asteraceae) "PYMI" on the *in vitro* growth of *Candida albicans*, Revue de Médecine et pharmacie Afrique. 2003;17: 11-18.

12. Bougandoura N, Bendimerad N. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. 2013;9:14-19.
13. Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. 2005;89:411-420.
14. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 1996;209:70-76. DOI:<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
15. Fall AD, Sy AN, Fokou JBH, Fomi JON, Dieng M, Dieng SIM, Bassene E. Phytochemical screening, polyphenol content and antioxidant studies of ethanol leaf extract of *Combretum aculeatum* Vent. *European Journal of Medicinal Plants*. 2015;10(3):1-7. DOI: 10.9734/EJMP/2015/20294
16. Yemoa AL, Gbenou JD, Johnson RC, Djego JG, Zinsou C, Moudachirou M, QuetinLeclercq J, Bigot A, Portaels F. Identification and phytochemical study of plants used in the traditional treatment of Buruli ulcer in Benin. *Ethnopharmacologia*. 2008;42:48-55
17. Meziti A. Antioxidant activity of *Nigella sativa* L seed extracts: *In vitro* and *in vivo* study. Master's thesis in Biochemistry. Université el-haj lakhdar batna. Department of Biological Sciences. 2009; 41-49
18. Boudiaf K. Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Magistère thesis, Department of Biology, Ferhat abbas University (Sétif) Algeria; 2006.
19. Dieng SIM, Fall AD, Diatta-Badji K, Sarr A, Sene M, Sene M, Mbaye A Diatta W, Bassene E. Evaluation of the antioxidant activity of hydro-ethanolic extracts of *Ptilostigma thonningii* Schumach leaves and barks. *International Formulae Group*. 2017;11(2):768-776. DOI:<https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.19>
20. De Pooter HL and Schamp N. Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species *In: Progress in essential oil research*. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin; 1986.
21. Effo K, Akehouni Y, Odo A, Kone Y, Akre L, Adiko M, Kouakou S, Djadji A, IrieN'guessan A, Kouakou-Siransy N. Antioxidant activity of a dry extract of the juice and an aqueous extract of the epicarp of the fruit of *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) and total polyphenol content. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*. 2021;20(1):32-37. Publication. Available:lecames.org/index.php/pharm/article/view/2390
22. Pooja A, Devang JP. A Complete Review on Medicinally Active Herbal Weed: *Commelina benghalensis* L. (Commelinaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019;11(4):1165-1171. DOI:10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5(10).637-45
23. Zitouni AEY. Polyphenolic profile and antioxidant activity of two medicinal plants *Pistacia lentiscus*. L and *Gymnocarpus decander* Forsk. PhD thesis in Cell Biology and Biochemistry. Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen (République Algérienne Démocratique et Populaire). 2017;165.
24. Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Woillez M, Merillon J-M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agric. Food Chem*. 2009;57(5)1768-1774. DOI: 10.1021/jf803011r

RESUME

La drépanocytose, une hémoglobinopathie caractérisée par une mutation de l'acide glutamique en valine sur la chaîne β de l'hémoglobine, entraîne des crises vaso-occlusives, une anémie hémolytique et une prédisposition aux infections chez les individus homozygotes en hypoxie. Une étude ethnobotanique dans la région de Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire) a révélé l'utilisation traditionnelle d'une recette à base de feuilles de *Ficus carpensis*, *Newbouldia laevis* et *Carpolobia lutea* pour traiter la drépanocytose. Cette recherche vise à clarifier le rôle de cette recette dans le traitement de la drépanocytose en évaluant son activité anti-drépanocytaire *in vitro*. Les extraits EAR et EHR de la recette ont montré une activité anti-hémolytique significative, avec des taux d'érythrocytes résiduels lysés variant de 0 % à 38,66 % pour EAR et de 0 % à 40,66 % pour EHR à des doses allant de 0,625 mg/mL à 10 mg/mL. L'activité inhibitrice était comparable à celle de la phénylalanine à 0,625 mg/mL. Les extraits ont également démontré des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques notables, surpassant même le diclofénac et l'ibuprofène à certaines doses. L'analyse des extraits a révélé la présence de composés actifs aux propriétés antioxydantes et anti-drépanocytaires, suggérant leur rôle potentiel dans l'efficacité de la recette. Les résultats confirment l'utilisation traditionnelle de la recette à base de trois plantes pour le traitement de la drépanocytose dans la région du Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire), justifiant ainsi son application thérapeutique.

Mots Clés : Stress oxydant, physiopathologie, drépanocytose, activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire, analgésique.

ABSTRACT

Sickle cell disease, a hemoglobinopathy characterized by a mutation of glutamic acid to valine on the β -chain of hemoglobin, leads to vaso-occlusive crises, hemolytic anemia and a predisposition to infections in individuals homozygous for hypoxia. An ethnobotanical study in the Haut-Sassandra region (Côte d'Ivoire) revealed the traditional use of a recipe based on *Ficus carpensis*, *Newbouldia laevis* and *Carpolobia lutea* leaves to treat sickle cell disease. This research aims to clarify the role of this recipe in the treatment of sickle cell disease by evaluating its anti-sickle cell activity *in vitro*. The EAR and EHR extracts of the recipe showed significant anti-hemolytic activity, with levels of residual erythrocytes lysed ranging from 0% to 38.66% for EAR and from 0% to 40.66% for EHR at doses ranging from 0.625 mg/mL to 10 mg/mL. Inhibitory activity was comparable to that of phenylalanine at 0.625 mg/mL. The extracts also demonstrated notable anti-inflammatory and analgesic properties, even outperforming diclofenac and ibuprofen at certain doses. Analysis of the extracts revealed the presence of active compounds with antioxidant and anti-sickle cell properties, suggesting their potential role in the recipe's efficacy. The results confirm the traditional use of the three-plant recipe for the treatment of sickle cell disease in the Haut-Sassandra region (Côte d'Ivoire), thus justifying its therapeutic application.

Key words: Oxidative stress, pathophysiology, sickle cell disease, anti-hemolytic activity, anti-inflammatory, analgesic.