



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 : 2022-2023

N° D'ORDRE : 080

CANDIDAT

Nom : SORO

Prénom : M'béfèhè

# THESE DE DOCTORAT

**Mention : Biologie-santé**

**Spécialité : Biochimie et Pharmacologie des  
Substances Naturelles**

**Identification et caractérisation des métabolites  
secondaires inhibiteurs de la polymérisation des  
hémoglobines HbS de *Rhynchospora corymbosa* et de  
*Olax subscorpioïdea* ; plantes utilisées dans la prise  
en charge de la drépanocytose dans la Région du  
Poro (Côte d'Ivoire)**

## JURY

- Président** : M. AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire,  
Université Jean Lorougnon Guédé
- Directeur** : M. ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de  
Conférences, Université Jean Lorougnon Guédé
- Rapporteur** : M. GNAHOUE Goueh, Professeur Titulaire, Ecole Normale  
Supérieure
- Examineur** : M. OKOU Obou Constantin, Maître de Conférences,  
Université Jean Lorougnon Guédé
- Examineur** : Mme THES Pehie Marie épouse SOUMAHORO, Maître de  
Conférences, Université Félix Houphouët Boigny

**Soutenu publiquement  
le : 11 / 11 / 2023**

## TABLE DE MATIERES

	Pages
TABLE DE MATIERES.....	i
DEDICACE.....	vi
AVANT-PROPOS .....	vii
REMERCIEMENTS .....	viii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS .....	xi
LISTE DES TABLEAUX.....	xiv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES .....	2
1. Drépanocytose .....	6
1.1. Définition .....	6
1.2. Evolution de la connaissance et les prises en charge sur la drépanocytose .....	6
1.3. Mode de transmission .....	8
1.4. Hémoglobine, protéine responsable de la pathologie .....	9
1.5. Génotypes de la drépanocytose.....	11
1.5.1. Génotype asymptomatique, à transmission possible à la descendance.....	11
1.5.2. Génotypes symptomatiques les plus fréquents considérés comme maladies drépanocytaires.....	12
1.5.2.1. Génotype HbS-HbS (drépanocytose homozygote ; SS) : forme la plus fréquente .....	12
1.5.2.2. Génotype HbS-HbC : hétérozygotie composite SC .....	12
1.5.2.4. Génotype S $\beta$ -thalassémie : hétérozygotie composite S $\beta$ thalassémie.....	13
1.6. Physiopathologie.....	13
1.6.1. Polymérisation.....	14
1.6.2. Falciformation .....	15
1.6.3. Inflammations.....	15

1.6.4. Anémie .....	16
1.7. Epidémiologie .....	17
1.8. Techniques diagnostiques .....	18
1.9. Symptomatologie .....	19
1.9.1. Facteurs influençant la symptomatologie.....	19
1.9.2. Symptomatologie clinique.....	20
1.9.2.1. Hémogramme .....	20
1.9.2.2. Crises vaso-occlusives .....	23
1.9.2.3. Sensibilité aux infections.....	24
1.9.2.4. Manifestations chroniques de la drépanocytose .....	25
1.10. Prévention de crise de la drépanocytose .....	26
1.11. Prises en charge de la drépanocytose .....	27
1.11.1. Prises en charge modernes .....	27
1.11.2. Prise en charge traditionnelle .....	27
1.11.2.1. Prise en charge traditionnelle de la drépanocytose en Afrique et en Côte d'Ivoire .....	28
1.11.2.2. Quelques médicaments traditionnellement améliorés utilisés en Afrique..	28
1.11.2.3. Quelques recettes utilisées en Côte d'Ivoire.....	29
2. Pharmacologie des plantes.....	30
2.1. <i>Rhynchospora corymbosa</i> .....	31
2.1.1. Position systématique et taxonomie .....	32
2.1.2. Utilisation traditionnelle de <i>Rhynchospora corymbosa</i> .....	32
2.2. <i>Olox subscorpioïdea</i> .....	33
2.2.1. Position systématique et taxonomie .....	33
2.2.2. Utilisation traditionnelle de <i>Olox subscorpioïdea</i> .....	34
2.2.3. Etude pharmacologique de <i>Olox subscorpioïdea</i> .....	36
3. Métabolites secondaires.....	38

3.1. Alcaloïdes .....	38
3.1.1. Présentation des alcaloïdes .....	38
3.1.2. Rôle .....	38
3.2. Terpenoïdes .....	39
3.2.1. Présentation des terpenoïdes .....	39
3.2.2. Rôle .....	40
3.3. Composés polyphénols .....	40
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES .....	43
1. Matériel.....	44
1.1. Matériel biologique .....	44
1.2. Produits et consommables.....	45
1.3. Matériel de laboratoire .....	46
2. Méthodes .....	48
2.1. Préparation des extraits végétaux.....	48
2.1.1. Obtention de la poudre des différentes parties de l'étude de chaque plante....	48
2.1.2. Préparation des décoctions .....	48
2.1.3. Rendement des extractions.....	48
2.2. Etudes phytochimiques des métabolites secondaires .....	49
2.3. Tests de toxicité .....	54
2.3.1. Toxicité aiguë.....	54
2.3.2. Toxicité subaiguë .....	55
2.3.2.1. Paramètres zootechniques.....	55
2.3.2.2. Paramètres hématologiques et biochimiques.....	56
2.3.2.3. Histopathologique des organes .....	63
2.4. Inhibition de la falciformation et de la polymérisation des hémoglobines SS par les extraits de <i>Rhynchospora corymbosa</i> et de <i>Olax subscorpiöidea</i> .....	63
2.4.1. Test d'inhibition de la falciformation.....	63

2.4.1.1. Principe.....	63
2.4.1.2. Protocole.....	63
2.4.2. Tests d'inhibition de la polymérisation.....	65
2.4.2.1. Préparation de la solution tampon phosphate salin (PBS).....	65
2.4.2.2. Préparation de la solution de métabisulfite de sodium à 2 %.....	65
2.4.2.3. Collecte et préparation des hémolysât.....	65
2.4.2.4. Tests d'inhibition de la polymérisation.....	65
2.5. Potentialités antianémique, antiinflammatoire et analgésique de chaque extrait <i>Rhynchospora corymbosa</i> ou <i>Olox subscorpioïdea</i> .....	66
2.5.1. Détermination de l'activité antianémique.....	66
2.5.1.1. Principe.....	66
2.5.1.2. Protocole.....	66
2.5.1.3. Paramètres zootechniques.....	67
2.5.1.3.1. Poids moyen (PM).....	67
2.5.1.3.2. Gain Moyen Quotidien (GMQ).....	68
2.5.1.4. Détermination des paramètres hématologiques des rats traités.....	68
2.5.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	68
2.5.2.1. Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat à la carragénine.....	68
2.5.3. Détermination de l'activité analgésique.....	70
2.5.3.1. Principe.....	70
2.5.3.2. Protocole.....	70
2.6. Analyses statistiques.....	71
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION.....	72
1. Résultats.....	73
1.1. Rendement des extraits.....	73
1.2. Tri phytochimique des plantes des extraits DRC ou DOSA.....	73
1.3. Teneur en certains composés d'intérêt.....	75

1.4. Toxicité .....	75
1.4.1. Toxicité aiguë .....	75
1.4.1.1. Poids moyen des rats suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA) ....	75
1.4.2. Toxicité subaiguë .....	76
1.4.2.1. Poids moyen des rats suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA) ....	76
1.4.2.2. Gain moyen quotidien suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA)..	77
1.4.2.3. Paramètres hématologiques suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA) .....	79
1.4.2.4. Paramètres biochimiques suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA) .....	82
1.4.2.5. Poids relatifs des organes suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA) .....	85
1.4.2.6. Coupes histologiques des organes suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSAs).....	86
1.5. Effets anti-drépanocytaire <i>in vitro</i> d'inhibition de la falciformation et de la polymérisation des hémoglobines SS des extraits DRC ou DOSA .....	93
1.5.1. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	93
1.5.1.1. Analyse morphologique des érythrocytes en présence du métabisulfite, du DRC ou du DOSA .....	93
1.5.1.2. Effets inhibiteurs des extraits DRC ou DOSA et la phénylalanine sur la falciformation des globules rouges .....	98
1.5.1.3. Taux d'inhibition de la falciformation .....	103
1.5.2. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la polymérisation.....	105
1.5.2.1. Evolution de l'inhibition de la polymérisation .....	105
1.5.2.2. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines SS .....	108
1.6. Effets antianémiques, antiinflammatoires et analgésiques des extraits DRC ou DOSA .....	109

1.6.1. Effets antianémiques des extraits DRC ou DOSA .....	109
1.6.1.1. Effet des extraits DRC ou DOSA sur des paramètres zootechniques .....	109
1.6.2. Effets anti-inflammatoires des extraits DRC ou DOSA.....	129
1.6.2.1. Epaisseurs des œdèmes.....	130
1.6.2.2. Taux d'augmentation des œdèmes des pattes des rats.....	132
1.6.2.3. Taux d'inhibition des œdèmes des pattes des rats.....	134
1.6.3. Effets analgésiques des extraits DRC ou DOSA.....	135
1.6.3.1. Effets des extraits DRC ou DOSA sur le nombre de contorsions abdominales .....	135
1.6.3.2. Effets anti-douleur par des extraits DRC ou DOSA.....	137
2. DISCUSSION.....	138
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	150
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	131
ANNEXES .....	180a
PUBLICATION .....	181b

## **DEDICACE**

Je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a donné et continué de me donner la santé, la force, le courage et la patience pour surmonter toutes les épreuves qui se présentent à moi et qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à la mémoire de mon père, feu SORO Nongôpélé.

Je dédie également ce travail à ma mère, TUO Fèrêlaha, pour ses prières, son soutien moral et sa confiance en moi. Que Dieu, le Tout-Puissant, te protège et te procure la santé et le bonheur.

Je n'oublie pas mon oncle, feu SORO Zalo.

## AVANT-PROPOS

Cette étude réalisée sous la direction du Docteur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de conférences au Laboratoire d'Agrovalorisation de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, vise à valoriser les espèces végétales utilisées dans la prise en charge de la drépanocytose en milieu traditionnel en Côte d'Ivoire. Elle porte sur l'identification et la caractérisation des métabolites secondaires inhibiteurs de la polymérisation des hémoglobines HbS de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea*, plantes employées dans le traitement de la drépanocytose dans la région du Poro.

Ces travaux ont débuté en 2019 et ont été menés en partenariat avec plusieurs centres et institutions de recherche, dont l'Université Felix Houphouët Boigny (UFHB), l'Université Péléforo Gbon Coulibaly (UPGC), l'Université Nangui Abrogoua (UNA), l'Institut de Gestion Agropastorale (IGA), le Comité National d'éthique des Sciences de la vie et de la Santé (CNESVS ref : 044-21/MSHP/CNESVS-Km), l'Unité d'hématologie clinique du service d'Immuno-hématologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Cocody, le Laboratoire de Physique et Chimie de l'Université de Cocody, le Laboratoire Interdépartemental d'Analyse et de Recherche Côte d'Ivoire (LIDAL-CI) d'Abidjan.

Dans cette étude, nous avons évalué la toxicité des extraits des espèces végétales *Rhynchospora corymbosa* et *Olax subscorpioïdea* chez les rats, ainsi que leurs activités antidrépanocytaires *in vitro* sur le sang des sujets de génotypes SS et leurs activités antianémique, antiinflammatoire et analgésique *in vivo* sur des rats et des souris.

## REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements à ceux qui ont participé à notre formation et à la rédaction de ce mémoire, notamment à :

- Madame ADOHI Epouse KROU Viviane, Professeur Titulaire de Physique Atomique et Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa pour son enseignement, ses conseils, et tout le travail abattu au sein de l'Université ;
- Monsieur SORO Dogniméton, Professeur Titulaire d'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 ses conseils et le travail qu'il abat au sein de l'Université ;
- Monsieur KONE Issiaka, Professeur Titulaire de Sociologie des organisations et Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa en charge de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures, pour son aide, ses enseignements, ses conseils et le travail qu'il abat au sein de l'Université ;
- Madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences de Phytopathologie et Directrice de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour tous les efforts consentis, afin d'assurer ma formation.

Je remercie Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie et Nutrition et Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation d'avoir autorisé l'accès et l'utilisation des salles et du matériel lors des travaux dans le Laboratoire ;

Nous tenons à exprimer particulièrement notre reconnaissance à :

- Monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire de Génétique à l'Université Jean Lorougnon Guédé pour avoir accepté de présider le jury de cette soutenance de thèse.
- Monsieur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie et le Directeur Scientifique de cette thèse, Responsable de la filière Biologie Santé de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour sa générosité, ses conseils, sa disponibilité et surtout son efficacité à résoudre les problèmes. Merci cher maître d'avoir accepté de diriger ce travail ;
- Monsieur GNAHOUE Goueh, Professeur Titulaire de Biochimie-Microbiologie à l'Ecole Normale Supérieure d'avoir accepté d'instruire cette thèse, Monsieur OKOU Obou Constantin, Maître de Conférences de Biochimie-Pharmacologie des Substances Naturelles à l'Université Jean Lorougnon Guédé et Madame THES Pehie Marie épouse SOUMAHORO, Maître de

Conférences de Biochimie-Microbiologie à l'Université Félix Houphouët Boigny pour avoir accepté de juger ce travail ;

- Monsieur AKAKPO Akue Joel, Maître de Recherches en Biochimie-Microbiologie à l'Université Félix Houphouët Boigny pour sa confiance, sa rigueur au travail, sa disponibilité et ses conseils utiles dans les travaux de Laboratoire et dans la conception de ce mémoire.

Nous remercions également Monsieur GBOGBO Moussa, Maître de Conférences de Toxicologie à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa pour sa confiance, sa rigueur au travail, sa disponibilité et ses conseils utiles lors de la réalisation des tests de toxicité et dans la conception de ce mémoire ;

- Monsieur SANOGO Ibrahima, Professeur Titulaire de Hématologie et anciennement Responsable de l'unité d'Hématologie Clinique dans le service d'Immuno- Hématologie du CHU de Cocody pour l'accès aux services et à la réalisation des tests anti-drépanocytaires.

- Monsieur KOFFI Gustave, Professeur Titulaire d'Hématologie et Responsable de l'unité d'Hématologie Clinique dans le service d'Immuno- hématologie du CHU de Cocody pour l'accès au laboratoire afin de réaliser le test anti drépanocytaire ;

- Monsieur SEKONGO Yassongui Mamadou, Maître de Recherche de Hématologie et Directeur du Centre National de Transfusion Sanguine de Treichville de nous avoir mis en contact avec l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;

- Monsieur TUO Adama Diarrassouba, Maître de Recherche de Chimie et Physique et Chef du Département Environnement du Centre de Recherches Océanologique d'Abidjan de nous avoir mis en contact avec le Centre National de Transfusion Sanguine de Treichville ;

- Tous les enseignants de l'Université Jean Lorougnon Guédé en particulier les enseignants de la filière Biologie Santé pour la qualité de la formation et leur disponibilité ;

- Monsieur LORIS Georges Enara, Infirmier de Science des maladies génétiques/hémoglobino-pathie-drépanocytose du Centre diagnostique de Libreville (Congo) de nous avoir mis en contact avec la ADCI (Association des Drépanocytaires et Thalassémiques de Côte d'Ivoire) ;

- Madame FONDIO Maïmouna, Présidente de la ADCI (Association des Drépanocytaires et Thalassémiques de Côte d'Ivoire) de nous avoir mis en contact avec l'unité d'Hématologie Clinique dans le service d'Immuno- hématologie du CHU de Cocody ;

- Madame SORO Afsata, Assistante Sociale du Lycée Classique d'Abidjan pour le soutien financier et moral pendant mon parcours scolaire dans le Lycée ;

- Madame Gueï Rose, Professeur de Histoire et Géographie du Lycée Classique d'Abidjan pour le soutien financier et moral pendant mon parcours scolaire dans le Lycée.

Nos remerciements vont également à l'endroit de ma famille pour leurs prières, leurs aides financières et leurs conseils qui nous ont permis d'arriver jusqu'à ce niveau :

- ma mère TUO Fèrèlaha ;
- mon oncle SORO Ali ;
- mes grands frères SORO Donafologo Kassoum et SORO Abou ;
- mes grandes sœurs SORO Ténin, SORO Ténivoungognon et SORO Nakpa ;
- mes neveux SORO Baba et de OUATTA Inza ;
- mes nièces OUATTARA Mariam et de OUATTARA Awa.

Nos remerciements vont également à l'endroit de certaines personnes qui ont joué un rôle important dans la réalisation de ce travail :

- aux tradipraticiens qui nous ont fourni les recettes lors de l'enquête ethnobotanique en me donnant leurs recettes : M. SORO Adama, M. BAMBAMBA Issouf et COULIBALY Karim.
- mon tuteur d'Anyama M. SILUE Nadin et ses enfants SILUE Lacina, SILUE Mariam, SILUE Assetou, SILUE Fatoumata et M. SILUE Aïcha et à ses petit fils SORO Adama et SORO Seydou pour leur soutien et leur hospitalité ;
- à mon tuteur de Daloa M. COULIBALY Abdoulaye et son épouse GBAYORO Marie Laure et ses enfants pour leur soutien et leur hospitalité ;
- à mon tuteur de Korhogo M. SILUE Djakaridja et son épouse Mme SEKONGO Awa pour leur soutien et leur hospitalité ;
- à madame KPLE Tatiana épouse COULIBALY, SIBRI Jean François, TOURE Gouanin Larissa, RABE Danielle Axelle Olivia et OUATTARA Wayoforo pour leur soutien et leurs conseils.
- aux étudiants de Biologie Santé pour leur soutien et leur solidarité.
  
- à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

- CA : *Calotropis procera*
- DOSA : Décocté de la partie Aérienne de *Olax Subscorpioïdea*
- DRC : Décocté de *Rhynchospora Corymbosa*
- EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique
- ETA : Extrait Total Aqueux
- FA : Fagara zanthoxyloïdes
- FeCl<sub>3</sub> : chlorure ferrique
- Hb : Hémoglobine
- HbAA : Hémoglobine A
- Hb F : Hémoglobine foetale
- HbS : Hémoglobine S
- HCl : Chlorure d'Hydrogène
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide sulfurique concentré
- DOSA : Décocté de la partie aérienne de *Olax Subscorpioïdea*
- DRC : Décocté de *Rhynchospora Corymbosa*
- NaCl : Chlorure de sodium
- NIPRD : National Institute for Pharmaceutical Research and Development
- OILD : Organisation Internationale de Lutte contre la Drépanocytose
- PDR : Pourcentage de Drépanocytes Résiduels
- pH : Potentiel d'hydrogène
- TDR : Taux de Drépanocytoses Résiduels
- UEA : Union des Etats Africains
- PHZ : Phénylhydrazine
- VEGF : Croissance endothéliale vasculaire facteur
- EGF : Facteur de croissance épidermique
- TNF- $\alpha$  : Facteur de nécrose tumorale  $\alpha$
- AChE : Acétylcholinestérase
- BChE : Butyrylcholinestérase
- SNC : Système Nerveux Central
- GABA : Acide gamma-aminobutyrique
- ABTS : Acide 2, 2-azino-bis-3-éthylbenthiazoline-6-sulfonique
- TBARS : Substances réactives de l'acide thiobarbiturique

DPPH : Diphényl-2-picryl-hydrazyl  
NO : Oxyde Nitrique  
GSH : Glutathion  
SOD : Superoxyde Dismutase  
MDA : Malondialdéhydes  
FRAP : Antioxydant réducteur ferrique  
ADN : Acide Désoxyribonucléique  
ESR : Sédimentation des érythrocytes  
CCl<sub>4</sub> : Tétrachlorure de carbone  
GGT : Gamma-glutamyl Transférase  
ATP : Adénosine Triphosphate  
MST : Maladies Sexuellement Transmissibles  
NIPRD : National Institute for Pharmaceutical Research and Development  
HTAP : Hypertension Artérielle Pulmonaire  
STA : Symptômes Thorastiques Aigus  
LDH : Lactate Déshydrogénase  
HPRT : Hémolyse post transfusionnelle retardée  
SNP : Single Nucleotide Polymorphism  
MSHP : Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique  
OMS : Organisation Mondiale pour la Santé  
FAO : Organisation des nations unis pour l'alimentation et l'agriculture  
CVO : Crises Vaso-occlusives  
DPG : 2,3-Diphosphoglycérate  
AA : Acides Aminés

## LISTE DES TABLEAUX

Pages

<b>Tableau I</b> : Utilisations traditionnelles de la plante entière de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	34
<b>Tableau II</b> : Utilisations traditionnelles de différentes parties de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	35
<b>Tableau III</b> : Etudes pharmacologiques sur la plante entière de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	36
<b>Tableau IV</b> : Etudes pharmacologiques sur différentes parties de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	37
<b>Tableau V</b> : Rendement des extraits de <i>Rhynchospora corymbosa</i> et de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	73
<b>Tableau VI</b> : Criblage phytochimique préliminaire des extraits aqueux de <i>Rhynchospora corymbosa</i> et de <i>Olax subscorpioïdea</i> .....	74
<b>Tableau VII</b> : Dosage des composés chimiques .....	75
<b>Tableau VIII</b> : Poids moyen des rats .....	77
<b>Tableau IX</b> : Paramètres hématologiques des rats traités par l'extrait DRC .....	80
<b>Tableau X</b> : Paramètres du sang des rats traités par l'extrait DOSA .....	81
<b>Tableau XI</b> : Paramètres biochimiques liés au foie des rats traités par l'extrait DRC .....	83
<b>Tableau XII</b> : Paramètres biochimiques liés au foie des rats traités par l'extrait DOSA .....	83
<b>Tableau XIII</b> : Paramètres biochimiques liés aux reins des rats traités par l'extrait DRC.....	84
<b>Tableau XIV</b> : Paramètres biochimiques liés aux reins des rats traités par l'extrait DOSA ..	85
<b>Tableau XV</b> : Poids relatif des organes des rats traités par les extraits DRC ou DOSA .....	86
<b>Tableau XVI</b> : Taux d'inhibition de la falciformation des globules rouges par l'extrait DRC .....	103
<b>Tableau XVII</b> : Taux d'inhibition de la falciformation des globules rouges par l'extrait DOSA .....	104
<b>Tableau XVIII</b> : Pourcentage d'inhibition de la falciformation des globules rouges par la phénylalanine .....	104
<b>Tableau XIX</b> : Taux d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines par l'extrait DRC .....	108
<b>Tableau XX</b> : Taux d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines par l'extrait DOSA .....	109
<b>Tableau XXI</b> : Poids moyens des rats des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	110
<b>Tableau XXII</b> : Gains moyens quotidiens des rats des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins .....	112

<b>Tableau XXIII :</b> Taux de globules rouges des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins .....	115
<b>Tableau XXIV :</b> Taux d'hématocrite des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	116
<b>Tableau XXV :</b> Taux d'hémoglobine des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	117
<b>Tableau XXVI :</b> Taux du VGM des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins .....	118
<b>Tableau XXVII :</b> Taux du TCMH des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	119
<b>Tableau XXVIII :</b> Taux du CCMH des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	120
<b>Tableau XXIX :</b> Taux de plaquette des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	121
<b>Tableau XXX :</b> Taux de globule blanc des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	123
<b>Tableau XXXI :</b> Taux de neutrophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	124
<b>Tableau XXXII :</b> Taux de lymphocyte des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins .....	125
<b>Tableau XXXIII :</b> Taux de monocyte des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	126
<b>Tableau XXXIV :</b> Taux d'éosinophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins .....	127
<b>Tableau XXXV :</b> Taux de basophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins.....	128
<b>Tableau XXXVI :</b> Taux d'inhibition des œdèmes des pattes des rats traités par les extraits DRC ou DOSA.....	134
<b>Tableau XXXVII :</b> Pourcentages d'inhibitions de la douleur des extraits DRC ou DOSA sur les contorsions abdominales induites chez les souris après l'injection de l'acide acétique ...	137

## LISTE DES FIGURES

Pages

<b>Figure 1</b> : Risques d'avoir un enfant drépanocytaire ou non .....	9
<b>Figure 2</b> : Schéma représentatif de la structure tridimensionnelle d'une molécule d'hémoglobine .....	10
<b>Figure 3</b> : Synthèse de la globine au cours de l'ontogenèse .....	11
<b>Figure 4</b> : Profils drépanocytaires les plus fréquents .....	13
<b>Figure 5</b> : Photographie représentant des globules rouges normaux biconcaves et des globules rouges falciformés .....	18
<b>Figure 6</b> : Récapitulation sur les différents types d'anémies .....	23
<b>Figure 7</b> : Schéma récapitulatif de l'interaction des différents processus entre eux .....	26
<b>Figure 8</b> : Plante entière de <i>Rhynchospora corymbosa</i> .....	31
<b>Figure 9</b> : Fruits et feuilles de <i>Rhynchospora corymbosa</i> .....	31
<b>Figure 10</b> : Plante de <i>Olax subscorpioides</i> .....	33
<b>Figure 11</b> : Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'évolution des poids moyens des rats ....	76
<b>Figure 12</b> : Effets de l'extrait DRC sur l'évolution du gain moyen quotidien des rats.....	78
<b>Figure 13</b> : Effets de l'extrait DOSA sur l'évolution du gain moyen quotidien des rats .....	78
<b>Figure 14</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du foie de rat témoin.....	87
<b>Figure 15</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du foie de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC.....	88
<b>Figure 16</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du foie de rat témoin.....	88
<b>Figure 17</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du foie de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC.....	89
<b>Figure 18</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein témoin.....	90
<b>Figure 19</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/Kg .....	91
<b>Figure 20</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat témoin.....	91
<b>Figure 21</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC.....	92
<b>Figure 22</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat témoin.....	92
<b>Figure 23</b> : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC.....	93
<b>Figure 24</b> : Globules rouges sous la forme normale (arrondie).....	95
<b>Figure 25</b> : Globules rouges falciformés avec le métabisulfite de sodium (2 %) .....	95

<b>Figure 26</b> : Etat des érythrocytes avec le DRC à la concentration 0,31 mg/mL .....	96
<b>Figure 27</b> : Etat des érythrocytes avec le DOSA à la concentration 0,31 mg/mL.....	96
<b>Figure 28</b> : Etat des érythrocytes avec la phénylalanine à la concentration 0,31 mg/mL .....	97
<b>Figure 29</b> : Globules rouges en turgescence pendant l'hémolyse à la concentration 0,62 mg/mL de DOSA ou DRC .....	97
<b>Figure 30</b> : Globules rouges après l'hémolyse totale aux différentes concentrations de 1,25 ; 2,5 ; 5 à 10 de DOSA ou DRC .....	98
<b>Figure 31</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 0,31 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	99
<b>Figure 32</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 0,62 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	100
<b>Figure 33</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 1,25 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	101
<b>Figure 34</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 1.25 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	101
<b>Figure 35</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 5 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	102
<b>Figure 36</b> : Effet <i>in vitro</i> de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 10 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges .....	102
<b>Figure 37</b> : Effet <i>in vitro</i> de l'extrait DRC sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines .....	106
<b>Figure 38</b> : Effet <i>in vitro</i> de l'extrait DOSA sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines .....	107
<b>Figure 39</b> : Vue de face de la patte postérieure œdémateuse après l'injection de carragénine .....	129
<b>Figure 40</b> : Vue de dos de la patte postérieure œdémateuse de rat après l'injection de la carragénine .....	130
<b>Figure 41</b> : Variations des épaisseurs des œdèmes des pattes des rats traités par le DRC....	131
<b>Figure 42</b> : Variations des épaisseurs des œdèmes des pattes des rats traités par le DOSA .	132
<b>Figure 43</b> : Variation du pourcentage d'augmentation des œdèmes des pattes des rats traités par l'extrait DRC .....	133
<b>Figure 44</b> : Variation du pourcentage d'augmentation des œdèmes des pattes des rats traités par l'extrait DOSA .....	133
<b>Figure 45</b> : Activité analgésique par les extraits DRC ou DOSA .....	136

# **INTRODUCTION**

La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie héréditaire, due à une mutation génétique, située sur le chromosome 11, codant pour la chaîne  $\beta$ -globine (Ingram, 1956 ; Marotta *et al.*, 1977). Le gène muté s'exprime sous la forme d'hémoglobine S (Hb S), une hémoprotéine majoritairement présente dans les globules rouges des sujets drépanocytaires. Elle a la propriété de former des polymères lorsque la pression partielle en oxygène diminue. On explique la polymérisation de l'hémoglobine S par le fait que l'acide glutamique normalement hydrophile est remplacé par une valine hydrophobe en position 6 de la globine (Murayma, 1966). La polymérisation de l'hémoglobine est un processus très complexe. Cette polymérisation entraîne la falciformation des globules rouges (Huynh-Moynot, 2011). Ces globules rouges ainsi falciformés perdent alors leur élasticité et sont incapables de se déformer pour traverser les micro-vaisseaux sanguins dont le diamètre est inférieur au leur. Rigides, ils restent bloqués dans les capillaires sanguins et les obstruent, ce qui entraîne des ischémies locales et des crises vaso-occlusives particulièrement douloureuses dont la répétition entraîne des risques d'atteinte grave des différents organes (Hierso, 2015). Ainsi la drépanocytose est donc un véritable problème de santé publique. Elle est source de complications anémiques, ischémiques et infectieuses. Les syndromes thoraciques aigus et les infections sont les principales sources de morbidité et de mortalité chez les personnes souffrant de la drépanocytose (Souannavong, 2017). Les infections sont d'une part responsables d'une part importante de la morbidité et de mortalité de la drépanocytose entraînant environ 20 % à 50 % des décès (Kafando *et al.*, 2008). Mais, il faut noter que ces complications s'expliquent par la diminution précoce du taux des immunoglobulines, la diminution de la tuftsine, de la properdine et du complément du composant (C3c).

Subséquentement, l'estimation mondiale de sujets atteints de la drépanocytose est d'environ 5 millions (sujets homozygotes) et 200 millions de plus sont porteurs du trait drépanocytaire (sujets hétérozygotes) (Rasolofonirina, 2019). Par ailleurs, chaque année, plus de 500 000 enfants drépanocytaires naissent dans le monde, dont 300 000 en Afrique. En l'absence de prise en charge appropriée, la moitié des enfants drépanocytaires meurent en Afrique avant l'âge de 5 ans (Aubry & Gaüzère, 2019). Selon la fondation LYA (2019), en Côte d'Ivoire, la prévalence de la drépanocytose est de 14 % du trait drépanocytaire (AS) avec 4 % de forme majeure (SS, SC...) et on dénombre entre 6000 et 8000 cas détectés chaque année à la naissance dont 60 à 70 % meurent avant l'âge de 5 ans.

S'agissant des traitements, ils sont majoritairement préventifs et palliatifs. Leur but est de limiter l'apparition des crises cliniques et de réduire le taux d'hémoglobine S dans le sang.

Même s'ils ne garantissent pas leur absence de survenue, notamment des crises vaso-occlusives et l'anémie chronique. Il s'agit plus particulièrement de l'hydroxy urée, la transfusion sanguine. De plus, à l'heure actuelle, il est à retenir que seule l'allogreffe de la moelle osseuse (thérapie génique) est le seul traitement curatif de la drépanocytose (Mattioni *et al.*, 2016). Il est à ajouter que les options thérapeutiques proposées pour lutter contre la drépanocytose présentent des effets secondaires et ne sont pas souvent accessibles aux populations surtout à faibles revenus. Pour les besoins de santé, les populations sont obligées de se tourner vers les plantes médicinales pour leur traitement qui soulage le plus souvent. La drépanocytose est un cas dont la population a de plus en plus recours à la médecine traditionnelle pour se soulager. Ainsi, de nombreuses études ont été menées pour évaluer de façon scientifique l'innocuité, l'efficacité et la qualité de certaines espèces végétales issues de la médecine traditionnelle. Par exemple, des études ont été effectuées pour évaluer l'effet de certaines espèces végétales sur des crises associées à des douleurs vives (Sofowora, 1985 ; Wambebe *et al.*, 2001 ; Sibinga *et al.*, 2006) et pour évaluer l'activité antifalcémiant de certaines espèces végétales (Mpiana *et al.*, 2016). Selon Rosales-Mendoza *et al.* (2020), l'exploitation des cellules végétales offre la possibilité de produire des vaccins peu coûteux et efficaces. Cette assertion a poussé notre équipe de recherche à faire des investigations durant la période de Novembre à Décembre 2020 sur les Plantes médicinales utilisées dans la Région du Poro (Korhogo, Nord de la Côte d'Ivoire) dans la prise en charge de la drépanocytose. Ainsi après des enquêtes, Les espèces végétales telles que *Rhynchospora corymbosa* et *Olox subscorpioïdea* ont été retenues car elles étaient les plus sollicitées pour la préparation des recettes contre cette pathologie. Notre équipe de recherche a décidé de poser les bases scientifiques de son utilisation.

En effet, les travaux précédents de Soro *et al.*, 2021 ont révélé que les espèces *Rhynchospora corymbosa* et *Olox subscorpioïdea* avaient des activités anti-drépanocytaires à cause de la présence des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les saponines, les alcaloïdes, les polytérpénoïdes, les flavonoïdes, les tanins et les leuco-anthocyanes. La présence de ces-dits composés expliquerait en partie l'action de la réversion des drépanocytes. Par conséquence, il est possible de se demander si :

- les activités anti-drépanocytaires des métabolites secondaires de *Rhynchospora corymbosa* et *Olox subscorpioïdea* sont liées à leurs actions sur l'inhibition de la polymérisation ?

Les activités anti-drépanocytaires des métabolites secondaires de *Rhynchospora corymbosa* et *Olox subscorpioïdea* sont-elles liées à leurs actions sur l'inhibition de la polymérisation ?

- l'utilisation prolongée et continue de ces recettes médicamenteuses constituées de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* ne produit pas d'effets délétères sur la santé des utilisateurs ?

C'est pour répondre à ces questions que les interrogations que cette étude a amenées. Elle vise de manière générale à valoriser l'utilisation de certaines plantes médicinales en milieu traditionnel ivoirien en particulier et africain en général. Elle permet d'évaluer certaines propriétés pharmacologiques et toxicologiques des plantes médicinales singulièrement *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea*.

De façon spécifique :

- déterminer les métabolites secondaires susceptibles d'être à la base de cette activité anti-drépanocytaires dans *Rhynchospora corymbosa* et *Olax subscorpioïdea* ;
- évaluer les toxicités aiguë et subaiguë de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* ;
- déterminer les activités de ces métabolites secondaires sur l'inhibition de la falciformation et de la polymérisation des hémoglobines SS ;
- étudier l'activité antianémique, antiinflammatoire et analgésique de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* chez les rats et les souris.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties. La première partie porte principalement sur les généralités sur la drépanocytose, la pharmacologie des plantes médicinales et les métabolites secondaires. La deuxième présente le matériel et les méthodes utilisées. La troisième est consacrée à la présentation des résultats obtenus et à les discuter. Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion et des perspectives.

**PREMIERE PARTIE :**  
**GENERALITES**

## 1. Drépanocytose

### 1.1. Définition

La drépanocytose (du grec « drépanos » signifie « faucille ») (Tohoubi, 2015).

Elle est très fréquente dans les populations de l'Afrique Subsaharienne (Mattioni *et al.*, 2016). La drépanocytose ou anémie falciforme est une affection génétique héréditaire grave à transmission autosomale récessive dans laquelle les globules rouges prennent la forme de faucille au lieu de leur forme normale de disque. C'est une hémoglobinopathie due au remplacement de l'acide glutamique par la valine en position six de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine. Cette substitution modifie son affinité pour l'oxygène et sa solubilité dans les conditions de faible pression d'oxygène. La baisse de la solubilité entraîne la polymérisation et la falciformation des globules (Huynh-Moynot, 2011).

Deux mécanismes principaux sont impliqués dans la physiopathologie de la drépanocytose : il s'agit de la polymérisation de la déoxy-HbS à l'origine de l'anémie hémolytique et de l'adhésion de la membrane érythrocytaire à l'endothélium initiant la vaso-occlusion (Habibi *et al.*, 2007).

Le seul traitement curatif est la greffe de moelle. Cette approche thérapeutique très spécialisée, nécessite un personnel formé, une infrastructure adéquate et des moyens financiers. Pour toutes ces raisons, cette technique n'est pas pratiquée actuellement en Afrique Subsaharienne. Seuls des traitements symptomatiques y sont donc disponibles (transfusions sanguines, antidouleurs et inducteur de l'hémoglobine fœtale, hydroxy urée). L'hydroxy urée est une molécule qui induit la synthèse d'hémoglobine fœtale et par conséquent permet de réduire la polymérisation de l'HbS, point de départ de la maladie.

### 1.2. Evolution de la connaissance et les prises en charge sur la drépanocytose

La mutation drépanocytaire serait apparue entre 1100 et 200 ans avant J.-C en Afrique et en Asie. C'est le déplacement des populations et la traite des esclaves, à partir du VII<sup>ème</sup> siècle qui vont être responsables de l'extension géographique de cette hémoglobine S, en particulier vers l'Amérique et l'Europe. Dans les années 1800, VON Jaksch découvre à Prague une anémie non leucémique chez un enfant de 14 mois porteur d'une splénomégalie et qui mourut avant l'âge de deux ans.

En 1910, James Herrick, médecin de Chicago (Etats unis), fait la première description médicale de la drépanocytose, après avoir examiné un étudiant noir des caraïbes de 24 ans, hospitalisé pour toux et fièvre. Le sujet était faible, avait le vertige et souffrait de maux de tête.

Une année durant, il ressentait des palpitations et un essoufflement comme certains membres de sa famille. L'examen du sang a montré que le malade souffrait d'anémie chronique. Le nombre de ses hématies n'atteignait que la moitié de la valeur normale. L'observation d'un frottis sanguin a montré des hématies inhabituelles en forme de faucille d'acanthé. Les autres dates importantes dans l'étude et les découvertes sur la drépanocytose se déclinent comme suit :

- 1917, le caractère héréditaire de la drépanocytose est évoqué par Emmel (1917) ;
- 1927, Hahn et Gillespie montrent que la déformation en faucille des hématies est due à la désoxygénation de l'hémoglobine ;
- 1933, Diggs évoque deux signes cliniques complètement différents. Des enfants présentant des signes d'anémie sévère et leurs parents asymptomatiques. Il parle alors de « trait » drépanocytaire (Giroto *et al.*, 2003).
- Neel (1947) a décrit ces deux tableaux cliniques différents comme les formes homozygotes et hétérozygotes d'une même anomalie transmise selon les lois mendéliennes (Embury, 1994).
- 1949, Linus Pauling et Harvey Itano, utilisant la nouvelle technique d'électrophorèse ont mis en évidence la migration électrophorétique particulière de l'hémoglobine S, chez des patients ayant la drépanocytose. La même année James Neel démontre que la transmission de cette maladie est mendélienne ;
- 1956, Vernon Ingram montre que l'hémoglobine S ne diffère de l'hémoglobine A que par un acide aminé en position 6, l'acide glutamique remplacé par la valine. C'est la première maladie génétique dont la structure moléculaire est connue ;
- 1970, Chien *et al.* ont montré que la viscosité sanguine chez le drépanocytaire est anormalement élevée, même quand la pression en oxygène est normale ;
- 1973, Eaton *et al.* ont démontré que la perméabilité membranaire des globules rouges HbS est différente de celle de globules rouges HbAA face au calcium ;
- 1978, Tom Maniatis isole l'hémoglobine de la bêta globine ;
- 1980, Yuet Wai Kan met au point un test génétique prénatal de la drépanocytose ;
- Emmel passe de la clinique pure au laboratoire. En décrivant le potentiel de falciformation, réversible *in vitro*, il souligne le rôle prépondérant de la cellule dans la maladie. La particularité des globules aurait une valeur de test diagnostique ;

- 1984, la première transplantation de la moelle chez un enfant a produit la guérison complète. Cette transplantation a été faite pour traiter une leucémie aiguë et la guérison de sa drépanocytose était un événement inattendu (Giro *et al.*, 2003).

### 1.3. Mode de transmission

La drépanocytose est une maladie héréditaire. L'hémoglobine A (hémoglobine normale) est remplacée par l'hémoglobine S. Les personnes héritant de la mutation de la chaîne de la bêta-globine de leurs deux parents, sont homozygotes (SS) et développent la maladie. Celles qui héritent de la mutation d'un de leur parent, soit du père, soit de la mère, sont hétérozygotes (AS) et ne présentent aucun signe de la maladie. Ils peuvent, toutefois, transmettre la mutation à leurs enfants (Woungly, 2016). Cette hémoglobine anormale, appelée hémoglobine S (HbS) a la particularité de se polymériser dans sa forme désoxygénée (lorsqu'elle ne fixe pas l'oxygène), entraînant une déformation du globule rouge en forme de faux (drépanocyte) et une perte de plasticité des globules rouges, avec possibilité de survenue, entre autres, d'occlusions microvasculaires (Lionnet *et al.*, 2009).

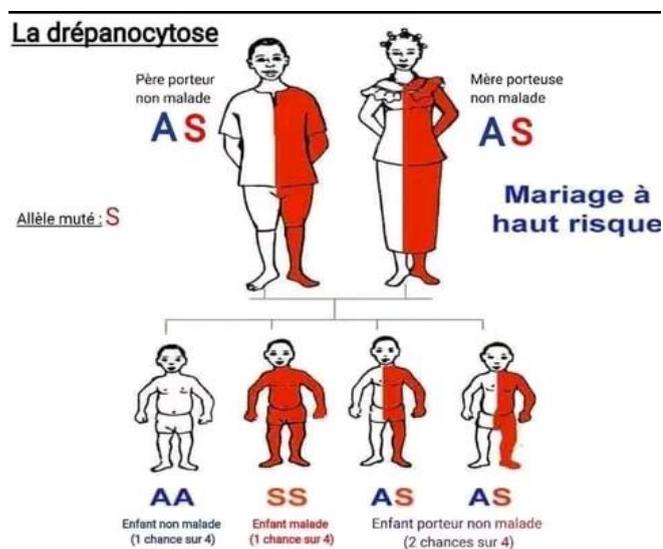
Les drépanocytoses graves sont rencontrées chez les individus homozygotes SS ou les doubles hétérozygotes composites si les individus possèdent l'allèle HbS et une autre hémoglobinopathie, comme l'hémoglobine C ou  $\beta$  thalassémie (Koudougou, 2004).

Les risques d'avoir un enfant drépanocytaire ou un enfant sain porteur d'allèles S :

- un couple AS/AA à un risque de transmission de 50 % du gène S. Les enfants porteurs seront alors tous hétérozygotes AS ;
- un couple AS/AS à un risque de transmission de 75% du gène S. Les enfants porteurs seront alors tous hétérozygotes AS = 50 % et homozygotes SS = 25 % ;
- un couple SS/AA à un risque de transmission de 100 % du gène S. Les enfants porteurs seront alors tous hétérozygotes AS = 100 % ;
- un couple SS/AS à un risque de transmission de 100 % du gène S. Les enfants porteurs seront alors tous hétérozygotes AS = 50 % et homozygotes SS = 50 % ;
- un couple SS/SS à un risque de transmission de 100 % du gène S. Les enfants porteurs seront alors tous homozygotes SS = 100 %.

Le risque de drépanocytaire malade est nul dans les familles où seul un des conjoints est porteur de l'anomalie hémoglobinique. Les parents porteurs d'hémoglobines anormales différentes sont susceptibles de donner naissance à des enfants atteints d'hémoglobinopathies

doubles hétérozygotes dont les expressions cliniques sont liées à la nature des hémoglobines associées (Figure 1).

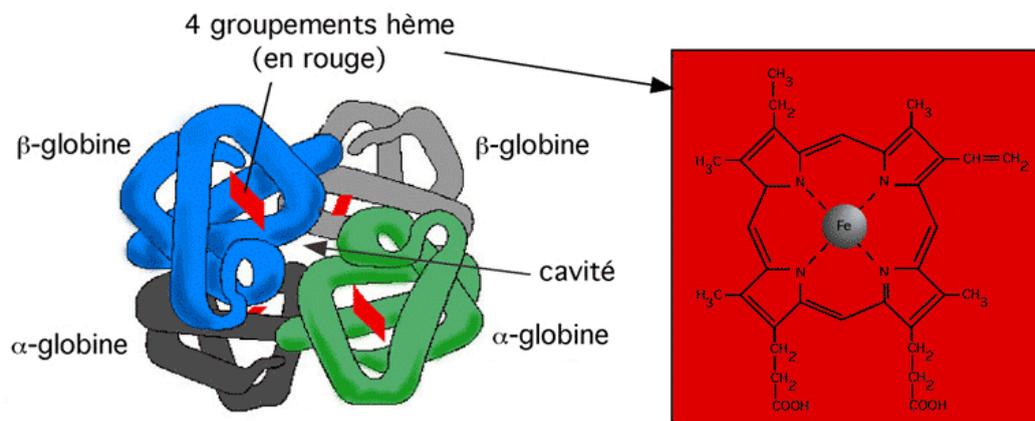


**Figure 1** : Risques d'avoir un enfant drépanocytaire ou non

#### 1.4. Hémoglobine, protéine responsable de la pathologie

La fonction du globule rouge est de transporter l'oxygène, capté lors de la respiration, des poumons vers les autres tissus de l'organisme. Cette fonction est assurée par l'hémoglobine, le principal constituant du globule rouge. Elle représente en effet 30 % de sa masse totale. L'hémoglobine est une protéine de 67 000 daltons. L'hémoglobine est une protéine tétramérique formée de quatre chaînes de globine, chacune couplée à une molécule d'hème.

L'hème est une structure aromatique appelée porphyrine, constituée de 4 noyaux pyrrol, contenant en son centre un ion fer. Le fer établit six liaisons, quatre avec les atomes d'azote de la porphyrine, et deux avec les acides aminés de la globine. Il peut se trouver sous deux formes : le fer ferreux réduit ( $Fe_2$ ) et le fer ferrique oxydé ( $Fe^{3+}$ ). L'hémoglobine contenant le  $Fe_2$  est capable d'établir une liaison réversible avec l' $O_2$  : elle est alors appelée « oxyhémoglobine ». Lorsque le fer est sous sa forme oxydée  $Fe^{3+}$ , on parle de « méthémoglobine ». La méthémoglobine est incapable de transporter l'oxygène. Elle est formée naturellement dans la cellule mais nécessite un système de régulation pour maintenir son taux faible (1 à 2 % de l'hémoglobine totale) (Cordier, 2019) (Figure 2).

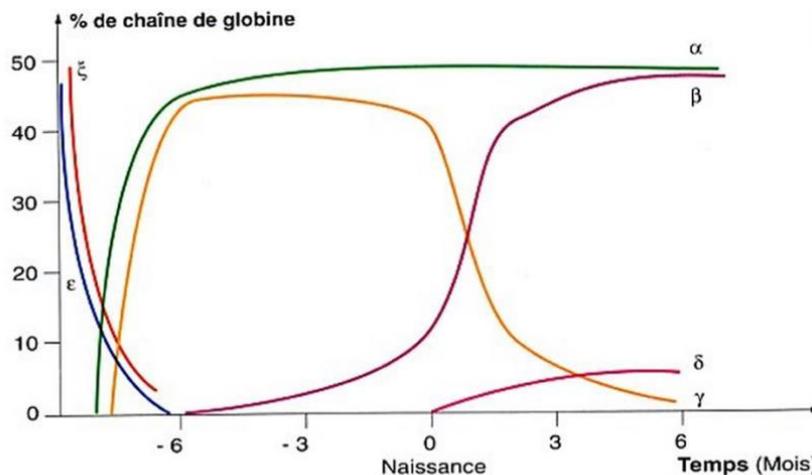


**Figure 2 :** Schéma représentatif de la structure tridimensionnelle d'une molécule d'hémoglobine (Cordier, 2019)

La structure des chaînes de globine  $\alpha$  ou  $\beta$  est très similaire. La structure de la chaîne  $\beta$ -globine qui entre dans la composition de l'Hb adulte majoritaire HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ) est :

- une structure primaire avec une succession de 146 acides aminés ;
- une structure secondaire hélicoïdale ;
- une structure tertiaire avec compaction de l'hélice, de forme globulaire, ménageant en son centre une cavité, lieu de fixation de l'hème et du fer ;
- la structure quaternaire de l'hémoglobine possède un site de fixation pour le 2-3 diphosphoglycérate entre les 2 chaînes  $\beta$  qui assure le passage de la forme oxygénée à la forme désoxygénée, et donc la libération de l'oxygène (effecteur allostérique).

La composition de l'hémoglobine n'est pas la même chez le fœtus, le nouveau-né ou l'adulte. L'Hb fœtale dite HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) est majoritaire chez le fœtus et le nouveau-né (80 % environ). Son taux décroît au cours de la première année de vie, durant laquelle elle est remplacée par l'HbA. Au-delà de la première année de vie. Elle n'est présente qu'à l'état de traces (moins de 1 %). A partir de 1 à 2 ans, la répartition des différentes hémoglobines est la même que chez l'adulte : l'Hb majoritaire est l'HbA (97 % de l'Hb totale). Il existe une fraction minoritaire, l'HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ), de 1,5 à 3 % (Figure 2). En pathologie et notamment dans la drépanocytose, l'HbF persiste au-delà de 1 an (Cordier, 2019) (Figure 3).



**Figure 3 :** Synthèse de la globine au cours de l'ontogenèse (Cordier, 2019)

### 1.5. Génotypes de la drépanocytose

Il existe plusieurs génotypes de la drépanocytose :

- le génotype HbS-HbS (drépanocytose homozygote : SS) possédant deux allèles S ;
- le génotype HbS-HbC (hétérozygotie composite : SC) possédant un allèles S et un allèle C ;
- le génotype HbS-HbD (hétérozygotie composite SD) possédant un allèles S et un allèle D ;
- le génotype Sβ-thalassémie (hétérozygotie composite Sβ thalassémie) possédant un allèles S et un allèle β thalassémie (Giro *et al.*, 2003).

#### 1.5.1. Génotype asymptomatique, à transmission possible à la descendance

Le génotype HbA-HbS (AS) : le trait drépanocytaire (sujet sain portant l'allèle drépanocytaire).

L'hémogramme est normal sans anomalie des globules rouges. Par conséquent, aucun drépanocyte n'est observé chez un sujet porteur du trait drépanocytaire. Toutefois, il est possible d'en observer chez ces patients AS, si le test d'Emmel (test de falciformation) est effectué. Ce test est une technique provoquant la formation de drépanocytes lorsque les globules rouges sont mis en contact avec du métabisulfite de sodium. Il permet, en laboratoire, la mise en évidence rapide d'hémoglobine S (Giro *et al.*, 2003).

## **I.5.2. Génotypes symptomatiques les plus fréquents considérés comme maladies drépanocytaires**

### **I.5.2.1. Génotype HbS-HbS (drépanocytose homozygote ; SS) : forme la plus fréquente**

Le patient a hérité de l'allèle de l'hémoglobine S de chacun de ses parents, entraînant la déformation des globules rouges sous forme de faux (facilement reconnaissable sur frottis sanguin) mais aussi, des anomalies morphologiques touchant la taille, le volume et la couleur érythrocytaire.

L'anémie de type normocytaire, est constante avec un taux d'hémoglobine variant de 6 à 10 g/dL (valeurs normales chez l'homme : 14 à 18 g/dL ; chez la femme : 12 à 16 g/dL) (Thiele, 2010). Elle est régénérative avec un taux de réticulocytes supérieur à  $250 \times 10^9/L$  (valeurs normales des réticulocytes :  $50$  à  $100 \times 10^9/L$ ). Une hyper-leucocytose à polynucléaires neutrophiles et une thrombocytose peuvent également être observées.

### **I.5.2.2. Génotype HbS-HbC : hétérozygotie composite SC**

L'hémoglobine S est associée à un autre mutant de la chaîne bêta-globine (L'hémoglobine C). L'anémie est moins importante, avec des valeurs du taux d'hémoglobine comprises entre 10 à 12g/dL, discrètement microcytaire. Les taux de globules blancs et de plaquettes sont normaux. La concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine (CCMH) est élevée, due à une déshydratation cellulaire, cela met en évidence la présence caractéristique de cellules denses. La présence de drépanocytes est rare mais il est possible d'observer des globules rouges prenant des formes irrégulières. Les patients doivent être considérés comme des patients homozygotes SS. En effet, la symptomatologie clinique (aiguë et chronique) est similaire. Néanmoins, les hétérozygotes SC sont davantage sujets à des splénomégalies persistantes ainsi qu'à des complications oculaires et osseuses (Wajcman *et al.*, 2004).

### **I.5.2.3. Génotype HbS-HbD : hétérozygotie composite SD**

L'hémoglobine S est associée à l'hémoglobine « D » correspondant à plusieurs mutants de l'hémoglobine. Tous ces types hétérozygoties SD sont asymptomatiques sauf l'hétérozygotie SD Punjab. Elle est définie par une diminution du taux d'hémoglobine (entre 6 à 10g/dL), une hyper réticulocytose ainsi que des anomalies morphologiques du globule rouge, comme celles retrouvées dans la drépanocytose homozygote SS.

#### I.5.2.4. Génotype S $\beta$ -thalassémie : hétérozygotie composite S $\beta$ thalassémie

L'hémoglobine S est associée à une  $\beta$  thalassémie (absence de synthèse de bêta-globine). Ces patients ont une anémie moins importante que les patients homozygotes SS (taux d'hémoglobine entre 7 à 11 g/dL). Les anomalies érythrocytaires associent celles de la drépanocytose SS et de la thalassémie : présence de drépanocytes, formes irrégulières, taille et volume variables, hypochromie des globules rouges.

Au niveau clinique, ces patients ont une splénomégalie persistante. Il est donc possible de prévoir le risque d'atteinte des enfants en fonction du génotype des parents (Cordier, 2019) (Figure 4).

	HbA <sub>1</sub>	HbA <sub>2</sub>	HbS	HbC	HbF
<b>Nouveau-né</b>	20-40%	<0.5%	0	0	60-80%
<b>Adulte A/A</b>	97%	<3.2%	0	0	<1%
<b>Adulte A/S</b>	55-70%	1-4%	30-45%	0	<1%
<b>Adulte A/C</b>	60-70%	1-4%	0	25-45%	<1%
<b>Adulte S/S</b>	0	2-3%	80-95%	0	1-10%
<b>Adulte S/C</b>	0	0	40-50%	40-50%	1-5%
<b>Adulte S/<math>\beta</math>thal*</b>	10-30%	4-6%	60-80%	0	5-20%
<b>Adulte S//<math>\beta</math>thal<sup>o</sup></b>	0	4-6%	>80%	0	5-20%

**Figure 4** : Profils drépanocytaires les plus fréquents (Cordier, 2019)

#### 1.6. Physiopathologie

Les hématies en forme de faucille ne pouvant pas passer les petits vaisseaux (capillaires), ceux-ci tendent à se bloquer en provoquant des thromboses et une ischémie au niveau des organes (Elion *et al.*, 2010). Elles ont des conséquences sur l'organisme comme des crises douloureuses, une insuffisance rénale (Beyeme & Chiabi., 2004), des gonflements des mains et des pieds et des douleurs articulaires. La forme faucille fragilise les hématies en diminuant leur durée de vie (de 120 jours à 20 jours). Les hématies deviennent rigides et sont rapidement phagocytées par les macrophages, d'où une hyper-hémolyse à l'origine de l'anémie chronique (Nsimba *et al.*, 2012). Peu déformables, ils vont causer une augmentation de la viscosité du sang, entraînant des complications vaso-occlusives (Zandecki *et al.*, 2007). En effet, certains facteurs physico-chimiques favorisent la polymérisation, on peut citer : la concentration en HbS, l'augmentation de la température, un taux élevé en 2-3 diphosphoglycérate, la diminution de pH, une pression basse en oxygène.

En situation de manque d'oxygène ou en présence de cytokines, la solubilité de l'hémoglobine S diminue donc elle se polymérise. Ces polymères rigidifient et se collent à la membrane érythrocytaire déformant le globule rouge qui prend une forme faucille caractéristique (sickle cell). Ces faucilles n'ayant pas une durée de vie normale, sont détruites entraînant ainsi une anémie hémolytique.

Aussi, la falciformation des globules rouges qui ne peuvent accueillir la quantité normale d'oxygène et la transporter au sein des tissus organiques, l'adhérence des globules rouges « normaux » (les réticulocytes) aux cellules de l'endothélium vasculaire conduit à des crises vaso-occlusives douloureuses. Le symptôme majeur quasi pathognomonique de la drépanocytose se reconnaît au travers du caractère douloureux paroxystique de la maladie. Il est omniprésent lors des complications aiguës qui seront fréquemment identifiées sous le terme général de « crises ». Malgré le caractère symptomatique, la drépanocytose s'avère polymorphe en fonction des individus qui en sont porteurs.

Il est possible de retrouver des complications aiguës (crises vaso-occlusives osseuses, syndrome thoracique aigu, priapisme, complications infectieuses, accidents vasculaires cérébraux) et des complications chroniques (néphropathie, ulcères cutanés, rétinopathie proliférante, atteintes pulmonaires, osseuses et cardiaques) (Habibi *et al.*, 2007). La drépanocytose est une maladie qui peut réduire drastiquement l'espérance de vie des drépanocytaires.

### 1.6.1. Polymérisation

La polymérisation de l'hémoglobine S est le fait que l'acide glutamique normalement hydrophile est remplacé par une valine hydrophobe en position 6 de la globine. En raison d'une mutation du gène codant pour la  $\beta$  globine, l'HbS a tendance à polymériser lorsque la pression partielle en oxygène dans le sang diminue (hypoxie), lors d'un épisode de déshydratation, d'acidose ou d'hypo ou hyperthermie. La polymérisation se produit à partir d'une concentration seuil de désoxyhémoglobine S. Cette désoxygénation induit une modification structurale de l'HbS qui va dévoiler un acide aminé hydrophobe, la valine. Celle-ci va alors se lier à d'autres acides aminés hydrophobes (alanine, phénylalanine, leucine) appartenant à une molécule HbS adjacente et polymériser progressivement. Les polymères d'HbS déforment alors les hématies et leur donnent cette forme caractéristique de faucille (falciformation). Le processus prend un temps à s'amorcer qui est inversement proportionnel à la concentration intracellulaire de l'hémoglobine. Ce phénomène est réversible lors de la réoxygénation.

Les facteurs favorisent cette polymérisation sont :

- l'hypoxie ; selon Barcroft, l'hémoglobine S ayant une affinité moindre pour l'oxygène désature plus vite ce qui augmente le risque de polymérisation ;
- l'acidose (baisse du pH intra ou extra-érythrocytaire) ou l'hyperthermie induisent un glissement de la courbe de désaturation de l'hémoglobine vers la droite ;
- les fortes concentrations en 2,3 DPG (2,3 diphosphoglycérate) retrouvées dans les globules rouges drépanocytaires pourraient intervenir dans la baisse de l'affinité de l'HbS pour l'oxygène (Poillon & Kim, 1990) ;
- la déshydratation érythrocytaire en augmentant la concentration de l'HbS dans le globule rouge. En effet, la dérégulation de l'homéostasie des cations, avec activation des canaux ioniques, cotransport potassium-chlore et canal potassique dépendant du calcium, entraîne la perte de potassium et une déshydratation cellulaire.

### **1.6.2. Falciformation**

La falciformation est le fait que les globules rouges normaux se déforment et prennent une forme faucille en milieu hypoxie. Aussi, les globules rouges falciformés ne pouvant pas accueillir la quantité normale d'oxygène et la transporter au sein des tissus organiques. Les globules rouges « normaux » (les réticulocytes) adhèrent aux cellules de l'endothélium vasculaire. Les hématies drépanocytaires ont une déformabilité diminuée responsable d'une obstruction de la circulation du sang à travers la microcirculation. Cela compromet l'oxygénation des tissus et est à l'origine des crises vaso-occlusives (CVO) (De-Montalembert, 1996 ; Labie & Elion, 1996).

### **1.6.3. Inflammations**

L'inflammation est un mécanisme physiologique de défense de l'hôte contre l'invasion par des agents pathogènes, une lésion physique, une fausse menace, les maladies auto-inflammatoires ou auto-immunes. Chez les personnes drépanocytaires, l'inflammation peut être un mécanisme mis en place par l'organisme pour réparer tout tissu lésé grâce à une succession de réactions impliquant l'adhésion vasculaire et la cascade de coagulation (Ruggeri & Mendolicchio, 2007). Elle est provoquée par la falciformation des globules rouges. Les érythrocytes falciformés perdent leur forme normale et prennent la forme faucille. Rigides, incapables de traverser les veines de diamètre inférieur, ils obstruent les vaisseaux et provoquent une inflammation. Les hématies ayant subi plusieurs cycles de falciformation sont fragilisées et subissent une hémolyse précoce. Il en découle une anémie chronique.

L'organisme de ceux qui en souffrent lutte en continu contre des menaces inexistantes, portant préjudice à leur propre intégrité, et ultimement à leur survie (Gaubert, 2018). La réponse inflammatoire est localisée dans les tissus vascularisés et est accompagnée par la production de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les leucotriènes et les prostaglandines (Noack & Kolopp-sarda, 2018). Elle met en jeu le système immunitaire avec une accumulation de globules blancs qui contribuent à l'assainissement et à la restauration des tissus endommagés. La réponse inflammatoire fait aussi intervenir des processus neurobiologique et humoral. Une inflammation se manifeste par 4 signes principaux : Rougeur, chaleur, œdème, douleur (Boulangier, 2017). L'inflammation revêt des aspects morphologiques très variés, selon sa localisation et l'agent qui en est responsable (Martin, 2010). Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes. Il existe des traitements externes pour les inflammations sur la peau ou juste en dessous de la peau ou le remède directement en lieu et place de la douleur (les produits mentholés...).

#### **1.6.4. Anémie**

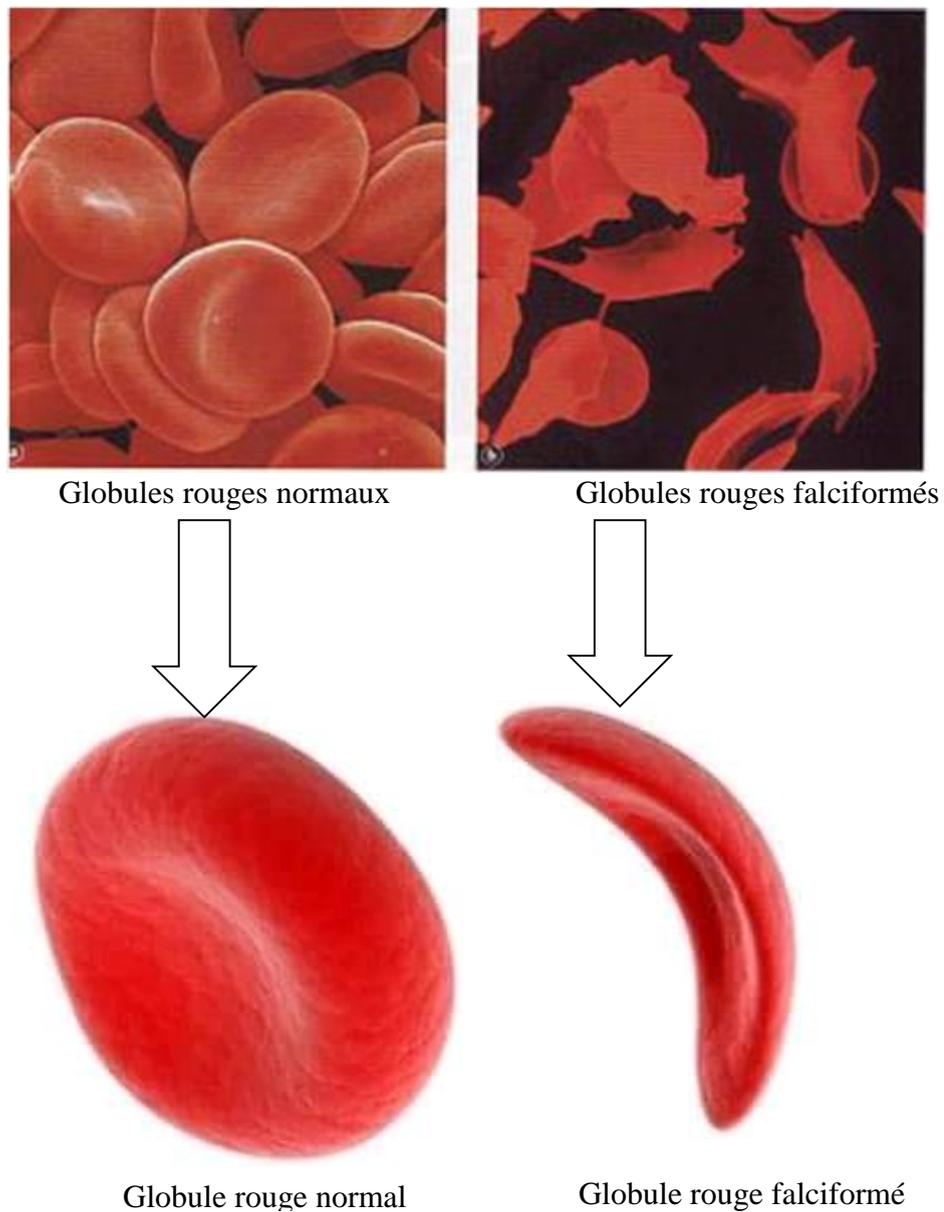
L'anémie est définie par une diminution de la concentration d'hémoglobine (Hb) circulante par rapport aux valeurs limites fixées par l'OMS (Levy *et al.*, 2016). L'anémie affecte la croissance physique, le développement cognitif, la reproduction et la capacité de travail physique, ce qui aboutit à une diminution de la performance humaine (FAO, 2013). Les groupes les plus vulnérables sont les enfants, les adolescents et les femmes enceintes. Une anémie chez ces dernières accroît la morbidité et la mortalité maternelle ; l'hémorragie du post-partum constitue un facteur de retard de croissance fœtale (Beucher *et al.*, 2011). La présence d'une anémie peut être favorisée par le saignement de la tumeur ou la stimulation inflammatoire liée au cancer, pertes sanguines aiguës, hémolyse (maladies hémolytiques, toxiques, infections) dans le cas des anémies normocytaires. Elle peut être aussi due à la taille des globules rouges (les anémies microcytaires, les anémies macrocytaires), la concentration moyenne d'hémoglobine dans un globule rouge (les anémies hypochromes et les anémies normochromes). Elle peut être liée aux taux de réticulocytes (les anémies régénératives et les anémies hyporégénératives (Vert, 2019). Environ 50 % des cas est dû à la carence en fer (OMS, 2010). Le syndrome anémique est représenté par trois types de signes cliniques par une pâleur cutanéomuqueuse, les signes traduisant l'adaptation de l'organisme à la diminution des transports d'oxygène (dyspnée d'effort, polypnée, tachycardie), des signes d'hypoxie au niveau des deux tissus les plus consommateurs en oxygène (le myocarde (signes d'angor), souffle

cardiaque) et le système nerveux central (asthénie, ralentissement, vertiges, céphalées) (Vert, 2019). L'anémie est un problème de santé publique qui affecte les populations des pays riches comme des pays pauvres (Benoist *et al.*, 2008). La prévalence mondiale de l'anémie est de 24,8 % ce qui est estimé à 1,62 milliards de personnes. Dans les pays développés, la prévalence est de 8 % contre 38 % dans les pays en développement (Dupont, 2017). En Côte d'Ivoire, 78 % sur un échantillon de 128 enfants de 6 mois à 2 ans sont anémiés. 7 % de ces 78 % souffrent d'anémie sévère (Righetti *et al.*, 2012). Au niveau des femmes, l'anémie touche deux femmes sur trois. En effet, 45 % des femmes sont affectées par la forme légère, 20 % par la forme modérée et 2 % souffrent de forme sévère. La proportion des enfants et des femmes anémiées dépend du lieu de résidence, soit 21 % en milieu rural contre 9 % en milieu urbain pour les enfants et 73 % en milieu rural contre 60 % en urbain pour les femmes (MSHP, 2016).

### 1.7. Epidémiologie

La drépanocytose est une maladie grave qui entraînait jusqu'à la fin du XX<sup>ème</sup> siècle une mortalité infantile très importante. Le dépistage et la mise en place de mesures simples et standardisées ont bouleversé l'histoire naturelle de cette maladie en prolongeant l'espérance de vie des patients.

Chez les personnes atteintes de drépanocytose, l'hémoglobine est anormale et n'assure plus correctement son rôle de transport du dioxygène et d'élimination du dioxyde de carbone dans l'organisme. Quand la concentration en oxygène du sang diminue, elle déforme les hématies qui prennent alors la forme de faucilles, au lieu d'être biconcaves d'où son nom d'anémie falciforme ou « sickle cell disease » (SCD en anglais). Le globule rouge également appelé hématie ou érythrocyte, a la forme d'un disque biconcave d'environ 8 µm de diamètre. Il doit sa couleur rouge à son contenu en hémoglobine (Piel *et al.*, 2010 ; Rees *et al.*, 2010) (Figure 5).



**Figure 5** : Photographie représentant des globules rouges normaux biconcaves et des globules rouges falciformés (Cordier, 2019)

### 1.8. Techniques diagnostiques

Le diagnostic de la drépanocytose peut être établi sur un prélèvement sanguin, à la suite d'une transfusion sanguine de plus de 3 mois. Selon Cordier (2019), plusieurs techniques sont utilisées dans diagnostic de la drépanocytose dont :

- L'hémogramme : dans le cas d'une anémie d'intensité variable, normochrome, normocytaire, parfois macrocytaire et souvent le taux des réticulocytes est supérieur à  $100 \times 10^9/l$ .

- le frottis sanguin : les examens diagnostics doivent être analysés après la réalisation d'un hémogramme avec un examen microscopique des hématies, d'une numération des réticulocytes ainsi que la vérification du bilan martial.
- la méthode de référence est la focalisation isoélectro remplace l'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin. Elle permet de séparer des hémoglobines de migration identique et pH isoélectriques différents. Une électrophorèse en citrate d'agar à pH acide en est le complément indispensable. Le test de solubilité met en évidence *in vitro* la polymérisation de l'HbS.
- les techniques chromatographiques sont utilisables pour séparer les hémoglobines. La technique la plus performante est la chromatographie liquide de haute pression (CLHP). Elle permet d'étudier les fractions d'hémoglobine (A, F etc...) ou bien les chaînes d'hémoglobine séparées de manière à mettre en évidence certaines anomalies. Il est possible de quantifier précisément les fractions ainsi identifiées.
- le test de Guthrie : c'est un programme de dépistage néonatal qui permet de faire un prélèvement à 3 jours de la vie sur le pied ou la main du bébé pour dépister six maladies dont la drépanocytose.
- l'amniocentèse : elle consiste à prélever une petite quantité de liquide amniotique dans lequel baigne le fœtus au cours de la grossesse dans l'utérus. En effet, le fœtus est entouré d'une membrane formant une poche remplie de liquide amniotique. Ce liquide stérile, composé en majorité d'eau et de sels minéraux, contient des cellules fœtales. Cet examen sert à diagnostiquer une anomalie chromosomique ou génétique.

## 1.9. Symptomatologie

### 1.9.1. Facteurs influençant la symptomatologie

Pour des raisons encore incomplètement élucidées, l'issue clinique des patientes drépanocytaires est très variable. De nombreux facteurs ont été identifiés comme modulateurs de la sévérité clinique (Weatherall *et al.*, 2001 ; Boafor *et al.*, 2016). Ce sont :

- Génotype hémoglobinique

Les hétérozygotes AS sont transmetteurs. Dans ce cas, l'hémoglobine A, majoritaire dans le globule rouge, inhibe la polymérisation de l'HbS et les patients sont peu ou pas symptomatiques. Quant aux patients SS, ils ont une symptomatologie bruyante et une espérance de vie limitée. En ce qui concerne les patients SC et Sβ thalassémiques, ils ont une symptomatologie relativement modérée par rapport aux patients SS, avec en particulier une anémie limitée.

Ils n'ont pas de risque de vasculopathie cérébrale des gros vaisseaux mais présentent un risque accru de rétinopathie et d'ostéonécrose de la tête fémorale (Locatelli *et al.*, 2003).

- Taux d'hémoglobine fœtale (HbF)

Lorsque la concentration d'HbF est supérieure à 20 %, elle a la capacité d'inhiber la polymérisation de l'HbS. Les nourrissons sont donc asymptomatiques dans les premiers mois de vie.

- Alpha-thalassémie

L'association à une alpha-thalassémie entraîne une microcytose, une diminution du risque d'hémolyse et d'anémie (Nagel, 1991). Elle peut aussi provoquer une diminution du risque d'accident vasculaire cérébral (Adams *et al.*, 1994).

- Haplotype  $\beta$  globine

- Présence d'un « single nucleotide polymorphism » (SNP)

Le polymorphisme Xmn1 (SNP dans le promoteur de HBG2) est responsable des variations du taux HbF (Sedgewick *et al.*, 2008 ; Uda *et al.*, 2019).

- Hyperleucocytose

La présence d'une leucocytose élevée est délétère et associée à un risque de décès et de survenue d'accident vasculaire cérébral (AVC) (Ohene-Frempong *et al.*, 1998 ; Kinney *et al.*, 1999). Elle peut aussi provoquer des crises vaso-occlusives (CVO) (Frenette, 2004 ; Segel *et al.*, 2011). Plusieurs études ont montré que l'administration de granulocytosis-inducing growth factor chez les patients drépanocytaires provoquait des CVO sévères (Abboud *et al.*, 1998 ; Grigg, 2001).

- Polymorphisme immunitaire

Outre ces facteurs génotypiques, des paramètres environnementaux (température, hydratation, infection) et émotionnels (stress scolaire, professionnel, social, familial) peuvent bouleverser l'évolution de la maladie et déclencher des manifestations aiguës (Marion, 2019).

## 1.9.2. Symptomatologie clinique

### 1.9.2.1. Hémogramme

Les anémies sont caractérisées par un déficit en globules rouges. Elle est définie par une diminution du taux d'hémoglobine sanguin en dessous de 13 g/dL chez l'Homme.

Lors d'une numération de formule sanguine (NFS), différents paramètres sont mesurés :

- le taux d'hémoglobine : définit la présence d'une anémie.
- le nombre d'érythrocytes,

- l'hématocrite : elle correspond au pourcentage relatif du volume des cellules circulant dans le sang par rapport au volume total de sang.

Ces trois paramètres serviront ensuite à calculer les constantes suivantes :

- volume globulaire moyen (VGM) : il représente la taille des érythrocytes, et correspond au rapport Hématocrite / Nb d'érythrocytes.
- concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) : c'est la concentration moyenne d'hémoglobine par érythrocyte. Elle est calculée par le rapport Taux d'Hb/Hématocrite.
- teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) : elle représente la quantité d'hémoglobine moyenne contenue dans un érythrocyte, et correspond au rapport taux d'Hb/ Nb d'érythrocytes.
- le taux de réticulocytes peut également être mesuré, il reflète la production de nouvelle d'érythrocytes.

#### **1.9.2.1.1. Anémie hémolytique chronique**

Les hématies ayant subies plusieurs cycles de désoxygénation sont fragilisées et il s'ensuit une hémolyse chronique. Elle se traduit par une pâleur et une fatigue chronique, parfois un ictère. L'anémie est susceptible de s'aggraver brutalement en cas de suractivité de la rate dans la destruction des globules rouges (séquestration splénique aiguë). Un arrêt de leur production peut aussi aggraver l'anémie. Ces crises dites aplasiques peuvent être causées par le *parvovirus* B19 ou d'autres infections. Malgré ces complications possibles, l'anémie chronique est généralement assez bien tolérée par les patients drépanocytaires. Les patients SS ont une hémoglobine de base autour de 7-8 g/dL, les SC plutôt autour de 9-11 g/dL. Une augmentation non contrôlée des taux de base d'Hb ou de la viscosité du sang par des traitements inadaptés et une mauvaise connaissance de la pathologie peut conduire à des complications sévères (CVO, STA), Hémolyse post transfusionnelle retardée (HPRT)) (Cordier, 2019).

#### **1.9.2.1.2. Classification des anémies**

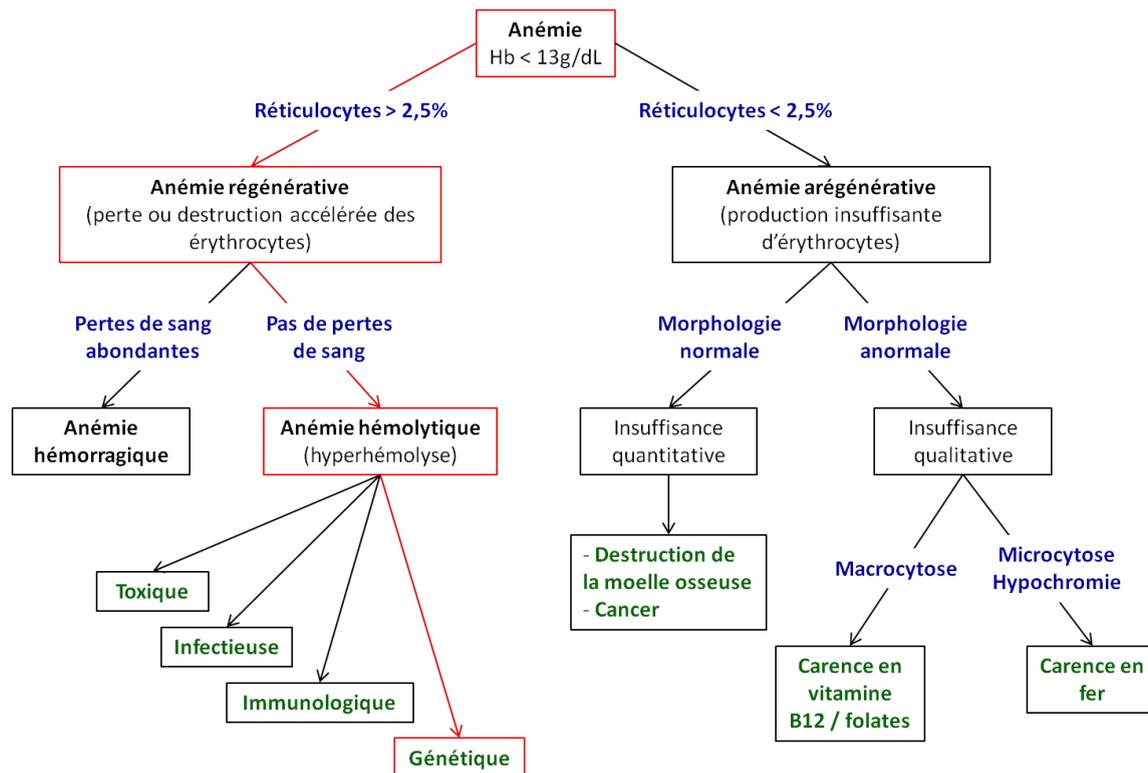
Les anémies sont classées selon leurs facteurs de causalités :

- lors d'une perte ou une destruction accélérée des globules rouges suivie d'une production normale d'érythrocytes dans ce cas, l'anémie est dite régénérative ;
- lors d'une production insuffisante de globules rouges, on parle alors d'anémie arégénérative

L'intérêt de cette étude portera sur les anémies régénératives, et plus particulièrement à celles causées par une hyperhémolyse.

L'hyperhémolyse correspond à une augmentation de la lyse de globules rouges dont la durée de vie est alors raccourcie. L'hyperhémolyse est caractérisée par une augmentation des taux de lactate déshydrogénase (LDH) dans les globules rouges et de bilirubine produit au cours de la dégradation de l'hème. L'anémie hémolytique peut être d'origine toxique, infectieuse parasitaire (paludisme) ou bactérienne, immunologique ou génétique (Eber & Lux, 2004).

L'érythropoïèse est alors accélérée pour permettre le renouvellement plus rapide des globules rouges. Dans ce cas, une anémie apparaît si la demande est trop importante. Plusieurs défauts génétiques peuvent induire une hyperhémolyse. Elle peut être due à un déficit enzymatique. Cependant, les déficits en Pyruvate Kinase ou en G6PD (Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase) sont les plus fréquents. Le déficit en Pyruvate Kinase est caractérisé par une échinocytose c'est à dire un défaut morphologique de la membrane du globule rouge. L'hyperhémolyse est également une caractéristique des hémoglobinopathies comme les thalassémies ou la drépanocytose due à des mutations des gènes de globines (Jarolim *et al.*, 1996 ; Hassoun *et al.*, 1997) (Figure 6).



**Figure 6 :** Récapitulation sur les différents types d'anémies (Hassoun *et al.*, 1997 ; Eber & Lux, 2004)

### 1.9.2.2. Crises vaso-occlusives

Le flux sanguin est ralenti dans les micro-vaisseaux du fait d'une augmentation des interactions entre les globules rouges drépanocytaires falciformés ou rigidifiés et les cellules endothéliales. Ces interactions sont favorisées par l'activation des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes et par les molécules de l'inflammation (Hebbel *et al.*, 1994). Ce ralentissement du flux sanguin précède la polymérisation. Causées par l'obturation des petits vaisseaux sanguins, ces crises entraînent des douleurs aiguës souvent extrêmement violentes. Elles affectent particulièrement les os, les articulations des bras et des jambes, le dos ou le thorax. Ces occlusions vasculaires peuvent être à l'origine de complications majeures, notamment des AVC plus particulièrement graves chez l'enfant, et favorisés par certains génotypes. Ils se manifestent de façon très variable (paralysie, céphalées, aphasie, troubles de l'équilibre...) et sont généralement transitoires. Dans certains cas, ils laissent toutefois de graves séquelles intellectuelles et motrices. Les patients drépanocytaires peuvent également présenter un symptôme thoracique aigu (STA) lorsque la vaso-occlusion affecte le poumon et compromet l'oxygénation de tout l'organisme. Une nouvelle définition du STA a été proposée en 2009 : il s'agit d'un tableau clinique douloureux associant la preuve radiologique d'un infiltrat

pulmonaire avec hyperthermie supérieure à 38 °C, désaturation ou signes respiratoires (tachycardie, dyspnée, sibilants ou toux) (Platt, 2000 ; Ballas *et al.*, 2010). La physiopathologie du STA est très complexe (Fauroux *et al.*, 2000). De nombreux facteurs y contribuent : vaso-obstruction, thrombose microvasculaire, ischémie des tissus, hémolyse, crises douloureuses vaso-occlusives osseuses à localisation thoracique (costales, rachidiennes) entraînant une sidération thoracique et une hypoventilation régionale. Quelquefois il y'a une atélectasie, hypoxie et falciformation dans les capillaires pulmonaires à l'origine des zones d'infarctus. D'autres facteurs contribuent : des phénomènes infectieux, embolie graisseuse, embolie cruorique des gros vaisseaux. Il s'associe très souvent à un foyer pulmonaire infectieux ou à une embolie pulmonaire (Gladwin & Vichinsky, 2008). L'infection serait la cause prépondérante chez les jeunes enfants entre 1 et 3 ans (*C pneumoniae*, *M pneumoniae* et virus respiratoire syncytial ; germes atypiques) ce qui justifie une antibiothérapie empirique adaptée. L'influence de la douleur sur le pattern respiratoire justifie un traitement antalgique agressif (Vichinsky *et al.*, 2000). Environ 50 % des patients drépanocytaires homozygotes présentent au moins un STA dans leur vie (Castro *et al.*, 1994). Cette affection aiguë est responsable du quart des décès précoces dans la population drépanocytaire (Platt *et al.*, 1994). Son incidence est plus élevée chez les jeunes enfants mais sa sévérité augmente à l'âge adulte. Par ailleurs, les patients qui présentent un STA ont un risque plus élevé de CVO répétées et ont un risque de présenter une pathologie pulmonaire hypertensive (HTAP) (Powars *et al.*, 1988). Enfin, la répétition des vaso-occlusions peut aboutir à la nécrose de certains tissus comme l'os (ostéonécrose de la tête fémorale) ou d'organes comme la rate (asplénie fonctionnelle).

### 1.9.2.3. Sensibilité aux infections

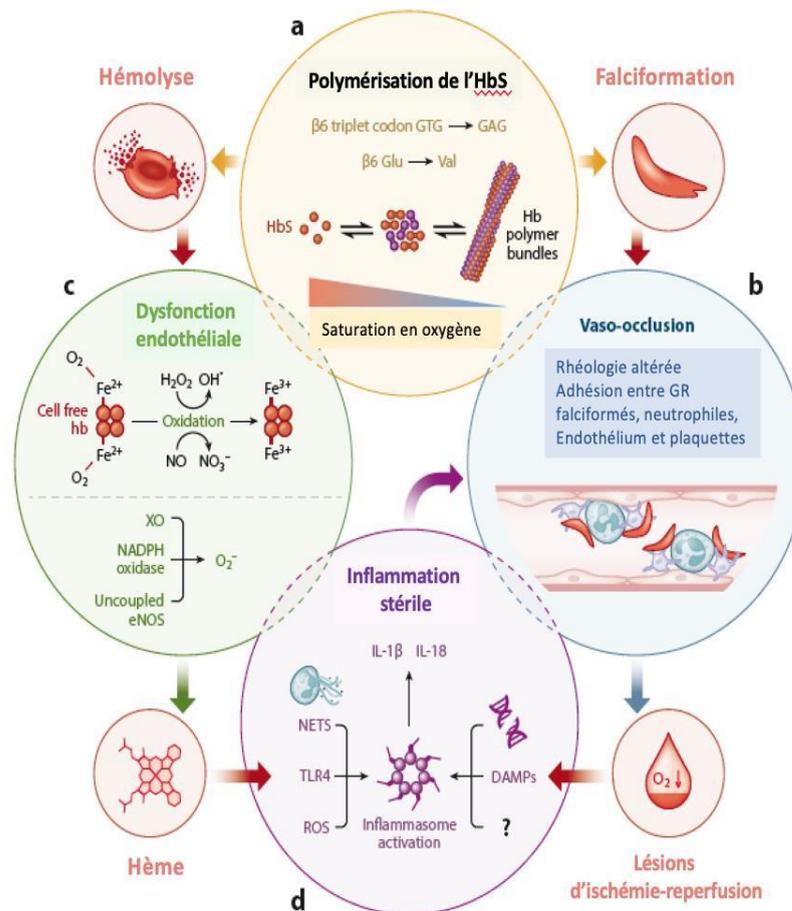
La rate des patients drépanocytaires, précocement lésée par les vaso-occlusions et aussi très sollicitée pour assurer l'hémolyse des hématies falciformes, n'assure plus complètement son rôle dans le contrôle de certaines infections bactériennes, tout particulièrement les pneumonies et les méningites mais également urinaires. Les infections exacerbent les autres manifestations de la drépanocytose (anémie et CVO). D'autre part, dans un contexte fréquent d'asplénie au moins fonctionnelle, elles représentent un risque de mortalité (septicémie foudroyante) (Cordier, 2019).

#### 1.9.2.4. Manifestations chroniques de la drépanocytose

Au fil des ans, les épisodes d'hypoxie-réoxygénation détruisent insidieusement les différents organes. Les patients sont souvent affectés par un retard de croissance et une puberté plus tardive (Serjeant *et al.*, 2001). Diverses complications chroniques peuvent se déclarer chez l'adulte et touchent notamment le rein (insuffisance rénale), le système ostéo-articulaire (arthrose, ostéoporose), l'œil (hémorragies intraoculaires, rétinopathie), le foie, les poumons (hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)) ou encore la vésicule biliaire (calculs, cholécystites, liés à l'hyperbilirubinémie conséquence de l'hémolyse chronique).

L'hypertension artérielle pulmonaire affecte 6 à 10 % des adultes drépanocytaires, surtout les génotypes homozygotes. On observe un excès de mortalité dans le groupe de patients drépanocytaires développant une HTAP (Mehari *et al.*, 2012). Cependant, seulement 80-90 % des patients avec une augmentation des pressions systoliques ventriculaires droites ont une régurgitation tricuspide suffisante pour prédire la pression artérielle systolique pulmonaire (Yock & Popp., 1984 ; McQuillan *et al.*, 2001). L'utilisation de biomarqueurs, notamment le N-terminal pro-brain natriurétique peptide (NTproBNP) est complémentaire de l'échographie dans le diagnostic de cette complication (Machado *et al.*, 2006). Cela souligne la possibilité qu'entre les crises, les organes subissent des dommages moins intenses que lors des CVO, mais tout aussi problématique de par leur chronicité.

Les patients drépanocytaires ont un statut immunitaire activé, associé à une hypercoagulabilité et un déséquilibre de leur balance angiogénique. Des études indiquent une participation directe de l'endothélium vasculaire dans l'initiation et la propagation de la vaso-occlusion (Bunn, 1997). Le processus de vaso-occlusion cause des lésions tissulaires ischémiques qui perpétuent l'inflammation. Par ailleurs l'inflammation systémique, dans un contexte de STA ou d'infection peut déclencher d'autres événements vasculaires (Ohene-Frempong *et al.*, 1998) (Figures 7).



**Figure 7 :** Schéma récapitulatif de l'interaction des différents processus entre eux (Lancet, 2010)

a : polymérisation de l'hémoglobine S,      b : vaso-occlusion,  
c : dysfonction endothéliale,                      d: inflammation stérile

### 1.10. Prévention de crise de la drépanocytose

Pour éviter la crise de la drépanocytose, il faut :

- éviter les facteurs exogènes tels que les changements brutaux de température (impliquant l'atmosphère des bords marins ou le fait de nager, passer du chaud au froid) ou de haute pression atmosphérique en altitude (l'avion) ;
- éviter les situations de déshydratation telles engendrées par des efforts physiques trop intenses, l'humidité.

Les facteurs plus endogènes sont davantage d'ordre psychologique telles que le stress ou d'anxiété (Marion, 2019). Il conviendrait de bien aérer les pièces (Wajcman *et al.*, 2004). Il est aussi conseillé de manger les aliments riches en fer (viande rouge, foie, feuilles), d'éviter au maximum les infections respiratoires, porter des habits amples. Eviter de s'exposer aux fortes chaleurs, car la déshydratation déclenche des crises en augmentant la viscosité sanguine (Hazoumé, 1984).

## **1.11. Prises en charge de la drépanocytose**

### **1.11.1. Prises en charge modernes**

Plusieurs méthodes de traitements sont utilisées tels que l'hydroxy-urée, la transfusion sanguine, les traitements pharmacologiques et la greffe de moelle osseuse (Medkour, 2008). Pour autant, des traitements curatifs existent, mais demeurent actuellement rares, et ne sont réalisés que de manière exceptionnelle car présentant un risque létal non négligeable, comme l'allogreffe de moelle osseuse ou la thérapie génique (Mattioni *et al.*, 2016). D'ailleurs, depuis le 1<sup>er</sup> Mars 2017, la première guérison par thérapie génique chez un enfant drépanocytaire âgé de 13 ans fut annoncée par l'équipe du Pr Cavazzana, pédiatre à l'Hôpital Necker à Paris (Anne, 2017). En raison du cout élevé de la thérapie génique et des autres techniques très spécialisées, la majorité des populations vont se tourner vers un traitement alternatif tel que la phytothérapie. La médecine traditionnelle constitue une source majeure du patrimoine culturel en Afrique à laquelle la population reste toujours attachée en matière de soins de santé primaire (UA, 2010).

### **1.11.2. Prise en charge traditionnelle**

La phytothérapie est une alternative capable de prévenir, ou de soulager les troubles liées à la drépanocytose. Plusieurs preuves expérimentales mettent en exergue l'activité anti-drépanocytaire *in vitro* et *in vivo* des plantes (Wambebe *et al.*, 2001 ; Mpiana *et al.*, 2010). De nombreuses plantes sont utilisées dans le traitement de la drépanocytose en Afrique en tant que alicaments ou médicaments traditionnellement améliorés ou sous forme de recette traditionnelle.

### 1.11.2.1. Prise en charge traditionnelle de la drépanocytose en Afrique et en Côte d'Ivoire

La drépanocytose connaît une prévalence maximale en Afrique Sub-Saharienne et constitue aujourd'hui un problème de santé publique pour la plupart des pays d'Afrique noire. En Afrique Centrale et Occidentale 20 à 40 % des sujets sont porteurs du trait drépanocytaire (Mpiana *et al.*, 2016).

Selon la fondation LYA (2018), en Côte d'Ivoire, 12 % de la population générale sont porteuses de l'hémoglobine « S » et la drépanocytose reste très marquée dans la population infanto-juvénile touchant 16,25 % des enfants de moins de quatre ans, 65,55 % des enfants d'âge scolaire compris entre 5 et 14 ans et 18,19 % de ceux dont l'âge est supérieur à 15 ans. En Côte d'Ivoire, la prise en charge d'un patient drépanocytaire est largement supérieure à 500.000 Fcfa par an, sans compter les éventuelles interventions chirurgicales (Sanogo, 2020).

Les enquêtes de l'OMS (2000) ont montré que 80 % de la population africaine sont tributaires de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé. De plus, des études menées dans plusieurs régions de la Côte d'Ivoire ont rapporté que plus de 90 % de la population ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaire (Manda *et al.*, 2017). Plusieurs options sont utilisées en milieu traditionnel dans la prise en charge de la drépanocytose en Côte d'Ivoire.

### 1.11.2.2. Quelques médicaments traditionnellement améliorés utilisés en Afrique

Dans la prise en charge au niveau communautaire se trouve l'utilisation des plantes médicinales pour soulager la souffrance des drépanocytaires. De nombreuses recherches ont permis de démontrer l'innocuité, l'efficacité et la qualité de certains médicaments issus de la médecine traditionnelle notamment dans la réduction des crises associées à des douleurs vives (Sofowora, 1985 ; Wambebe *et al.*, 2001 ; Sibinga *et al.*, 2006) et avec une activité antifalcémiantes *in vitro* (Mpiana *et al.*, 2016). C'est ainsi que plusieurs phytomédicaments sont utilisés dans la prise en charge de la drépanocytose. Entre autres :

- NICOSAN® (HEMOXIN® est préparé avec un hydroéthnolique aux Etats Unis d'Amérique, Nicosan ou Nix-0699), il s'agit d'une teinture obtenue à partir de graines de *Piper guineense*, d'écorces de *Pterocarpus osum*, de fruits d'*Eugenia caryophyllum* et de feuilles de *Sorghum bicolor*. Cette recette possède également des effets antifalcémiantes. L'étude a été initialement lancée au Nigéria par le National Institute for Pharmaceutical Research and Development (NIPRD) (Iyanus *et al.*, 2002).

- FACA® est une association de poudre de racine de FA pour *Fagara zanthoxyloides* (Rutaceae) et de poudre de racine CA pour *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) mis au point par Ouattara en 1991 au Burkina Faso. Il a réalisé un criblage phytochimique de ces deux plantes et a proposé des gélules à partir de la poudre de leur écorce de racines (Ouattara, 1991).

- FAGARA®, phytomédicament est à base de l'écorce de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae) au Mali. L'Organisation Mondiale de la Santé encourage la recherche et la valorisation de la pharmacopée traditionnelle afin de contribuer à la prise en charge de la drépanocytose (OMS-AFRO, 2010).

### 1.11.2.3. Quelques recettes utilisées en Côte d'Ivoire

Ces recettes ont été obtenues lors d'une enquête ethnobotanique dans le Nord de la Côte d'Ivoire dans les Départements de Korhogo et Karakoro (Soro *et al.*, 2019). Elles sont :

- Recette 1 : Faire la décoction de la plante entière de *Rhynchospora corymbosa*.

Ce décocté est utilisé oralement en bain et en boisson. Cependant, quelque soit la voie d'utilisation de la recette, il faut récolter la plante jusqu'à avoir 3 poignées et 4 poignées pour respectivement l'homme et la femme. Les poignées obtenues (homme ou femme) sont préparés sous la forme de décoction pour une prise en orale et en bain 2 fois par jour (matin et soir). Toutefois, pour la prise orale, il faut faire l'exercice de boire le décocté à la main en alternant une prise avec la main droite, ensuite la main gauche enfin la main droite pour l'homme. Par contre chez la femme, la prise doit se faire en alternant la main droite, ensuite la main gauche puis la main droite et enfin la main gauche. Ces différentes de prise orale et en bain sont répétées jusqu'à la guérison complète du patient.

- Recette 2 : Cette recette est réalisée avec la plante entière de *Olax subscorpioidea*.

Le décocté de la plante est pris oralement et en bain 2 fois par jour (matin et soir). Cependant, la prise orale se fait par un verre d'eau.

- Recette 3 : Cette recette est réalisée avec 100 citrons. Néanmoins tous les citrons doivent être découpés, pressés et lavés successivement 3 fois pour y extraire totalement le jus car leur infime présence provoque la délocalisation de la douleur des crises drépanocytaires des os vers les nerfs. Après cette opération, les citrons dépourvus de tous jus sont préparés en décocté puis utilisé en bain et boisson 2 fois par jour (matin et soir). Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 4 : Cette recette est réalisée avec des écorces du tronc et des racines de *Carapa procerae*. Les écorces sont préparées en décocté puis utilisé en bain et boisson 2 fois par jour (matin et soir). Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 5 : Cette recette est réalisée avec un mélange des écorces et de feuilles de *Ficus sur.* Le mélange est préparé en décocté puis utilisé en bain et boisson 2 fois par jour (matin et soir). Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 6 : Cette recette est réalisée avec des écorces du tronc de *Ceiba pentandra*.

Les écorces sont préparées en décocté puis utilisé en bain et boisson 2 fois par jour (matin et soir). Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 7 : Pour la préparation de cette recette, la rouille de fer est mis au fond du canari. Ensuite les racines de *Kigelia africana* sont ajoutés avec de l'eau. Enfin, le mélange est porté à l'ébullition pour réaliser la décoction. Ce décocté est utilisé par la suite en bain et boisson matin et soir. Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 8 : Cette recette est réalisée en décoction avec des écorces du tronc de *Guiera senegalensis* et la plante entière de *Viscum album* prélevé sur *Vitellaria paradoxa*. Néanmoins au cours de la préparation, la seule précaution à prendre est d'éviter qu'une mouche touche les écorces de *Guiera senegalensis* depuis la récolte jusqu'à son utilisation. Car cette seule action peut inhiber les propriétés biologiques de cette plante. Ce décocté est utilisé par la suite en bain et boisson matin et soir. Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

- Recette 9 : Cette recette est réalisée avec des écorces du tronc et de la racine de *Pericopsis laxiflora*. Ce mélange est porté à l'ébullition pour réaliser la décoction. Ce décocté est utilisé par la suite en bain et boisson matin et soir. Toutefois, la prise de la boisson se fait avec un verre d'eau.

Selon les tradipraticiens ces résultats seraient promoteurs dans le traitement de la drépanocytose. Seulement des études pharmacologiques, toxicologiques, cliniques plus développées doivent être réalisées afin d'assurer une plus grande sécurité pour les patients.

## 2. Pharmacologie des plantes

La présente étude a été réalisée sur *Rhynchospora corymbosa* connue en Côte d'Ivoire sous les noms vernaculaires de "Lôwonne" ou "Tchang" et "Kômourouni" en Sénoufo et Malinké et *Olax subscorpioidea* communément appelée "Nimbôchi" ou "Korogbé" en Malinké.

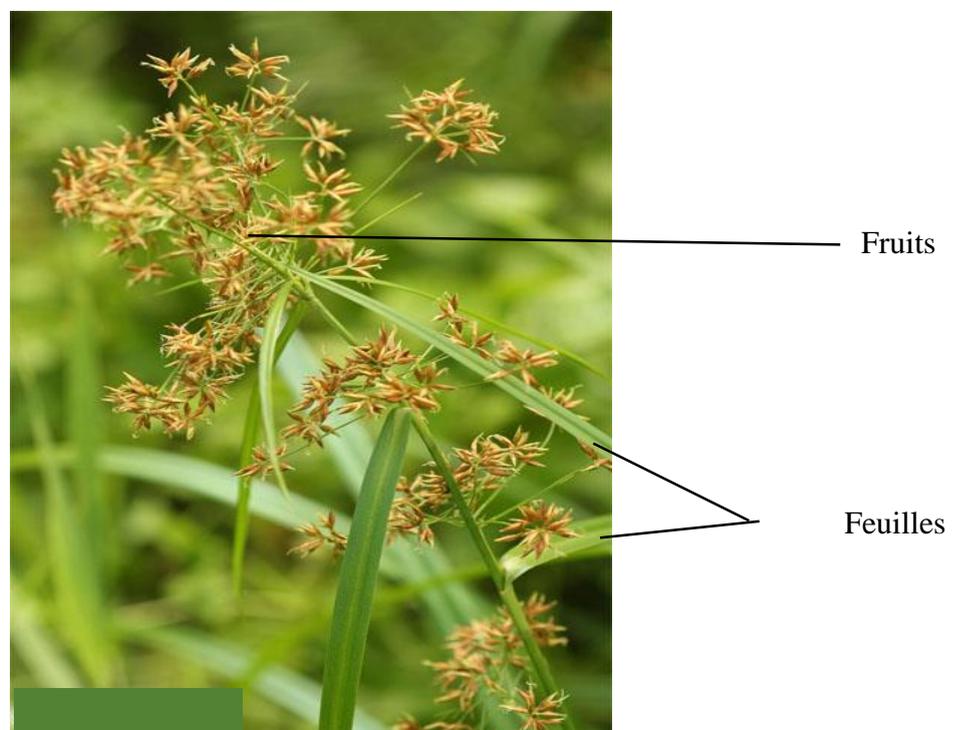
En effet, ces plantes précitées sont plus sollicitées par les praticiens de la médecine traditionnelle (Soro *et al.* 2021). Dans certains pays de la sous-région, *Olax subscorpioidea* est appelée “Ifon” ou “Ufon” en Yoruba ; “Gwaanon kurmii” ou “ Gwaanon raafii” en Haoussa ; “Igbulu Atu-ogili” ou “Osaja” en Igbo ; “Ukpakon” en Edo ; “Ocheja” en Igala, “Aziza” en Nsukka et “Mtungapwezi” en Swahili (Victoria *et al.*, 2010 ; Odoma *et al.*, 2016).

### 2.1. *Rhynchospora corymbosa*

*Rhynchospora corymbosa* est une plante monocotylédone de la famille des cyperaceae (Figures 8 et 9).



**Figure 8** : Plante entière de *Rhynchospora corymbosa*



**Figure 9** : Fruits et feuilles de *Rhynchospora corymbosa*

### 2.1.1. Position systématique et taxonomie

La position systématique de *Rhynchospora corymbosa* selon Linné (1892) est

<b>Règne</b>	: Plante (Haeckel, 1866)
<b>Sous-règne</b>	: Viridae plantae
<b>Infra-règne</b>	: Streptophyta
<b>Classe</b>	: Equisetopsida (Agardh, 1825)
<b>Clade</b>	: Tracheophyta (Dinnoll Cavalier-mmith, 1989)
<b>Clade</b>	: Spermatophyta
<b>Sous classe</b>	: Magnoliidae
<b>Super ordre</b>	: Lilianae takht
<b>Clade</b>	: Commelinidae
<b>Ordre</b>	: Poales
<b>Famille</b>	: Cyperaceae
<b>Sous famille</b>	: Cyperoideae
<b>Tribu</b>	: Rhynchosporeae
<b>Genre</b>	: <i>Rhynchosporeae</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Rhynchospora corymbosa</i>

### 2.1.2. Utilisation traditionnelle de *Rhynchospora corymbosa*

L'espèce *Rhynchospora corymbosa* a pour noms vernaculaires "Tchang" ou "Lô-wonne" en Sénoufo et "Kô-mourouni" en Dioula. La décoction de noisette de cette plante soulage les enfants des douleurs abdominales et coliques en Gambie et au Nigéria (Burkill, 1985).

## 2.2. *Olax subscorpioïdea*

*Olax subscorpioïdea* est une plante dicotylédone de la famille des Olacaceae (Figure 10).



**Figure 10 :** Plante de *Olax subscorpioïdea*

### 2.2.1. Position systématique et taxonomie

La position systématique de *Olax subscorpioïdea* selon Linné (1753) est

<b>Règne</b>	: Plantae
<b>Sous-règne</b>	: Tracheobionta
<b>Division</b>	: Magnoliophyta
<b>Classe</b>	: Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	: Rosidae
<b>Ordre</b>	: Santalales
<b>Famille</b>	: Olacaceae
<b>Genre</b>	: <i>Olax</i>
<b>Clade</b>	: Angiospermes
<b>Clade</b>	: Dicotylédones vraies
<b>Clade</b>	: Noyau des Dicotylédones vraies
<b>Ordre</b>	: Santalales
<b>Famille</b>	: Olacaceae
<b>Genre</b>	: <i>Olax</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Olax subscorpioïdea</i>

### 2.2.2. Utilisation traditionnelle de *Olax subscorpioïdea*

L'espèce *Olax subscorpioïdea* appelé “Korogbé“ ou “ Nimbôchi“ en Dioula est une plante médicinale qui est utilisée dans la prise en charge traditionnelle de plusieurs pathologies (Tableau I et II).

**Tableau I** : Utilisations traditionnelles de la plante entière de *Olax subscorpioïdea*

Pathologies	Mode d'utilisation	Références
Antipaludique	Décocté en boisson et bain	(N'Guessan <i>et al.</i> , 2008)
Ostéoporose et des maladies apparentées	Décoction en boisson et bain	(Kouassi <i>et al.</i> , 2017)
Anxiété, les troubles mentaux et les maladies infectieuses	Décocté en bain et vapeur puis bain	(Da-Silva <i>et al.</i> , 2012)
Dépression	Décocté en bain, vapeur puis bain et boisson	(Ishola <i>et al.</i> , 2015)
Toux, maux tête, jaunisse et syphilis	Décocté en bain, vapeur puis bain et boisson	(Wisdom <i>et al.</i> , 2016)
Hémorragie post-partum, crises infantiles, troubles de l'estomac et gonorrhée	Décocté, lavement, bain, et boisson	(Oyedapo & Famurewa, 1995)
Constipation, la fièvre jaune, et les maladies vénériennes	Décocté en bain et boisson	(Elliott <i>et al.</i> , 2007 ; Dzoyem <i>et al.</i> , 2014)

**Tableau II :** Utilisations traditionnelles de différentes parties de *Olox subscorpioïdea*

<b>Maladies</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Mode d'utilisation</b>	<b>Auteurs</b>
Arthrite, les maladies hépatiques et les MST	Feuilles, brindille, écorce	Décocté, bain de vapeur et boisson	(Nagel, 1991)
Antiasthmatiques et ictères	Feuilles et racines	Décocté, macéré en fébrifuge et lavements	(Belcher <i>et al.</i> , 2010)
Maux de ventre, ver de Guinée et morsures de serpents	Pulpe de racines et feuilles	Décocté, lavements, boisson et cataplasme	(Kerharo & Bouquet, 1950)
Maladie d'Alzheimer	Feuilles	Décocté, bain de vapeur et boisson	(Saliu & Olabiyi, 2016)
Aphrodisiaques, infections parasitaires cutanées et sous-cutanées	Racines l'écorce de tige	Décocté en boisson et bain.	(Labie & Elion, 1996)
Maladies dento-oraux et hygiène oro-dentaire	Racines	Décocté, bain au couche	(De-Montalembert, 1996)
Maladies inflammatoires et mentales, convulsions, la douleur et le cancer	Racines, feuilles et tige	Décocté, bain, boisson et cataplasme	(Poillon & Kim, 1990)
Diabète sucré et l'obésité	Racines	Décocté en boisson	(Banerjee & Kuypers, 2004)
Paludisme, de la diarrhée et de l'ulcère gastrique	Racines, feuilles et tige	Décocté en boisson	(Hebbel <i>et al.</i> , 1994)
Rhumatismes et les douleurs articulaires	Tiges, écorces et feuilles	Décocté, bain de vapeur et bain	(Aslan <i>et al.</i> , 2001),

### 2.2.3. Etude pharmacologique de *Olax subscorpioïdea*

Plusieurs études scientifiques ont été réalisées sur la plante de *Olax subscorpioïdea* (Tableau III et IV).

**Tableau III :** Etudes pharmacologiques sur la plante entière de *Olax subscorpioïdea*

Tests	Auteurs
Antiprotéase, maladies infectieuses	(Orabueze <i>et al.</i> , 2016; Garandi <i>et al.</i> , 2018)
Antiarthritique	(Ezeani <i>et al.</i> , 2019; Womeni <i>et al.</i> , 2013)
Réversion des drépanocytes	(Soro <i>et al.</i> , 2021)
Hépatoprotectrice et antioxydante	(Okoro & <i>al.</i> , 2021)
Antiépileptique, anti-Alzheimer	(Saliu & Olabiyi, 2016 )
Cytotoxique	(Cantrell <i>et al.</i> , 2003),
Antioxydant	(Gbadamosi <i>et al.</i> , 2017),
Antihyperglycémique	(Kazeem <i>et al.</i> , 2015 ; Ayoola <i>et al.</i> , 2017),
Analgésique	(Adeoluwa <i>et al.</i> , 2014 ; Ishola <i>et al.</i> , 2015; Odoma <i>et al.</i> , 2016)
Sédatif adrénergique, dopaminergique et sérotoninergique dans l'activité antidépressive	(Adeoluwa <i>et al.</i> , 2016; Nazifi <i>et al.</i> , 2015)
Antiulcéreux	(Victoria <i>et al.</i> , 2010),

**Tableau IV** : Etudes pharmacologiques sur différentes parties de *Olax subscorpioïdea*

<b>Tests</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Auteurs</b>
Antihyperlipidémique	Racine	(Gbadamosi <i>et al.</i> , 2017)
antidiabétique, anticancéreux	Racines	(Popoola <i>et al.</i> , 2019),
Aphrodisiaque, anxiété, antidote contre les piqûres et les morsures venimeuses pour traiter la dermatose et autres effets du SNC	Racines et feuilles	(Ahmad <i>et al.</i> , 2021)
Diarrhée	Feuille	(Poillon, 1990)
Antimicrobien	Feuilles	(Dzoyem <i>et al.</i> , 2014),
Hépatoprotecteur	Racines et feuilles	(Konan <i>et al.</i> , 2015),
Apoptotique	Racines	(Adegbite <i>et al.</i> , 2015),
Infections non parasitaires les maladies dentaires, l'asthme et la constipation.	Racines	(Koné <i>et al.</i> , 2012)
anti-inflammatoire	Feuilles	(Nazifi <i>et al.</i> , 2015)
Gastro entérites et polype du col de l'utérus	Feuilles et racines	(Wladimir & Nancy, 1952)
Antidépresseur	Feuilles et racines	(Adeoluwa, 2016)
Antinociceptifs et anti-inflammatoires	Feuilles	Ismail <i>et al.</i> , 2015

### 3. Métabolites secondaires

Dans le métabolisme des plantes, nous distinguons les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont directement impliqués dans la croissance, le développement, la reproduction et l'absorption des nutriments des plantes. De leur côté, les métabolites secondaires remplissent plusieurs rôles, comme celui de défense pour les plantes soit attirer certaines espèces pollinisatrices. Ils permettent également de communiquer de plante à plante (Kanyonga *et al.*, 2010). On distingue généralement trois grandes catégories de métabolites secondaires des végétaux : alcaloïdes, composés phénoliques et terpénoïdes.

#### 3.1. Alcaloïdes

##### 3.1.1. Présentation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles, principalement dérivées de plantes à fleurs contenant au moins un atome d'azote dans sa structure chimique, avec différents degrés de caractéristiques de base. De nombreuses plantes contiennent des alcaloïdes. Ces substances se trouvent dans les fleurs, les fruits ou les graines et sont concentré dans la vacuole (Krief, 2003). Recherche de localisation et de distribution des alcaloïdes indiquent qu'ils existent rarement à l'état libre dans les plantes, ils existent sous forme de glycosides ou des sels d'acide citrique, d'acide malique, d'acide tartrique, ou associés à des tanins (Jean, 2009).

##### 3.1.2. Rôle

Selon Aniszewski (2015), les alcaloïdes font partie du mécanisme d'adaptation des organismes dans leur environnement. Les alcaloïdes agissent comme des poisons ou des répulsifs contre les prédateurs, les parasites et les concurrents. Divers alcaloïdes végétaux sont actifs comme des composés de défense contre les invertébrés et les vertébrés herbivores, seuls quelques-uns participent aux interactions plante-plante (Hage, 2013). Ils remplissent également des fonctions clé de la résistance aux contraintes biologiques (pathogènes végétaux, herbivores...) et abiotiques (UV, température, etc.). Ils participent également à l'attraction des pollinisateurs et s'impliquent dans les réactions allélopathiques (Devkota & Sewald, 2013). L'utilisation d'alcaloïdes comme « médicaments » a donné des résultats concluants dans le traitement de certaines maladies par la médecine traditionnelle et moderne telles que le cancer, l'hypertension, le diabète et l'hépatite (Badiaga, 2011).

Bien qu'un grand nombre d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont utilisés dans la médecine pour leurs caractères antioxydantes (pipérine, caféine), antibactériennes (berbérine), antifongiques (spartéine), anti-inflammatoires (colchicine), anticancéreuses (pipérine), analgésiques (comme la morphine, la codéine), sédatif (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (Zenk & Jueng, 2007).

## 3.2. Terpénoïdes

### 3.2.1. Présentation des terpénoïdes

Kekulé a créé le mot terpène en référence à l'arbre de terebinth appelé « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008). Les terpénoïdes sont tous les composés possédant une structure moléculaire composée d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène. Ces composés sont principalement d'origine végétale (Malecky, 2005). Elles sont synthétisées par des plantes, des organismes marins, des champignons et même des animaux (Benaïssa, 2011).

La distillation était utilisée pour extraire les huiles essentielles de ces plantes (Malecky, 2005). Les terpènes sont des hydrocarbures naturels avec une structure cyclique ou à chaîne ouverte, avec une formule brute  $(C_5H_X)_n$  dont le  $x$  varie selon le degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut varier de (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peuvent atteindre plus de 100 (le caoutchouc).

L'isoprène de formule  $C_5H_8$  est la molécule de base. Le terme terpénoïde désigne un groupe de substances ayant le squelette des terpènes et qui possèdent une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2005. Benaïssa, 2011). Selon le nombre d'unités d'isoprène, elles sont principalement classées en monoterpène ( $C_{10}$ ), sesquiterpène ( $C_{15}$ ), diterpène ( $C_{20}$ ), triterpène ( $C_{30}$ ), tétraterpène ( $C_{40}$ ) et polyterpène ( $C > 40$ ), etc. (Liao *et al.*, 20016). D'autre part, le couplage réductif de deux unités (FPP) donne le squalène en  $C_{30}$ , précurseur des triterpènes cycliques et stéroïdes (Ayad, 2008).

Ce sont des composants courants des cellules végétales, Ils peuvent s'intégrer dans les fonctions métaboliques essentielles. Ils sont responsables entre autres de l'effet odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone. Extraites du végétal, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande).

Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques, d'où diverses applications dont l'embaumement qui est resté dans le terme balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en sont tirées (Klaas *et al.*, 2002).

### 3.2.2. Rôle

Avec l'approfondissement de la recherche, il a été découvert que les terpénoïdes (en particulier les terpénoïdes des plantes médicinales) jouent un rôle de plus en plus important dans le domaine de la médecine et ont diverses activités biologiques ces dernières années. Les activités biologiques des terpenoïdes sont : antitumorales, anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antipaludéennes, favorisant l'absorption transdermique, prévenant et traitant les maladies cardiovasculaires, abaissant la glycémie et d'autres effets. De plus, certains terpénoïdes ont des effets insecticides, immunomodulateurs, antioxydants, anti-âge et neuroprotecteurs ; les terpénoïdes paclitaxel et artémisinine ont été largement utilisés en pratique clinique. Par conséquent, la recherche sur l'activité biologique des terpénoïdes contribuera à la sélection de médicaments, à l'amélioration des méthodes de traitement et fournira une base théorique pour le développement de nouveaux médicaments, auxquels les chercheurs accordent beaucoup d'attention (Liao *et al.*, 2016). Les hormones végétales régulent le développement des plantes et les caroténoïdes participent à la photosynthèse, ce qui rend certains terpénoïdes essentiels à la croissance et au développement des plantes D'autres sont impliqués dans l'interaction entre les plantes et l'environnement, tels que la participation aux systèmes de défense des plantes sous la forme de phytoalexines et la compétition interspécifique en tant que 6 composés de détection interspécifique. (Arimura *et al.*, 2000). De nombreux terpénoïdes volatils, comme le menthol et l'alcool périllylique, sont utilisés comme matières premières pour les épices, les arômes et les cosmétiques (Martin *et al.*, 2003).

### 3.3. Composés polyphénols

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Fleuriet *et al.*, 2005). Les polyphénols sont des produits de la condensation des molécules de phénylalanine et d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande variété de molécules spécifiques à une espèce de plante, à un organe ou à un tissu particulière. (Nkhili, 2009). Ils sont largement répartis et

comprennent au moins 9000 structures différentes bien connues (Bahorun, 1997). (Bahorun, 1997). Ces corps sont essentiels car ils constituent des composants essentiels des qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que des boissons, du café, du cacao ou du thé. Environ un gramme de polyphénols est fourni à l'homme chaque jour par une alimentation équilibrée, soit dix fois plus que la vitamine C et 100 fois plus que la vitamine E ou les caroténoïdes. (Scalbert *et al.*, 2005). La structure chimique de tous les polyphénols est similaire. Ils sont distingués par un ou plusieurs noyaux aromatiques qui ont été hydroxylés. Selon Manallah (2012), les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. Une classification de ces substances a été proposée par Harborne en 1980. Selon lui, on peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Les flavonoïdes et les tanins sont les principales classes de polyphénols les plus largement répandues.

### 3.3.1. Rôle

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines). Ils participent aux interactions entre les plantes et les microorganismes : dans les pathogénèses comme dans les symbioses, qui sont des nodules de légumineuses. En réponse à des stress particuliers, comme les radiations ultraviolettes, ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales. De plus, ils sont des inhibiteurs d'enzymes et des agents chélatants des métaux qui nuisent aux plantes. En plus, ils sont impliqués dans la photosynthèse, la régulation des hormones de croissance des plantes, la morphogénèse et la détermination sexuelle et la photosensibilisation et les transferts d'énergie. (Pietta, 2001). Aussi, les flavonoïdes sont liés à diverses maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer (MA), l'athérosclérose, etc. par des effets biochimiques et antioxydants bénéfiques. (Lee & Lee, 2009). La santé vasculaire est améliorée par une alimentation riche en flavonoïdes provenant de plantes ou d'herbes et de boissons, ce qui réduit le risque de maladies. Il a été démontré que leur consommation améliore la fonction endothéliale en activant la synthase vasculaire de l'oxyde nitrique et la protéine kinase B. (Brüll *et al.*, 2015). Les flavonoïdes se sont avérés exceptionnellement efficaces pour empêcher la peroxydation des lipides. En revanche, la peroxydation des lipides est responsable du vieillissement, de l'athérosclérose, du diabète, de l'hépatotoxicité et de l'inflammation (Hu *et al.*, 2009). Les flavonoïdes maintiennent une bonne circulation sanguine (Gbénou *et al.*, 2011).

Ils ont la capacité de réhydrater les globules rouges falciformes (Gbolo *et al.* 2017). L'activité antifalcémiant de la majorité des plantes médicinales congolaises est attribuée aux flavonoïdes (Mpiana *et al.*, 2007 ; Mpiana *et al.*, 2008 ; Mpiana *et al.*, 2009 ; Mpiana *et al.*, 2010). Les flavonoïdes inhibent les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène fournis au cours de la drépanocytose (Ghosh *et al.*, 2009). Quant aux tanins, ils ont une fonction de protection contre les prédateurs naturels de la plante, tels que les champignons, les bactéries et les mammifères herbivores (Mueller-Harvey *et al.*, 2006). La présence excessive de tanins réduit l'appétence des plantes en raison de la sensation d'astringence associée à leur consommation, ce qui empêche la consommation et protège les plantes d'une prédation excessive (Jean-Blain, 2000). La liaison aux protéines rigidifie l'architecture de la plante et réduit son appétence, repoussant les « agresseurs » (Cazaux, 2002). Ils peuvent également être associés à la cellulose et à d'autres minéraux (Alkurd *et al.*, 2008). On distingue deux types de tanins : ceux qui sont hydrolysables et ceux qui sont condensés. Grâce à leurs fonctions phénoliques qui ont un fort caractère nucléophile, de nombreux tanins présentent des propriétés anti-oxydantes (Bruneton, 1999). Ils ont également été identifiés pour avoir des propriétés antimutagènes et anticancéreuses (Richelle *et al.*, 2001). Selon Létapin (2016), la consommation des plantes riches en tanins chez les petits ruminants semble représenter une méthode alternative ou complémentaire aux anthelminthiques de synthèse pour maîtriser les nématodes gastro-intestinaux et rendre la peau résistant aux parasites internes.

# **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est composé de matériel animal, humain et végétal.

Le matériel animal est constitué

- d'une part des souris albinos (*mus musculus*) mâles et femelles de poids compris entre 20 et 25 g. Les souris qui étaient nourries de façon standard avec accès libre à l'eau de robinet et soumis à un rythme d'éclairage nocturne diurne (12 heures d'éclairage, 12 heures d'obscurité). Les animaux étaient mis à jeun 24 heures avant toute expérimentation.

- d'autre part des rats de laboratoire de la famille Wistar (*Rattus norvegicus*) âgés de 8 à 12 semaines et pesant entre  $106 \pm 6$  g et 200 g. Les rats ont été acclimatés pendant une semaine avant le début de la manipulation et ont été nourris ad-libitum avec des granulés provenant de la société IVOGRAIN®. L'eau de robinet a été utilisée pour les abreuver et a été renouvelée constamment. Les animaux étaient nettoyés chaque deux jours. Les cages contenant les animaux étaient nettoyées chaque deux jours par renouvellement des copeaux de bois. L'animalerie était munie d'un système électrique contrôlant les périodes d'obscurité et de lumière de lampes néons par action (arrêt ou marche).

Quant au matériel humain, il est constitué de sang de population de génotype SS dont l'âge varie entre 3 et 50 ans. Il existait des critères d'inclusion et non inclusion. Ainsi, pour être inclus dans l'évaluation, le sang des sujets devrait être de génotype SS. Ce génotype a été confirmé par la méthode d'électrophorèse. De plus, les personnes volontaires chez qui les prélèvements sanguins ont été faits n'ont pas été transfusées pendant les deux mois et n'ont pas suivi de traitement durant les trois heures qui ont précédé la prise de sang, ni en crise pendant le prélèvement. Cet échantillonnage des volontaires n'a pas tenu compte de l'âge ni du sexe. Aussi, un consentement éclairé a été recueilli auprès de ces volontaires. Ce matériel humain était constitué de sang total provenant de patients volontaires du service d'Hématologie Clinique du CHU de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire).

S'agissant du matériel végétal, il est composé de deux (2) espèces de plantes dont la plante entière de *Rhynchospora corymbosa* et les feuilles et les tiges de *Olax subscorpioïdea*. Conformément aux pratiques utilisées, ces deux espèces de plantes ont été récoltées dans le Département de Korhogo (Nord de la Côte d'Ivoire).

Les deux espèces de plantes ont été identifiées avec l'application Planet puis confirmées par le laboratoire de Agrovalorisation de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa.

## **1.2. Produits et consommables**

Ils sont constitués :

- de l'eau distillée utilisée pour les extractions ;
- de l'eau physiologique (NaCl 0,9 %) pour les dilutions des extraits ;
- d'une solution tampon à pH 7,4 avec du phosphate (150 mM) pour le lavage des hématies ;
- de solvants organiques dont le chloroforme, l'alcool éthylique à 96°, l'acétate de sodium, l'acide chlorhydrique fumant (HCl), l'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), l'alcool chlorhydrique dilué 2 fois, l'alcool isoamylique, l'ammoniac diluée 2 fois, l'anhydride acétique utilisés pour le Triphytochimique ;
- de réactifs dont le chlorure ferrique 2 %, les copeaux de magnésium, le réactif de Bouchardat (réactif iodo-ioduré), le réactif de Dragendorff (iodobismuthate de potassium), le réactif de Stiasny, le réactif de Borntraeger, du réactif de Folin-ciocalteu, la solution de carbonate de sodium, l'acide gallique, le chlorure d'aluminium, l'acétate de potassium, la vanilline, l'acide tannique, l'acétate de sodium (ammoniac diluée au demi) utilisés pour la recherche des composés chimiques des plantes ;
- la carragénine pour induction de l'inflammation ;
- l'acide acétique (0,6 %) pour provoquer les contractions (douleurs) ;
- un comprimé de paracétamol (acétaminophène) a été utilisé comme témoin positif pour l'activité antiinflammatoire ;
- le diclofénac (acide 2-2,6-dichloranilino phénylacétique) comme témoin positif pour l'activité analgésique ;
- des tubes EDTA, des seringues et les gants utilisés pour les prélèvements
- des paraffines utilisées pour la mise à l'abri de l'air des tubes à hémolyse ;
- d'une solution de PBS à un pH de 7,4 pour la conservation des échantillons de sang ;
- la phénylhydrazine (PHZ) à 40 mg/kg/j pour l'induction de l'anémie aux rats ;
- une boîte d'éther COOPER pour anesthésier les rats ;
- de la vitamine B9 (acide folique ou folate) en forme de comprimé utilisé comme témoin positif ;
- de métabisulfite de sodium utilisé pour induction de la falciformation ;

- de métabisulfite de sodium pour induire la falciformation ;
- de la phénylalanine comme témoin positif pour l'inhibition de la falciformation ;
- les kits biochimiques dont : créatinine / alcaline picrate (Biolabo), le kit cholestérol oxidase /peroxidase (Biolabo) pour le dosage du cholestérol, le kit triglycérides GPO-POD. Enzymatique colorimétrique (Biolabo) pour mesurer les triglycérides et le kit cholestérol-HDL. Ces kits ont été utilisés par la méthode directe pour le dosage de HDL, le kit AST/TGO IFCC (Biolabo) pour évaluer l'activité des aminotransaminases aspartate et le kit ALT/TGP IFCC (Biolabo) pour l'évaluation de l'activité du taux de glucose, le bilan hépatique qui inclut l'aspartate amino transferase (ASAT), l'alanine amino transferase (ALAT), la phosphatase alcaline (PA), les triglycérides (TG), le cholestérol total (Chol T), le cholestérol LDL et le cholestérol HDL, ainsi que le bilan rénal, qui comprend l'urée, la créatinine et les protéines totales (Prot).

### **1.3. Matériel de laboratoire**

Il s'agit :

- d'un réfrigérateur pour la conservation des échantillons de sang ;
- des erlenmeyers, des éprouvettes graduées, des pipettes, des micropipettes, un bécher des tubes à hémolyse, des lames et lamelles ont été utilisés comme petit matériel de laboratoire ;
- d'un broyeur électrique de marque Retsch sk 100 pour la pulvérisation des différentes plantes ;
- d'une balance de marque Sartorius (TE214S) qui a servi pour les différentes pesées ;
- de bain-marie pour le chauffage de l'eau ;
- d'une étuve et des assiettes en verre pour obtenir les extraits en poudre ;
- d'une centrifugeuse de marque Jouan B4i utilisée pour le lavage des hématies ;
- d'un microscope de marque HumaScope Advanced Vision, lié à une tablette pour la détermination de la morphologie et le comptage des cellules ;
- un pied à coulisse numérique pour mesurer le diamètre des pattes des rats ;
- d'un spectrophotomètre utilisé pour déterminer l'absorbance du mélange des extraits, les hémoglobines et la solution de métabisulfite de sodium 2 % ;
- d'un ciseau pour la coupure d'une petite portion de la queue des rats ;
- d'un système automatique hématologique de marque Sysmex KX-21N pour la détermination des paramètres hématologique ;

- d'un automate biochimique de marque Roche Hitachi 902, Allemagne pour la détermination des paramètres biochimiques du sérum ;
- d'automate Roche Hitachi 902, Allemagne avec le kit biochimique Spinreact (Espagne) pour le dosage des paramètres biochimique du sang ;
- des tubes EDTA et secs pour le prélèvement sanguin ;
- d'une caméra numérique reliée à un logiciel pour l'analyse morphologique des érythrocytes et pour une détermination du taux de drépanocytes.

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des extraits végétaux

#### 2.1.1. Obtention de la poudre des différentes parties de l'étude de chaque plante

La plante entière de *Rhynchospora corymbosa*, ainsi que les feuilles et tiges d'*Olax subscorpioïdea* ont été récoltées, lavées, découpées puis séchées à l'abri du soleil à la température ambiante (25-30 °C) pendant trois semaines au Laboratoire de Agrovalorisation de l'UJLoG. Ensuite, elles ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (Retsch sk 100). Les poudres obtenues ont été stockées dans des bouteilles au laboratoire à la température de 25 °C pour une utilisation ultérieure.

#### 2.1.2. Préparation des décoctions

La décoction a été faite selon la méthode de Konkon *et al.* (2008). Ainsi cent grammes (100 g) de poudre de chaque espèce de plante ont été dissoutes dans un (1) litre d'eau distillée puis portées à l'ébullition (100 °C) sur une plaque chauffante pendant 10 minutes. Le mélange obtenu a été essoré dans un carré de tissu blanc puis filtré trois fois successivement sur du coton hydrophile et une fois sur du papier whatman (3 mm). Le filtrat a été évaporé à 60 °C dans une étuve de type Memmert GmbH. Après évaporation, les extraits obtenus ont été codés DRC pour l'espèce *Rhynchospora corymbosa* et DOSA pour *Olax subscorpioïdea* tout au long de l'étude.

#### 2.1.3. Rendement des extractions

Les rendements des extraits aqueux ont été calculés selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{M_f}{M_i} \times 100$$

1

*R* : Rendement des extraits ;

*M<sub>i</sub>* : Masse initiale ;

*M<sub>f</sub>* : Masse finale

## 2.2. Etudes phytochimiques des métabolites secondaires

### 2.2.1. Etude phytochimique qualitative

La caractérisation des principaux groupes chimiques tels que les stérols, les polyterpènes, les alcaloïdes, les tanins, les polyphénols, les flavonoïdes, les quinones, et les saponines a été réalisée sur chaque extrait aqueux DRC ou DOSA par la technique de précipitation ou de coloration selon les méthodes décrites par Wagner & Bladt (2001) et Békro *et al.* (2007).

#### 2.2.1.1. Recherche des alcaloïdes

Elle a été effectuée par des réactions de précipitation avec les révélateurs généraux des alcaloïdes dont le réactif de Dragendorff et le réactif de Bouchardat. Les alcaloïdes se complexent avec les métaux lourds tels que le bismuth, l'iode, le mercure, le tungstène et précipitent sous forme de sel. Ainsi, ils forment un précipité orangé avec le réactif de Dragendorff et un précipité brun rougeâtre avec celui de Bouchardat (réactif iodo-ioduré) (Wagner & Bladt, 2001).

Ainsi, un volume de six (6) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été évaporés à sec dans une capsule en porcelaine au bain de sable. Le résidu a été dilué dans 6 mL d'alcool à 60 °C. La solution alcoolique ainsi obtenue a été répartie dans deux tubes à essai. Dans le premier tube, deux gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration orangée a indiqué la présence d'alcaloïdes.

Dans le deuxième tube, deux gouttes de réactif de Bouchardat ont été ajoutées. L'apparition d'une coloration brune-rougeâtre a indiqué une présence d'alcaloïdes.

#### 2.2.1.2. Recherche des polyphénols

Les polyphénols ont été mis en évidence par la réaction au chlorure ferrique. Les phénols forment avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), un précipité coloré bleu-noirâtre ou vert. L'appréciation de cette coloration a été faite par rapport à un essai témoin (Békro *et al.*, 2007).

Ainsi, à un volume de deux (2) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA), une goutte de solution aqueuse de chlorure ferrique (2 %, v/v) a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée traduit la présence de composés phénoliques.

### **2.2.1.3. Recherche des tanins**

Le réactif de Stiasny qui est solution de formol hydrochlorique a permis de mettre en évidence les deux (2) types de tanins (cathéchiques et galliques).

En effet, les tanins cathéchiques, qui sont sous forme condensée et non hydrolysable, sont précipités en gros flocons par chauffage suivi de refroidissement. Quant aux tanins galliques qui sont des hétérosides hydrolysables, sont hydrolysés après addition d'acétate de sodium, puis ils forment un précipité bleu-noir en présence de chlorure ferrique (Békro *et al.*, 2007).

Pour les tanins catéchiques, cinq (5) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été ajoutés à 15 mL de réactif de Stiasny composé de 10 mL de formol à 40 % additionné de 5 mL d'HCl concentré à 37 %. Le mélange de chaque extrait aqueux a été maintenu au bain-Marie à 80 °C, pendant 30 min, puis refroidi sous courant d'eau. L'observation de gros précipités en flocons a caractérisé les tanins catéchiques.

Pour les tanins galliques, le mélange de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) contenant les flocons a été filtrée sur papier filtre whatman N°4 puis le filtrat recueilli a été ensuite saturé d'acétate de sodium. Une quantité de trois (3) gouttes de chlorure ferrique (2 %, v/v) a été ajoutée à chaque mélange. L'apparition d'une coloration bleu-noire intense a indiqué la présence de tanins galliques.

### **2.2.1.4. Recherche des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. En solution alcoolique, les dérivés flavoniques se colorent diversement en fonction de leur structure chimique. Ainsi, les flavones donnent une coloration orange, les flavonols se colorent en rouge et les flavonones en rouge-violacé (Békro *et al.*, 2007).

Ainsi, un volume de deux (2) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été évaporés sur bain de sable et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois.

Après cela, l'ajout de deux (2) à trois (3) copeaux de magnésium a permis une réduction de la chaleur et une teinte rose-orange ou violacée. L'addition de trois (3) gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration confirmant la présence de flavonoïdes. Une solution alcoolique de quercétine a été utilisée pour servir de témoin.

#### **2.2.1.5. Recherche des saponosides**

Le test de production de mousse a révélé les saponosides. Les saponosides ont un indice de mousse très élevé (supérieur à 3 cm) en solution aqueuse. Ils produisent une mousse persistante et importante (Békro *et al.*, 2007).

Par conséquent, un volume de dix (10) millilitres de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été placé dans un tube à essai et a ensuite été fermé hermétiquement à l'aide d'une capsule. Après avoir agité énergétiquement pendant une minute, la hauteur de la mousse a été mesurée après un repos de trois minutes. La persistance de la mousse à 1 cm indique la présence de saponosides.

#### **2.2.1.6. Recherche des polyterpènes et des stérols**

La recherche des stérols et des polyterpènes a été réalisée par la réaction de Libermann. En effet, les stérols et les terpènes réagissent avec l'acide sulfurique en présence de l'anhydride acétique pour former un complexe coloré pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert. Cette analyse a été faite comparativement au cholestérol qui sert de témoin (Békro *et al.*, 2007).

Ainsi, un volume de cinq (5) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été séché sous évaporateur rotatif.

Le résidu a été dissous à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique puis recueilli dans un tube à essai. Par la suite sur le long du tube, un volume de 0,5 mL d'acide sulfurique concentré a été coulé. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, tournant vers le bleu puis vers le vert a indiqué la présence de polyterpènes et de stérols.

### **2.2.1.7. Recherche des leuco anthocyanes**

Ainsi, un volume de deux (2) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été évaporé sur bain de sable. Après le refroidissement sur paillasse, un volume de 5 mL d'acide chlorhydrique concentré 37 % et 1 mL d'alcool isoamylique ont été ajoutés au résidu. Ensuite, la solution a été chauffée au bain-Marie à 80 °C pendant 30 minutes. L'apparition d'une coloration rouge-cérise ou violacée a caractérisé la présence des leuco-anthocyanes (Wagner & Bladt, 2001).

### **2.2.1.8. Recherche de quinones**

Le réactif de Borntraeger permet de mettre en évidence les substances quinoniques libres. Pour les substances quinoniques combinées, il faut procéder à une hydrolyse préalable avec du HCl au 1/5 (Békro *et al.*, 2007). L'essai a consisté à procéder immédiatement à l'hydrolyse de solutions d'extraits par ajout de l'acide chlorhydrique au 1/5 pour caractériser les substances quinoniques totales (substances quinoniques libres et substances quinoniques combinées).

Ainsi, un volume de deux (2) mL de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) a été évaporé à sec sur bain de sable. Le résidu a été repris dans 5 mL d'acide chlorhydrique à 37 % dilué au 1/5. La solution a été portée ensuite au bain-Marie bouillant pendant 30 min. Après le refroidissement sous un courant d'eau froide, il a été extrait par 20 mL de chloroforme dans un tube à essai. L'ammoniaque diluée 2 fois d'un volume de 0,5 mL a été ajoutée à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette a indiqué la présence de quinones.

## **2.2.2. Etude phytochimique quantitative**

Cette étude a concerné les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

### **2.2.2.1. Teneur en composés phénoliques**

La méthode de Singleton *et al.* (1999) a été utilisée pour le dosage des phénols totaux. Ainsi, une concentration de 0,001 mg/mL de chaque extrait aqueux de plante (DRC ou DOSA) a été introduit séparément dans un tube à essai auquel un volume de 1 mL de réactif de Folin-ciocalteu a été ajouté.

Le tube a été laissé au repos pendant trois (3) min, puis une solution de carbonate de sodium à 20 % (p/v) d'un volume de 1 ml a été ajoutée. Le contenu du tube a été augmenté à 10 mL avec de l'eau distillée. Le tube a été placé dans l'obscurité pendant 30 min et la lecture de l'absorbance a été déterminée à 745 nm contre un blanc (méthanol).

Une gamme étalon a été établie à partir d'une solution mère d'acide gallique (1 mg/mL) et a été mise dans les mêmes conditions que le test, permettant ainsi de déterminer la quantité de phénols dans le décocté à partir de la formule suivante :

$$\text{Polyphénols (mg/100g)} = \frac{\text{Abs} \times 5 \times 10^3}{5,04 \times M_e}$$

2

*Abs* : Absorbance

*Me* : Masse de l'extrait

### 2.2.2.2. Teneur des flavonoïdes

La méthode décrite par Meda *et al.* (2005) a été utilisée pour mesurer les flavonoïdes. Le principe de cette méthode est le suivant : les flavonoïdes réagissent avec le chlorure d'aluminium en présence d'acétate de potassium pour produire un complexe jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans le milieu. Ainsi, un volume de 0,5 mL de concentration 0,001 mg/mL de chaque extrait aqueux de plante (DRC ou DOSA) a été ajoutés successivement 0,5 mL successivement d'eau distillée, de chlorure d'aluminium, d'acétate de potassium et 2 mL d'eau distillée. Le tube a été laissé au repos pendant 30 min à l'obscurité et l'absorbance a été lue à 415 nm contre un blanc (méthanol).

Une gamme étalon a été établie à partir d'une solution mère de quercétine (0,1 mg/mL) dans les mêmes conditions que le test, permettant ainsi de déterminer la quantité en flavonoïdes de chaque décocté. La formule ci-dessous a permis de déterminer la teneur en flavonoïdes :

$$\text{Flavonoïdes (mg/100g)} = \frac{\text{Abs} \times 2 \times 10^3}{18,12 \times M_e}$$

3

*Abs* : Absorbance

*Me* : Masse de l'extrait

### 2.2.2.3. Teneur des tanins

Le dosage des tanins a été effectué suivant la méthode décrite par Bainbridge *et al.* (1996) dont le principe s'énonce comme suit : les tanins réagissent en milieu acide sulfurique avec la vanilline pour donner un complexe de couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de tanins présente dans le milieu.

Ainsi, un volume d'un (1 mL) de chaque extrait aqueux de plante (DRC ou DOSA) de concentration 0,001 mg/mL a été introduit séparément dans un tube à essai auquel a été ajouté 5 mL de réactif à la vanilline. Le tube a été laissé au repos pendant 30 min à l'obscurité et l'absorbance a été lue à 500 nm contre un blanc (méthanol). La quantité de tanins des échantillons a été déterminée à l'aide d'une gamme étalon établie à partir d'une solution mère d'acide tannique (2 mg/mL) dans les mêmes conditions que le test.

$$\text{Tanins (mg/100g)} = \frac{\text{Abs} \times 10^3}{3,11 \times M_e}$$

4

*Abs* : Absorbance

*Me* : Masse de l'extrait

## 2.3. Tests de toxicité

### 2.3.1. Toxicité aiguë

Le protocole décrit par Costa-Silva *et al.* (2008) a été utilisé pour effectuer le test de toxicité aiguë. Les rats pesant entre 102 et 119 g ont été répartis en trois lots de six (6) sujets, chacun composé de trois mâles et trois femelles, et ont été acclimatés pendant une semaine. Avant de recevoir les différents extraits, ils ont été à jeun pendant 18 heures. Le lot 1 (le lot témoin) a reçu de l'eau distillée, tandis que les lots 2 et 3 ont reçu les extraits DRC ou DOSA à 2000 mg/kg/PC respectivement par voie orale en une seule administration. Le changement du comportement général ou la mortalité des rats de chaque lot a été surveillés durant 14 jours. Cette expérience a été réalisée selon les normes du système de classification globale harmonisé de l'OCDE (2001).

### 2.3.2. Toxicité subaiguë

Le protocole décrit par Silva *et al.*, (2007) et Musa *et al.* (2016) a été utilisé pour effectuer le test. En raison de six (6) rats par lot (3 mâles et 3 femelles), les rats pesant entre 76 et 105 g ont été divisés en sept lots et leur poids a été enregistré avant le début du traitement.

- le lot 1 (témoin) a reçu de l'eau distillée à 2 mL /100 g ;
- les lots 2 ; 3 et 4 ont reçu par voie orale une solution d'extrait de DRC aux doses respectives de 400 ; 800 et 1600 mg/Kg/PC ;
- les lots 5 ; 6 et 7 ont également reçu une solution d'extrait de DOSA aux doses respectives de 400 ; 800 et 1600 mg/Kg/PC.

Pendant 28 jours, tous les traitements ont été administrés à une dose quotidienne de 2 mL/ 100 g. Pendant le traitement, les rats ont été observés pour rechercher des signes anormaux. Jusqu'au dernier jour du traitement, leur poids corporel a également été enregistré à la fin de chaque semaine. À la fin de l'expérimentation, les rats ont été jeûnés pendant 16 heures avec un accès libre à eau. Par la suite, selon les normes du système de classification globale harmonisé de l'OCDE (2008), ils ont été décapités après avoir été anesthésiés par inhalation avec de l'éther.

Ainsi, Par conséquent, 1,5 mL ou plus de sang a été prélevé dans des tubes EDTA pour des études hématologiques et 3 mL ou plus de sang a été prélevé dans des tubes secs et gris pour des études biochimiques. Ensuite, ces rats ont été dispersés et des organes tels que le cœur, le foie, les poumons, les reins et la rate ont été collectés et pesés. Afin d'identifier des lésions potentielles, des observations macroscopiques ont été effectuées sur ces différents organes prélevés.

La formule suivante a été utilisée pour déterminer le poids relatif (Pr) de chaque organe. :

$$Pr = \frac{Po}{Pa} \times 100$$

5

*Pr* : Poids relatif ;

*Po* : Poids de l'organe en g ;

*Pa* : Poids corporel en g.

#### 2.3.2.1. Paramètres zootechniques

Pour déterminer l'effet de chaque extrait aqueux DRC ou DOSA sur des paramètres zootechniques, sept (7) lots de 5 rats ont été constitués puis pesés aux jours J0, J2, J7, J14 et J21.

Cette expérimentation a permis de déterminer le poids moyen (PM) et le gain moyen quotidien (GMQ) des rats testés par rapport aux rats témoins pendant la durée de l'expérimentation (21 jours).

### 2.2.2.1.1. Poids moyen (PM)

La formule suivante a été utilisée pour calculer le poids moyen en rapportant la somme des poids des personnes d'un même lot par leur effectif :

$$PM = \frac{\text{Somme des poids des individus d'un même lot}}{\text{Effectif total du lot}}$$

6

### 2.3.2.1.2. Gain Moyen Quotidien (GMQ)

Le gain moyen quotidien a été calculé en faisant le rapport du gain moyen pendant une période sur la durée en jour en utilisant les valeurs de poids des rats après chaque pesée.

$$GMQ = \frac{\text{Gain de poids pendant une période donnée(g)}}{\text{Durée de la période(Jours)}}$$

7

### 2.3.2.2. Paramètres hématologiques et biochimiques

Les paramètres hématologiques dont l'hématocrite (HCT), le taux d'hémoglobine (Hb), le nombre de plaquettes (PLT), la numération globulaire (érythrocytes : globules rouges et leucocytes (GB), le volume corpusculaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH), la teneur concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), les lymphocytes (LYM), les neutrophiles, les monocytes, les éosinophytes et les basophytes ont été réalisées à l'aide de l'automate (Sysmex KX-21N). Quant à l'analyse biochimique, elle a concerné : le taux de glucose, le bilan hépatique (l'aspartate amino transferase (ASAT), l'alanine amino transferase (ALAT), la phosphatase alcaline (PA), les triglycérides (TG), le cholestérol totale (Chol T), le LDL cholestérol et le HDL cholestérol) et le bilan rénal (l'urée, la créatinine et les protéines Totales (Prot)). Après une centrifugation à 3000 tours par minute pendant dix minutes du sang prélevé dans des tubes secs, cette analyse biochimique a été effectuée.

Les analyses ont été menées à l'automate Roche Hitachi 902 Allemagne avec le kit biochimique Spinreact. La formule a été utilisée pour déterminer le taux de LDL-cholestérol de Friedewald *et al.* (1972).

$$\text{LDL cholesterol} = \text{Cholesterol total} - \text{HDL cholesterol} - \frac{\text{Triglyceride}}{5}$$

8

#### 2.3.2.2.1. Dosage de la glycémie

Le glucose présent dans le sérum a été déterminé selon la méthode à la glucose oxydase.

##### 2.3.2.2.1.1. Principe

La détermination du glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase. Cette méthode est plus sensible et plus spécifique que la technique à l'orthotoluidine.

##### 2.3.2.2.1.2. Mode opératoire

Dans une série de trois tubes (blanc, calibrateur et échantillon) contenant un millilitre de la solution enzymatique de glucose ont été ajoutés respectivement 10  $\mu\text{L}$  d'eau distillée, du calibrateur et du sérum à tester. Chaque mélange a été homogénéisé puis incubé à 37 °C pendant 10 min. Ensuite, la densité optique a été mesurée à 500 nm contre ce blanc.

#### 2.3.2.2.2. Dosage de l'urée

##### 2.3.2.2.2.1. Principe

L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone. L'ammoniac, en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite (NADH), se combine à l' $\alpha$ -cétoglutarate ( $\alpha$ -CG) pour former du L-glutamate et un complexe coloré en bleu-vert. La diminution de la concentration de NADH dans le milieu qui s'observe par la diminution de l'absorbance de la coloration à 340 nm est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Cette méthode est plus sensible et plus spécifique que la technique à la diacétyl-monoxime.

#### **2.3.2.2.2.2. Mode opératoire**

Dans une série de trois tubes (étalon, blanc, essais) contenant chacun 1000 µL de milieu réactionnel, ont été ajoutés 100 µL d'étalon urée (tube 1), 100 µL d'eau distillée (tube 2) et 100 µL d'échantillon du sérum à tester (tube 3). Après agitation automatique pendant 1 min et incubation à la température ambiante (25 °C), les densités optiques de chaque tube ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm contre le blanc, pour déterminer la concentration sérique de l'urée.

#### **2.3.2.2.3. Dosage de la créatinine**

##### **2.3.2.2.3.1. Principe**

Il est basé sur la mesure de la formation d'un complexe coloré entre la créatinine et le picrate alcalin selon la méthode de Murray & Kaplan (1984). La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon. Cette technique a l'avantage d'être automatisable.

Par ailleurs, au cours de la méthode cinétique, les effets des substances interférentes sont réduits, ce qui rend cette méthode plus sensible et plus précise que la technique en point final.

##### **2.3.2.2.3.2. Mode opératoire**

Dans une série de trois tubes dont un tube étalon, un tube blanc et un tube à essai contenant chacun 500 µL du milieu réactionnel, ont été ajoutés respectivement 100 µL d'étalon créatinine, 100 µL d'eau distillée et 100 µL d'échantillon du sérum à tester. Les tubes ont été agités, et après 30 secondes une première absorbance A1 à 500 nm a été lue pour chaque tube contre le blanc contenant le milieu réactionnel. Quatre-vingt-dix (90) secondes après la première lecture, une deuxième lecture a été effectuée (absorbance A2 à 500 nm). La clairance de la créatinine est importante dans l'exploration de la fonction rénale et dans la surveillance des insuffisances rénales et des hémodialysés. Elle apprécie la valeur de la filtration glomérulaire.

#### **2.3.2.2.4. Dosage des protéines totales**

##### **2.3.2.2.4.1. Principe**

Les protéines sériques forment un complexe coloré en présence des sels de cuivre en milieu alcalin selon la réaction de Biuret.

L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en protéines. Cette technique s'applique difficilement à des solutions diluées de protéines (LCR, urines et liquides de ponction) et reste peu sensible lorsque la concentration en protéines est inférieure à 6 g/L. En présence de tartrate de sodium et de potassium en milieu alcalin, les protéines contenues dans le sérum produisent un complexe coloré.

#### **2.3.2.2.4.2. Mode opératoire**

A un volume de 1 mL de milieu réactionnel contenant du chlorure de sodium (0,15 mol/L), de l'hydroxyde de sodium (0,75 mol/L), de tartrate de sodium et potassium (6 mmol/L), d'iodure de potassium (6 mmol/L) et de sulfate cuivrique (6 mmol/L), a été ajouté 0,02 mL de sérum à tester. Après une agitation automatique puis une incubation à la température ambiante pendant 10 min, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 550 nm. Une solution de protéine de titre connu a été utilisée comme solution étalon.

#### **2.3.2.2.5. Dosage du cholestérol total**

Le cholestérol total présent dans le sérum a été déterminé selon la méthode enzymatique de Naito & Kaplan (1984).

##### **2.3.2.2.5.1. Principe**

Le cholestérol sanguin se présente sous deux formes, la forme libre et la forme estérifiée. La forme estérifiée est hydrolysée par le cholestérol estérase pour donner la forme libre et des acides gras. En présence du cholestérol oxydase, le cholestérol libre s'oxyde pour former du cholestène -4-one-3 et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec l'acide hydroxybenzoïque (HBA) et de la 4-aminoantipirine pour former la quinonéimine de couleur rouge. L'absorbance de cette coloration mesurée à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenue dans le sérum. La réaction est la suivante.

##### **2.3.2.2.5.2. Mode opératoire**

Un tube sec contenant 1000 µL de réactif qui est le PIPES (acide pipérazine-1,4- bis (éthane-2 sulfonique)) à 35 mmol/L, du cholate de sodium (0,5 mmol/L), du phénol (>28 mmol/L), du cholestérol estérase (>0,2 UI/mL), du cholestérol oxydase (> 0,1 UI/mL), Peroxydase (> 0,8 UI/L), 4-Amino antipyrine (0,5 mmol/L), avec un pH 7,0, pré-incubé à 37 °C pendant 2 à 3

minutes ensuite un volume de 10 µL de l'échantillon à doser a été ajouté. Après agitation pendant 1 minute puis incubation automatique à la température ambiante (16 à 25 °C) pendant 10 minutes, la densité optique a été lue au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc contenant le milieu réactionnel.

### 2.3.2.2.6. Cholesterol HDL

#### 2.3.2.2.6.1. Principe

Une méthode homogène pour mesurer directement les concentrations de cholestérol HDL dans le sérum ou le plasma est le dosage direct du cholestérol HDL sans avoir besoin d'un prétraitement hors ligne ou d'étapes de centrifugation. La méthode utilise deux réactifs et dépend des caractéristiques d'un seul détergent. Elle est effectuée en cinq étapes. En effet, cette méthode repose sur l'accélération de la réaction du cholestérol oxydase (CO) avec un cholestérol non HDL non estérifié, ainsi que sur la dissolution sélective du HDL à l'aide d'un détergent spécifique. Dans le premier réactif, le cholestérol non HDL non estérifié est soumis à une réaction enzymatique et le peroxyde généré est consommé par une réaction peroxydase avec DSBmT donnant un produit sans couleur. Le second réactif consiste en un détergent capable de solubiliser le HDL spécifiquement, un cholestérol estérase (CE) et un coupleur chromogène pour développer une couleur pour la détermination quantitative du cholestérol HDL. On peut référer à ce processus comme étant la Méthodologie détergent sélectif et accélérateur.

#### 2.3.2.2.7. Méthode d'analyse du LDL

La formule de Friedewald *et al.* (1972) a permis de calculer le taux de LDL-cholestérol (LDL-C) si le taux des triglycérides < 3,4 g/l.

Connaissant les taux de cholestérol total, de cholestérol HDL et de triglycérides, le taux de cholestérol LDL est déterminé par la méthode de différence selon l'équation :

$$\text{LDL cholesterol en g/L} = \text{Cholesterol total} - \text{HDL cholesterol} - \frac{\text{Triglyceride}}{5}$$

9

#### **2.3.2.2.8. Dosage des triglycérides**

Les triglycérides présents dans le sérum sont déterminés selon la méthode enzymatique de Fossati *et al.* (1983). Les triglycérides sont des graisses neutres. Ce sont des esters de glycérol. Leur synthèse a lieu dans les microsomes et les mitochondries. Au cours de leur absorption intestinale, les triglycérides passent dans le torrent circulatoire sous forme de chylomicrons qui confèrent au sérum la lactescence post prandiale. Après action de la lipoprotéine lipase, les triglycérides partiellement hydrolysés vont gagner le foie où ils vont constituer des réserves énergétiques et vont participer à diverses voies métaboliques.

##### **2.3.2.2.8.1. Principe**

La détermination des triglycérides se fait par la méthode enzymatique

##### **2.3.2.2.8.2. Mode opératoire**

Avant emploi, les réactifs et les échantillons ont été maintenus à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes. Le coffret contient 2 réactifs dont R1 et R2. La solution de travail est obtenue en dissolvant le réactif 2 dans le réactif 1 et stabilisé pendant 1 semaine à 20-25 °C. Par la suite, dans une série de trois tubes contenant 1 mL de la solution enzymatique (solution de travail) de triglycérides ont été ajoutés respectivement 10 µL d'eau distillée, du calibre et du sérum à tester. Chaque mélange a été homogénéisé puis incubé à 37 °C pendant 10 min. Puis, la densité optique est mesurée à 500 nm contre un blanc composé de la solution enzymatique.

La concentration des triglycérides a été déterminée à l'aide de la formule ci-dessous :

#### **2.3.2.2.9. Dosage de aspartate aminotransferase (ASAT) ou Transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO)**

##### **2.3.2.2.9.1. Principe**

L'aspartate aminotransférase (ASAT) transfère son groupement aminé sur l'atome de carbone de l' $\alpha$ -cétoglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate. L'oxaloacétate est ensuite réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH réduit qui s'oxyde en NAD<sup>+</sup>. La quantité de NADH réduit est directement proportionnelle à l'intensité de l'oxaloacétate présent dans le sérum et donc à l'intensité de l'activité de l'ASAT.

Cette activité catalytique a été obtenue par la détermination de la disparition du NADH à 340 nm contre un blanc contenant le milieu réactionnel.

#### **2.3.2.2.9.2. Mode opératoire**

Un tube EDTA hépariné contenant 500  $\mu$ L de réactif (le tampon Tris HCl à pH 7,8, le L-aspartate (240 mM),  $\alpha$  ceto glutamate (12 mM), le NADH (0,18 mM), le MDH ( $\geq$  500 U/L), le LDH ( $\geq$  1200 U/L) et de l'azide de sodium à 0,9 %) a été pré-incubé à 37 °C pendant 2 minutes, ensuite il a été ajouté un volume de 50  $\mu$ L de l'échantillon à doser.

Après agitation pendant 1 minute, les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm pour déterminer l'activité enzymatique sérique de l'ASAT. Cette activité est calculée à partir de  $\lambda$  (340 nm) et du facteur ASAT.

#### **2.3.2.2.10. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) ou Transaminase glutamopyruvique (TGP)**

##### **2.2.2.2.10.1. Principe**

L'alanine aminotransférase (ALAT) catalyse le transfert du groupement amine de l'alanine sur l' $\alpha$ -cétoglutarate pour former du pyruvate et de la L-glutamate. Le pyruvate est converti en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH). Le taux de réduction du NADH est proportionnel à la quantité de pyruvate formé dans le milieu et donc à l'activité de l'alanine. Cette activité est déterminée par la mesure de l'absorbance à 350 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel.

##### **2.3.2.2.10.2. Mode opératoire**

Un tube EDTA hépariné contenant 500  $\mu$ L de réactif (du tampon Tris HCl à pH 7,8 (100 mM), du L-alanine (500 mM), de l' $\alpha$ -cétoglutarate (15 mM), du NADH (0,1 mM), du LDH ( $\geq$  1428 U/L)) a été pré-incubé à 37 °C pendant 2 à 3 minutes, ensuite un volume de 50  $\mu$ L de l'échantillon à doser a été ajouté. Après agitation pendant 1 minute, les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 350 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel, pour déterminer l'activité enzymatique sérique de l'ALAT. Cette activité est calculée à partir de  $\lambda$  (350 nm) et du facteur ALAT, (FALAT).

### **2.3.2.3. Histopathologique des organes**

Les échantillons du foie et du rein des rats traités avec la dose la plus élevée (1600 mg/Kg) et des rats témoins ont été fixés dans du formol à 10 %, les organes ont subi plusieurs déshydrations dans des bains d'éthanol et une inclusion dans de la paraffine. Des coupes de 5 µm ont été prélevées sur le microtome, puis colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine (H&E) fixées entre lame et lamelle et observées à l'aide d'un microscope optique. Une caméra numérique connectée à un logiciel a été utilisée pour prendre des photos des différentes coupes histologiques.

## **2.4. Inhibition de la falciformation et de la polymérisation des hémoglobines SS par les extraits de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olox subscorpioïdea***

Pour le test anti-drépanocytaire, des échantillons de sang ont été collectés dans les tubes EDTA chez des personnes drépanocytaires venus faire leur bilan de santé au CHU de Cocody. Ces échantillons ont été transportés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid et conservés dans un réfrigérateur à 4 °C.

### **2.4.1. Test d'inhibition de la falciformation**

#### **2.4.1.1. Principe**

Ces échantillons de sang prélevés ont servi pour le test d'inhibition de la falciformation. La méthode utilisée a été celle d'Emmel (1933). Elle permet d'évaluer l'effet de chaque extrait aqueux étudié sur l'inhibition de la falciformation.

#### **2.4.1.2. Protocole**

Un test de confirmation de la drépanocytose de génotype SS a d'abord été effectué sur les patients au laboratoire de l'hémato-clinique du CHU de Cocody. Après cette étape, l'échantillon de sang de génotype Hb SS confirmé a été centrifugé pendant cinq (5) minutes à 1 000 tours/min. Cette opération a été répétée trois (3) fois, en vue de l'élimination complète du surnageant. Par la suite, le surnageant a été retiré à l'aide d'une pipette Pasteur, puis un volume de 1 mL de globules rouges obtenu a été suspendu dans 9 mL d'eau physiologique (NaCl 0,9 %).

Ensuite, des solutions de concentrations 0,3125 ; 0,625; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL de DRC ou DOSA ont été préparées séparément par des doubles dilutions en utilisant le liquide physiologique (NaCl 0,9 %).

Après quoi, un volume de 50 µL de chaque concentration d'extrait précédemment préparée a été mélangés, successivement et distinctement avec un volume de 50 µL de sang obtenu par centrifugation et 50 µL de métabisulfite de sodium (2 %, p/v) dans un tube à essai. Cette étape constitue le test expérimental.

Parallèlement à cette étape, deux lots témoins dont un lot témoin négatif et positif de six (6) tubes à essais chacun ont été préparés. Pour le lot témoin négatif, chaque tube à essai a contenu 50 µL de sang centrifugé, 50 µL d'eau physiologique et à 50 µL de métabisulfite de sodium (2 %, p/v). Quant au lot témoin positif, chaque tube à essai a été préparé en ajoutant à 50 µL de sang centrifugé, 50 µL d'une solution de phénylalanine allant de 0,3125 à 10 mg/mL et 50 µL de métabisulfite de sodium (2 %, p/v). Les tubes ont été conditionnés dans une chambre noire à l'abri de la lumière. Enfin, l'ensemble des tubes obtenus a été séparément refermé avec la paraffine pour leur isolement.

Après chaque étape, une goutte du mélange de chaque tube a été déposée entre lame et lamelle à chaque 30 minute et l'observation a été faite au microscope optique (x 40) pour l'analyse morphologique des érythrocytes et le comptage des drépanocytes pendant 120 minutes. Les hématies anormales (drépanocytes) de forme faucille, avec parfois des bords frangés en « feuille de houx » ont été dénombrées. Puis l'activité antifalcémiant aux différentes concentrations a été exprimée en pourcentage de drépanocytes formés en présence en comparant avec des extraits et avec la molécule de référence et ceux du témoin négatif.

Cette activité a été calculée selon la formule ci-dessous :

$$AA = \frac{P0 - P1}{P0} \times 100$$

10

*AA : Activité antifalcémiant ;*

*P0 : Moyenne des drépanocytes des lames témoins ;*

*P1 : Moyenne des drépanocytes des lames tests en présence de chaque extrait aqueux de plantes.*

## 2.4.2. Tests d'inhibition de la polymérisation

### 2.4.2.1. Préparation de la solution tampon phosphate salin (PBS)

Une solution mère de PBS a été préparée avec un mélange de 180 grammes de chlorure de sodium (NaCl), de 27,31 g de hydrogénophosphate de sodium (Na<sub>2</sub>HPO) et de 74 g de dihydrogénophosphate de sodium (NAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Cet ensemble a été dissous dans 2 litres d'eau distillée. Cette solution "Bourse (phosphate-buffered saline) NaCl-PO<sub>4</sub>" équivalant à une solution de NaCl de 10 % a été conservée au congélateur pendant six mois.

### 2.4.2.2. Préparation de la solution de métabisulfite de sodium à 2 %

Une quantité de 2 g de métabisulfite de sodium a été placée dans un Bécher de 100 mL. A cela a été ajouté 10 mL de l'eau distillée puis l'ensemble été complété à 100 mL avec de l'eau distillée après la dissolution du soluté.

### 2.4.2.3. Collecte et préparation des hémolysât

La méthode utilisée a été celle Tsakiris *et al.* (2005). Elle a permis d'évaluer l'effet de chaque extrait aqueux étudié sur l'inhibition de la polymérisation. Ainsi, un volume de 5 mL de l'échantillon de sang de génotype HbS confirmé par un test électrophorétique a été introduit dans un tube à essai et complété à 10 mL avec une solution saline. L'ensemble a été centrifugé pendant dix (10) minutes à 2 000 tours/min. Cette opération a été répétée trois (3) fois. Par la suite, le surnageant et le plasma ont été retirés à l'aide d'une pipette pour n'obtenir que l'hématocrite.

Puis, un volume de 1 mL d'hématocrite a été suspendu dans 9 mL de la solution de PBS à un pH de 7,4 puis conservé pendant vingt (20) heures à 4 °C. Selon Galbraith *et al.* (1980), les érythrocytes après lavage ont été lysés par le phénomène de l'osmose dans une solution saline. Cet hémolysât a été utilisé pour les expériences de polymérisation.

### 2.4.2.4. Tests d'inhibition de la polymérisation

Pour les expériences de l'inhibition de la polymérisation, un volume de 0,1 mL d'hémolysât d'HbS a été introduit dans un tube à essai auquel a été ajouté 0,5 mL de PBS et 1 mL d'eau distillée.

Le mélange a été transféré dans un bécher puis 3,4 mL de solution aqueuse de métabisulfite de sodium à 2 g/mL y a été ajouté. L'absorbance du mélange a été enregistrée à l'aide d'un spectrophotomètre toutes les trente (30) secondes pendant trois minutes (test de contrôle).

Cette opération a été répétée en remplaçant respectivement l'eau distillée par les solutions de chaque extrait aqueux (DRC ou DOSA) avec des concentrations variant entre 0,3125 et 10 mg/mL. Le pourcentage de l'inhibition de la polymérisation a été déduit grâce aux changements d'absorbance du mélange d'essai avec succession de temps selon la formule :

$$\% IP = \frac{At/Ac}{Ac180thsec} \times 100$$

11

*% IP : pourcentage d'inhibition de la Polymérisation*

*At/Ac : Absorbance du test/test de contrôle au temps t (sec).*

*Ac180thsec : Absorbance du test de contrôle 180 seconde.*

## **2.5. Potentialités antianémique, antiinflammatoire et analgésique de chaque extrait *Rhynchospora corymbosa* ou *Olax subscorpioïdea***

### **2.5.1. Détermination de l'activité antianémique**

#### **2.5.1.1. Principe**

L'anémie a été provoquée en utilisant 40 mg/Kg/j de phénylhydrazine (PHZ) pendant deux jours (J 0 et J 1) par voie intra péritonéale. Cette anémie a été réalisée sur les rats des lots 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 et 9.

Néanmoins, le volume de phénylhydrazine prélevé est fonction du poids corporel de l'animal sollicité. Ainsi pour un animal de 100 g/PC, l'on doit prélever un volume de 1 mL de ce produit. Les animaux traités avec la phénylhydrazine et dont la concentration d'hémoglobine <12 g/dL sont considérés comme anémiques (Berger, 2007).

#### **2.5.1.2. Protocole**

Pour le traitement des rats anémiés avec DRC ou DOSA ou vitamine B9 (acide folique ou folate), un total de 54 rats de poids corporel compris entre 150-230 g et dont l'âgés varie entre 4 à 5 mois

a été constitué. Ainsi, au cours de la phase d'expérimentation, le sang de chaque rat a été prélevé distinctement dans un premier temps (J<sub>0</sub>) par incision de la queue. Ensuite, après l'induction de la PHZ, ils ont été répartis dans 9 lots de 6 rats chacun. Ainsi :

- le lot 1 a comporté les rats sains (groupe de témoin positif) ayant reçu oralement une solution de NaCl ;
- le lot 2 a été constitué des rats témoins anémiés (groupe de témoin négatif) ayant reçu oralement une solution de NaCl ;
- le lot 3 a contenu les rats anémiés ayant reçu oralement la solution de la vitamine B9 ;
- les lots 4 ; 5 et 6 ont été constitué des rats ayant reçu oralement des doses respectives de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC de DRC.
- les lots 7 ; 8 et 9 ont comporté des rats également reçu oralement des doses respectives de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC de DOSA.

Quel que soit le lot considéré, un volume de 1 mL de chaque produit pour 100 g de poids corporel a été administré par gavage dans différents lots réalisés de J<sub>2</sub> à J<sub>21</sub>.

### 2.5.1.3. Paramètres zootechniques

Pour déterminer l'effet de chaque extrait aqueux DRC ou DOSA sur des paramètres zootechniques, neuf (9) lots de 5 rats ont été constitués puis pesés aux jours J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>7</sub>, J<sub>14</sub> et J<sub>21</sub>. Cette expérimentation a permis de déterminer le poids moyen (PM) et le gain moyen quotidien (GMQ) des rats par rapport à la durée de l'expérimentation (21 jours).

#### 2.5.1.3.1. Poids moyen (PM)

Le Poids Moyen a été déterminé en faisant le rapport de la somme des poids des individus d'un même lot par leur effectif selon la formule suivante :

$$PM = \frac{\text{Somme des poids des individus d'un même lot}}{\text{Effectif total du lot}}$$

12

### 2.5.1.3.2. Gain Moyen Quotidien (GMQ)

A l'aide des valeurs des poids des rats après chaque pesée, le gain moyen quotidien a été calculé en faisant le rapport du gain moyen pendant une période sur la durée en jour selon la formule suivante :

$$\text{GMQ} = \frac{\text{Gain de poids pendant une période donnée(g)}}{\text{Durée de la période(Jours)}}$$

13

### 2.5.1.4. Détermination des paramètres hématologiques des rats traités

Les paramètres hématologiques ont été dosés aux jours J0, J2, J7, J14 et J21 chez les neuf (9) lots de rats à l'aide de l'automate (Sysmex KX 21) à l'Institut Pasteur de Cocody. Les rats ont été pesés avant tout prélèvement aux jours concernés. Préalablement, la queue de chaque rat a été plongée dans de l'eau tiède pour provoquer une vasodilatation. Ainsi, l'incision d'une petite portion de moins de 5 mm de la queue du rat initialement anesthésié avec d'éther a été effectuée. Puis la queue du rat incisé a été massée avec douceur de la base vers l'extrémité. Afin de recueillir le sang total dans des tubes EDTA.

## 2.5.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

### 2.5.2.1. Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat à la carragénine

La Carragénine a été utilisée pour provoquer l'inflammatoire de la patte du rat.

#### 2.5.2.1.1. Principe

L'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'un rat entraîne l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne (signe clinique de l'inflammation). L'intensité de cet œdème qui atteint son maximum de développement en 5 heures a été évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte par rapport au volume initial. L'administration préventive par voie orale d'un produit antiinflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème. Le test de l'activité antiinflammatoire a été effectué selon la méthode de Winter *et al.* (1962) et modifiée par Anupana (2012).

### 2.5.2.1.2. Protocole

Pour sa réalisation, cinquante-quatre (54) rats de poids compris entre 130 g et 170 g ont été utilisées puis traités avec les différentes solutions. Pour cela, ils ont été mis à jeun pendant 24 heures ensuite réparties en 9 lots de 6 rats comme suit :

- le lot 1 (témoin normal) et le lot 2 (témoin non traité) ont reçu oralement respectivement 1 mL d'eau distillée pour 100 g de poids corporel ;
- le lot 3 (lot témoin traité) a reçu oralement le diclofénac (acide 2-2,6-dichloranilino phénylacétique) à 1 mL pour 100 g de poids corporel de 10 mg/kg/pc ;
- les lots 4 ; 5 et 6 ont reçu oralement respectivement 1 mL d'extrait de DRC pour 100 g de poids corporel des doses de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC.
- les lots 7 ; 8 et 9 ont reçu oralement respectivement 1 mL d'extrait de DOSA pour 100 g de poids corporel des doses de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC.

Toutes ces prises orales ont été réalisées par gavage. Ainsi après une heure, un volume de 0,1 mL de la solution de carragénine à 1 % a été injectée par voie cutanée au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque rat des lots 2 à 9. Après quoi, l'évolution de l'œdème a été déterminée à 1 h, 2 h, 3 h, 4 h et 5 h.

Le gavage des différents rats avec les solutions de Diclofénac (acide 2-2,6-dichloranilino phénylacétique), DRC ou DOSA et de l'eau distillée à 1 mL pour 100 g par poids corporel. Une quantité de 0,1 mL de la solution de carragénine à 1 % a été injectée 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 déterminée à 1 h, 2 h, 3 h, 4 h et 5 h à l'aide d'un pied à coulisse numérique.

Toutefois, il faut signaler qu'avant tout traitement (temps  $T_0$ ), le diamètre de la patte postérieure arrière droite de chaque rat des divers lots a été déterminé à l'aide d'un pied à coulisse numérique. Par la suite l'importance des œdèmes a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (% AUG) du diamètre de la patte de chaque rat suivant la formule :

$$\% \text{ AUG} = \frac{D1 - D0}{D0} \times 100$$

14

*% AUG : pourcentage d'augmentation*

*D1 : Diamètre de la patte au temps t*

*D0 : Diamètre initial de la patte*

Quant à l'activité antiinflammatoire a été aussi évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème selon la formule :

$$\% \text{ INH} = \frac{\% \text{ AUG}_{TM} - \% \text{ AUG}_{TT}}{\% \text{ AUG}_{TM}} \times 100$$

15

$\% \text{ AUG}_{TM}$  : Pourcentage augmentation des témoins

$\% \text{ AUG}_{TT}$  : Pourcentage d'augmentation des Traités

### 2.5.3. Détermination de l'activité analgésique

#### 2.5.3.1. Principe

Le processus utilisé est basé sur celui décrit par Koster *et al.* (1959) et a été modifié par Collier *et al.* (1968). Il a consisté à injecter une solution diluée d'acide acétique par voie intrapéritonéale pour évaluer l'effet inhibiteur de chaque extrait aqueux sur la douleur chez les souris. Les douleurs se manifestent par un mouvement d'étirement et de torsion des pattes postérieures de la musculature dorso-abdominale (spasmes).

#### 2.5.3.2. Protocole

L'induction de torsion a été réalisée par injection intrapéritonéale aux souris d'une solution d'acide acétique 0,6 % à raison de 10 mg/Kg/PC. Tous les souris ont reçu une proportion de 1 mL pour 100 grammes de poids corporel. Ainsi, huit (8) lots de six (6) souris ont été constitués :

- le lot 1 (lot témoin) a reçu oralement 1 mL pour 100 g de poids corporel de l'eau distillée;
- le lot 2 a reçu oralement le comprimé de paracétamol (acétaminophène) (dose de 10 mg/Kg/PC) ;
- les lots 3 ; 4 et 5 ont reçu oralement respectivement 1 mL d'extrait de DRC pour 100 g de poids corporel des doses de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC ;
- les lots 6 ; 7 et 8 ont reçu oralement respectivement 1 mL d'extrait de DOSA pour 100 g de poids corporel des doses de 200 ; 400 et 800 mg/Kg/PC.

Toutes ces prises orales ont été réalisées par gavage. Ainsi après une heure, un volume de 0,1 mL de la solution d'acide acétique 0,6 % (10 mg/Kg/PC) a été injecté à chaque souris des différents lots. Après cette étape, un temps de latence de cinq minutes a été observé.

Ensuite, le nombre de torsions abdominales a été observé pendant 20 minutes par chaque animal de chacun des lots. Enfin, il a été évalué en moyenne par lot de traitement.

J2 à l'activité antalgique a été mesurée comme le pourcentage de réduction des moyennes de torsions abdominales suivant la formule :

$$\text{PIC (\%)} = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100$$

15

*PIC* : Pourcentage d'inhibition des contorsions

*M<sub>0</sub>* : Moyenne des torsions du lot témoin

*M<sub>1</sub>* : Moyenne des torsions du lot traité

## 2.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques et les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 9.3.1.471 (2021). L'analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs a été effectuée et les valeurs ont été exprimées sous la forme moyenne  $\pm$  erreur standard à la moyenne ( $M \pm \text{ESM}$ ). Le test de Dunnett applicable aux comparaisons multiples des données a été également utilisé.

La variation de l'activité antianémique était considérée significative au seuil de  $P < 0,05$ . La notation suivante ont été utilisée pour toute différence significative :

- non significative ( ) :  $p > 0,05$  ;
- peu significative (\*) :  $p < 0,05$  ;
- significative (\*\*) :  $p < 0,01$  ;
- très significative (\*\*\*) :  $p < 0,001$  ;
- hautement significative (\*\*\*\*) :  $p < 0,0001$ .

# **TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION**

## 1. Résultats

### 1.1. Rendement des extraits

La préparation des différents extraits aqueux des plantes a permis d'obtenir les rendements consignés dans le tableau V. Il ressort que le *Rhynchospora corymbosa* à un rendement de 14,13 % contre 13,40 % pour *Olox subscorpioïdea*. Cette différence est dû au faite que le *Rhynchospora corymbosa* est une herbacée donc l'eau travers facilement les couches pour extraire les substances chimiques que *Olox subscorpioïdea* qui est une liane.

**Tableau V** : Rendement des extraits de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olox subscorpioïdea*

Espèce végétale	Rendement (%)
	Décoctés
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	14,13
<i>Olox subscorpioïdea</i>	13,40

### 1.2. Tri phytochimique des plantes des extraits DRC ou DOSA

Le test phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de certaines familles de composés chimiques dans les deux (2) plantes étudiées. Ainsi, il a été révélé chez l'espèce *Rhynchospora corymbosa* (DRC) une présence faible (score 1) des alcaloïdes, des polyterpènes et des stéroïdes. Une présence moyenne (score 2) des tanins catéchiques et une abondance (score 3) des saponines également. Les composés tels que les tanins galliques, les polyphénols, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes et les quinones sont absents dans cet extrait de *Rhynchospora corymbosa*. En revanche, l'extrait de *Olox subscorpioïdea* (DOSA) a révélé la présence de tous les groupes de composés chimiques étudiés exceptés les tanins galliques et les quinones qui se sont avérés absents dans les deux extraits (DRC ou DOSA) (Tableau VI).

**Tableau VI :** Criblage phytochimique préliminaire des extraits aqueux de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olox subscorpioidea*

Groupe testé		DRC	DOSA
Alcaloïdes	Réactif de Dragendorff	+	+
	Réactif de Bouchardat	+	+
Polyphénols		-	+
Tanins	Catéchiques	++	+
	Galliques	-	-
Flavonoïdes		-	+
Saponines		++	++
Polyterpènes et des stérols		+	+
Leuco-anthocyanes		-	+
Quinones		-	-

Légende : Score 1 : Faible ;

Score 2 : Moyen

Score 3 : Abondant

### 1.3. Teneur en certains composés d'intérêt

Le dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins sont résumés dans le tableau VII. Il ressort que les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes sont absents dans l'extrait *Rhynchospora corymbosa* (DRC) alors que les tanins sont présents. En revanche, l'extrait de *Olax subscorpioïdea* (DOSA) a révélé la présence de tous les groupes chimiques dosés,

**Tableau VII : Dosage des composés chimiques**

Composés chimiques	Dosage (mg/100 g)	
	DRC	DOSA
<b>Composés phénoliques totaux</b>	-	18,03 ± 0,70
<b>Flavonoïdes</b>	-	15,22 ± 5,55
<b>Tanins</b>	11,14 ± 1,13	5,07 ± 29,29

Légende : - : absent

### 1.4. Toxicité

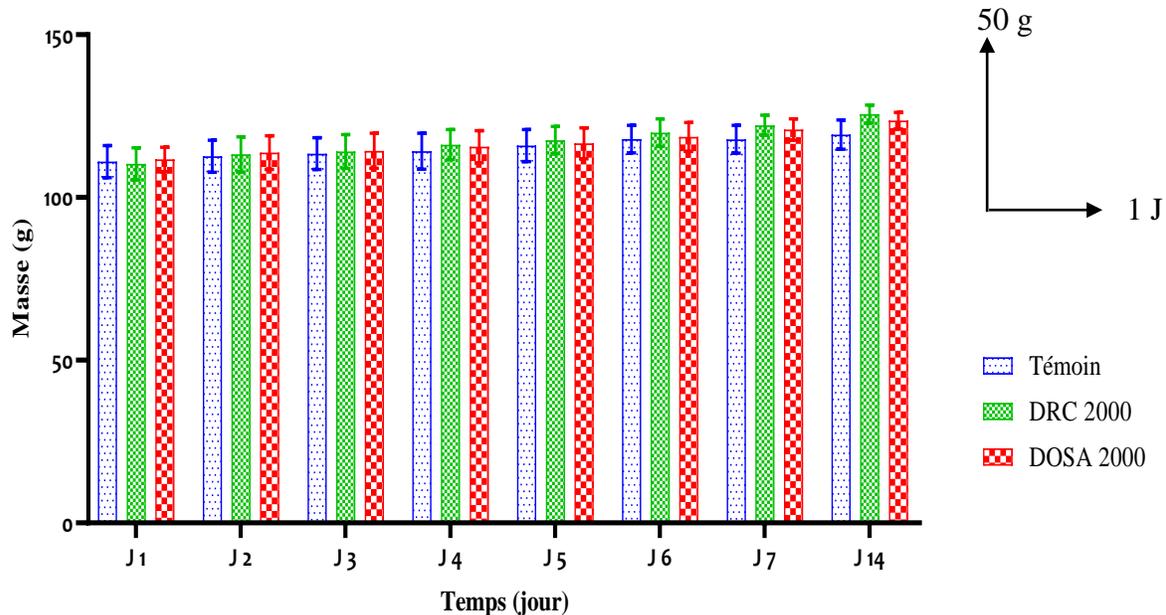
#### 1.4.1. Toxicité aiguë

L'administration orale de chaque extrait aqueux DRC ou DOSA aux doses 2000 mg/Kg/PC n'ont pas causé la mort de rats dans chaque lot traité. Au cours de la période expérimentale, il n'y avait aucun signe de toxicité tels que l'agitation, l'agressivité, la torsion du corps, les convulsions, la diarrhée, l'asthénie, la somnolence, l'anorexie, la perte de poids ou la diminution de la mobilité. Il est donc présumé que la dose létale 50 (DL50) est supérieure aux doses testées.

##### 1.4.1.1. Poids moyen des rats suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA)

La figure 11 montre l'évolution du poids moyen des rats traités par rapport au témoin pendant les 14 jours d'observation. Le comportement général des rats à la dose de 2000 mg/Kg/PC est comparable à celui du lot témoin. Tous les rats ont progressivement gagné du poids, selon un examen de leur évolution pondérale. Cependant, Les rats testés, quant à eux, ont gagné un poids légèrement supérieur à celui des témoins, mais ils n'ont pas fait de différence significative au-delà

du seuil de 5 %. Pendant les quatorze jours d'observation, les animaux traités aux extraits (2000 mg/kg/PC) ont généralement consommé autant d'aliments que ceux qui ont reçu de l'eau distillée.



**Figure 11 :** Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'évolution des poids moyens des rats

## 1.4.2. Toxicité subaiguë

### 1.4.2.1. Poids moyen des rats suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

Le poids moyen des différents lots d'animaux à jour (J0) varie entre  $76,00 \pm 5,62$  grammes et  $103,17 \pm 8,14$  grammes, selon les valeurs résumées dans le tableau. Il n'y a eu aucune variation significative ( $p > 0,05$ ) dans la variation du poids moyen des rats des lots au cours de l'étude. En comparaison avec le lot de rats témoin sain, tous les rats traités ont gagné du poids du premier au 28<sup>ème</sup> jour de traitement. Par rapport au témoin sain de la première à la quatrième semaine du traitement, cette variation n'est pas significative. Le taux d'augmentation du poids moyen le plus élevé a été obtenu par l'extrait DRC à une dose de 400 mg/kg/PC avec une valeur de  $1,26 \pm 0,20$  % (Tableau VIII).

**Tableau VIII : Poids moyen des rats**

Lots	Poids moyens (g)					
	J0	J7	J14	J21	J28	
<b>Témoin</b>	81,5 ± 50,71	89,67 ± 6,73	101,17 ± 6,33	113,83 ± 8,47	122 ± 8,46	
<b>DRC</b>	<b>400</b>	96,67 ±	105,83 ±	113,6 ± 13,68	114,80 ±	122,2 ± 14,49
	<b>mg/Kg/PC</b>	10,55	12,27		13,14	
	<b>800</b>	103,17 ±	109,50 ± 8,14	111,00 ± 8,16	108,00 ±	112,20 ±
	<b>mg/Kg/PC</b>	8,14			11,22	10,36
	<b>1600</b>	87,50 ±	99,25 ± 18,39	100,00 ±	101,50 ±	106,00 ± 51
	<b>mg/Kg/PC</b>	14,25		27,54	48,50	
<b>DOSA</b>	<b>400</b>	76,00 ± 5,62	78,40 ± 6,17	77,80 ± 5,49	87,60 ± 5,41	92,60 ± 7,67
	<b>mg/Kg/PC</b>					
	<b>800</b>	84,83 ± 3,51	87,00 ± 3,41	90,50 ± 5,73	92,33 ± 8,87	95,67 ± 8,85
	<b>mg/Kg/PC</b>					
	<b>1600</b>	86,00 ± 3,49	86,00 ± 2,67	92,50 ± 2,84	100,00 ± 4,35	105,00 ± 4,86
	<b>mg/Kg/PC</b>					

#### 1.4.2.2. Gain moyen quotidien suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA)

Les figures 13 et 14 montrent comment le gain moyen quotidien (GMQ) de poids des rats des lots expérimentaux a changé par rapport au lot témoin au cours des 28 jours de l'expérience. Aucune variation significative ( $p > 0,05$ ) n'a été observée dans l'évolution du gain moyen quotidien de poids des rats des lots au cours de l'étude. En comparaison avec le lot de rats témoin sain, tous les lots de rats traités ont connu un gain quotidien moyen plus élevé du premier au 28<sup>ème</sup> jour de traitement. De la première à la quatrième semaine du traitement, cette variation n'est pas significative par rapport au lot témoin sain.

L'extrait DRC à la dose 400 mg/Kg/PC a donné le meilleur gain moyen quotidien avec une valeur de  $0,18 \pm 0,03$  % /j (Figures 12 et 13).

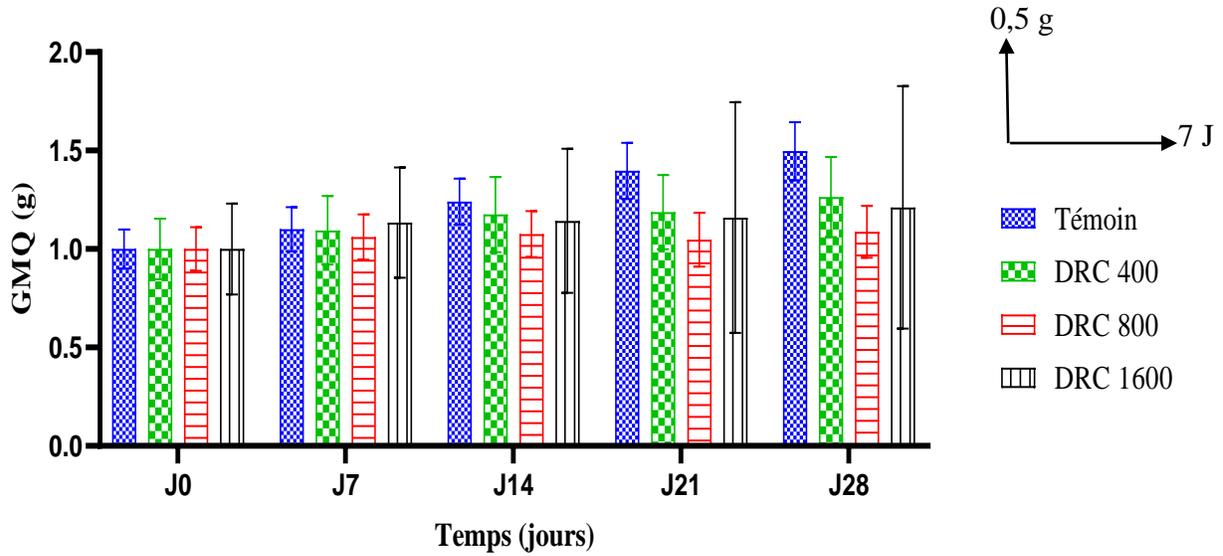


Figure 12 : Effets de l'extrait DRC sur l'évolution du gain moyen quotidien des rats

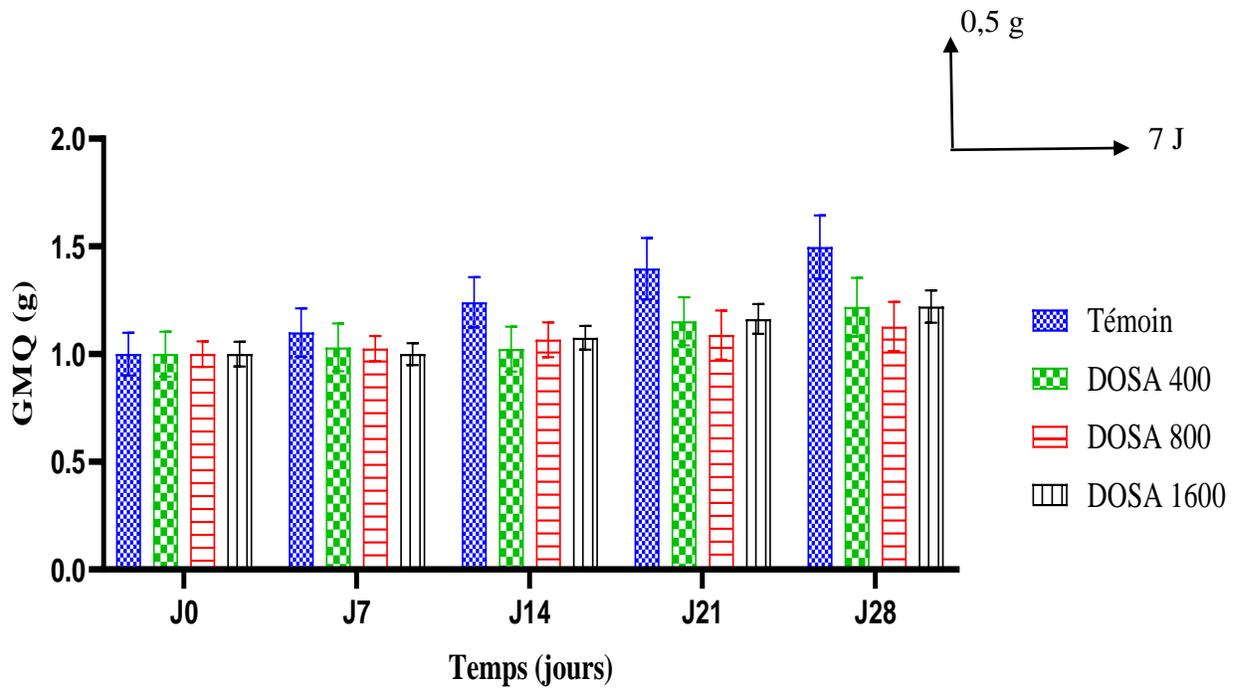


Figure 13 : Effets de l'extrait DOSA sur l'évolution du gain moyen quotidien des rats

### **1.4.2.3. Paramètres hématologiques suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA)**

Les valeurs des paramètres hématologiques de cette étude n'ont montré aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les rats traités et les sujets non traités (TN). Les résultats sont présentés dans les tableaux IX et X. Par rapport à ceux du témoin, les globules blancs (GB), les globules rouges (GR), les hémoglobines (HGB) et les hématocrites (HCT), ainsi que le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), le nombre de plaquettes (PLT), les neutrophiles, les lymphocytes, les monocytes et les éosinophiles n'ont pas subi de variations significatives.

Tableau IX : Paramètres hématologiques des rats traités par l'extrait DRC

Paramètres hématologiques	Jours	Doses de l'extrait DRC (mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 2 (400)	Lot 3 (800)	Lot 4 (1600)
GR (x10 <sup>6</sup> / $\mu$ L)	J0	6,88 $\pm$ 0,41	6,02 $\pm$ 0,71	6,96 $\pm$ 0,48	7,25 $\pm$ 0,46
	J28	6,77 $\pm$ 0,27	5,55 $\pm$ 0,65	6,65 $\pm$ 0,22	6,46 $\pm$ 0,56
HGB (g/dL)	J0	12,20 $\pm$ 0,40	11,35 $\pm$ 0,70	12,02 $\pm$ 0,72	12,83 $\pm$ 0,62
	J28	12,42 $\pm$ 0,38	10,38 $\pm$ 1,36	13,23 $\pm$ 0,74	12,32 $\pm$ 0,91
HCT (%)	J0	39,24 $\pm$ 2,42	37,86 $\pm$ 4,86	46,65 $\pm$ 2,37	45,65 $\pm$ 2,68
	J28	42,94 $\pm$ 1,92	31,40 $\pm$ 4,57	37,29 $\pm$ 2,09	33,83 $\pm$ 3,09
VGM (fL)	J0	55,80 $\pm$ 1,03	55,38 $\pm$ 1,24	56,38 $\pm$ 1,51	56,30 $\pm$ 1,09
	J28	61,42 $\pm$ 0,84	57,65 $\pm$ 1,94	57,73 $\pm$ 2,32	53,78 $\pm$ 0,79
TCMH (pg)	J0	18,14 $\pm$ 0,80	18,77 $\pm$ 0,92	17,24 $\pm$ 0,35	17,88 $\pm$ 0,45
	J28	17,32 $\pm$ 0,18	18,77 $\pm$ 0,45	19,93 $\pm$ 0,59	19,23 $\pm$ 0,41
CCMH (g/dL)	J0	32,42 $\pm$ 1,02	34,07 $\pm$ 2,46	31,97 $\pm$ 0,86	31,68 $\pm$ 0,43
	J28	28,17 $\pm$ 0,42	32,53 $\pm$ 0,48	34,5 $\pm$ 0,76	35,70 $\pm$ 0,91
PLT (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	J0	717,67 $\pm$ 85,89	847,83 $\pm$ 111,14	826,83 $\pm$ 119,77	790,17 $\pm$ 156,76
	J28	749,80 $\pm$ 99,00	816,75 $\pm$ 80,77	785,25 $\pm$ 124,32	755,39 $\pm$ 94,23
GB (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	J0	6,64 $\pm$ 0,19	6,68 $\pm$ 0,63	6,63 $\pm$ 0,15	5,90 $\pm$ 0,90
	J28	4,57 $\pm$ 0,59	6,28 $\pm$ 0,30	6,85 $\pm$ 0,38	5,58 $\pm$ 0,86
Neut	J0	19,52 $\pm$ 4,15	17,77 $\pm$ 3,04	19,24 $\pm$ 3,45	13,96 $\pm$ 2,06
	J28	25,48 $\pm$ 2,82	16,94 $\pm$ 2,10	18,48 $\pm$ 4,15	23,71 $\pm$ 3,77
Lymph (%)	J0	59,99 $\pm$ 5,30	63,13 $\pm$ 2,82	61,78 $\pm$ 3,46	66,64 $\pm$ 2,25
	J28	54,66 $\pm$ 2,80	60,08 $\pm$ 1,92	59,88 $\pm$ 5,45	56,06 $\pm$ 2,49
Mono	J0	18,89 $\pm$ 0,87	19,11 $\pm$ 0,84	19,02 $\pm$ 0,61	19,28 $\pm$ 0,60
	J28	19,86 $\pm$ 0,63	21,49 $\pm$ 0,57	21,65 $\pm$ 1,72	22,22 $\pm$ 0,66
Eos	J0	0,14 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02
	J28	0,17 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,02

**Tableau X :** Paramètres du sang des rats traités par l'extrait DOSA

Paramètres hématologiques	Jours	Doses de l'extrait DOSA (mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 5 (400)	Lot 6 (800)	Lot 7 (1600)
<b>GR</b> (x10 <sup>6</sup> / μL)	<b>J0</b>	6,88 ± 0,41	5,04 ± 0,66	5,50 ± 0,50	4,84 ± 0,70
	<b>J28</b>	6,77 ± 0,27	5,92 ± 1,24	7,12 ± 0,15	6,38 ± 0,49
<b>HGB</b> (g/dL)	<b>J0</b>	12,20 ± 0,40	10,78 ± 0,34	11,93 ± 0,63	11,87 ± 0,56
	<b>J28</b>	12,42 ± 0,38	11,74 ± 0,27	12,02 ± 0,22	11,06 ± 0,62
<b>HCT</b> (%)	<b>J0</b>	39,24 ± 2,42	31,96 ± 1,42	33,40 ± 2,24	33,28 ± 2,30
	<b>J28</b>	42,94 ± 1,92	45,59 ± 2,41	43,99 ± 1,43	40,02 ± 2,84
<b>VGM</b> (fI)	<b>J0</b>	55,80 ± 1,03	59,78 ± 2,16	58,70 ± 0,63	56,75 ± 1,24
	<b>J28</b>	61,42 ± 0,84	57,26 ± 2,06	59,80 ± 1,01	61,00 ± 1,09
<b>TCMH</b> (pg)	<b>J0</b>	18,14 ± 0,80	20,79 ± 1,60	20,51 ± 0,63	20,33 ± 1,25
	<b>J28</b>	17,32 ± 0,18	19,23 ± 2,44	16,90 ± 0,16	17,57 ± 0,53
<b>CCMH</b> (g/dL)	<b>J0</b>	32,42 ± 1,02	34,50 ± 1,42	34,88 ± 1,08	34,50 ± 0,62
	<b>J28</b>	28,17 ± 0,42	30,52 ± 2,26	28,13 ± 0,61	28,72 ± 0,68
<b>PLT</b> (x10 <sup>3</sup> /μL)	<b>J0</b>	717,67 ± 85,89	767,67 ± 60,53	661,50 ± 107,52	790,50 ± 57,10
	<b>J28</b>	749,80 ± 99,00	709,80 ± 78,72	849,80 ± 87,36	787,20 ± 73,07
<b>GB</b> (x10 <sup>3</sup> /μL)	<b>J0</b>	6,64 ± 0,19	5,10 ± 0,58	5,22 ± 0,50	5,40 ± 0,54
	<b>J28</b>	4,57 ± 0,59	4,55 ± 0,50	5,64 ± 0,55	5,28 ± 0,37
<b>Neut</b>	<b>J0</b>	19,52 ± 4,15	19,52 ± 4,15	16,07 ± 3,90	17,25 ± 4,84
	<b>J28</b>	25,48 ± 2,82	25,48 ± 2,82	21,19 ± 2,42	22,25 ± 2,41
<b>Lymph</b> (%)	<b>J0</b>	59,99 ± 5,30	72,14 ± 4,48	68,43 ± 5,49	64,27 ± 5,97
	<b>J28</b>	54,66 ± 2,80	61,15 ± 4,00	60,82 ± 2,47	60,83 ± 2,91
<b>Mono</b>	<b>J0</b>	18,89 ± 0,87	16,95 ± 0,78	16,85 ± 0,98	16,93 ± 0,86
	<b>J28</b>	19,86 ± 0,63	17,02 ± 1,12	17,99 ± 0,33	17,18 ± 0,81
<b>Eos</b>	<b>J0</b>	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,02
	<b>J28</b>	0,17 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,21 ± 0,01

#### 1.4.2.4. Paramètres biochimiques suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

##### 1.4.2.4.1. Paramètres liés au foie suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

Les valeurs des paramètres biochimiques liés au foie sont résumées dans les tableaux XI et XII. Avant l'administration des extraits aqueux DRC ou DOSA aux doses indiquées, si l'on considère l'ensemble des valeurs moyenne de chaque paramètre biochimique, il est remarqué que toutes les valeurs obtenues sont comprises pour :

- la TGO ou ALAT chez les rats de tous les lots était comprise entre  $142,25 \pm 23,93$  et  $242,25 \pm 49,41$  ;
- la TGP ou ASAT entre  $7,33 \pm 1,23$  et  $24,00 \pm 8,05$  ;
- la Phosphatase alcaline entre  $106,50 \pm 3,50$  et  $122,70 \pm 9,08$  ;
- le cholestérol totale entre  $0,76 \pm 0,19$  et  $6,08 \pm 0,18$  ;
- le HDL cholestérol entre  $0,10 \pm 0,00$  et  $0,15 \pm 0,04$  ;
- le LDL cholestérol entre  $0,43 \pm 0,18$  et  $0,81 \pm 0,13$  ;
- la triglycéride entre  $0,63 \pm 0,05$  et  $1,48 \pm 0,37$  ;
- la glycémie entre  $0,88 \pm 0,10$  et  $1,15 \pm 0,08$ .

Au 28<sup>ème</sup> jour après l'administration des différentes doses des extraits aqueux DRC ou DOSA, si l'on considère également les valeurs moyennes de chaque paramètre biochimique, il est constaté que toutes les valeurs obtenues sont comprises pour :

- la TGO ou ALAT chez les rats de tous les lots était comprise entre  $153,07 \pm 38,95$  et  $289,20 \pm 17,02$  ;
- la TGP ou ASAT entre  $8,82 \pm 2,17$  et  $13,65 \pm 1,77$  ;
- la Phosphatase alcaline entre  $119,87 \pm 18,5$  et  $127,70 \pm 8,11$  ;
- le cholestérol totale entre  $0,64 \pm 0,12$  et  $2,10 \pm 0,18$  ;
- le HDL cholestérol entre  $0,42 \pm 0,05$  et  $0,64 \pm 0,07$  ;
- le LDL cholestérol entre  $0,56 \pm 0,03$  et  $1,10 \pm 0,19$  ;
- la triglycéride entre  $0,21 \pm 0,04$  et  $1,35 \pm 0,19$  ;
- la glycémie entre  $1,03 \pm 0,05$  et  $1,13 \pm 0,28$ .

Ainsi, lorsque les valeurs moyennes d'un lot donné sont comparées entre elles avant l'administration des extraits DRC ou DOSA ( $J_0$ ). Après leur administration ( $J_{28}$ ), il est constaté que tous les paramètres biochimiques obtenues n'ont subi aucune variation significative.

**Tableau XI :** Paramètres biochimiques liés au foie des rats traités par l'extrait DRC

Paramètres biochimiques	Jours	Doses de l'extrait DRC (mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 2 (400)	Lot 3 (800)	Lot 4 (1600)
TGO (UI/L)	J0	197,76±36,67	142,25±23,93	242,25±49,41	134,75±12,48
	J28	289,20±17,02	153,07±38,95	156,08±46,64	218,70±13,21
TGP (UI/L)	J0	7,33±1,23	18,30±4,35	18,95±4,37	6,58±0,76
	J28	13,65±1,77	10,50±0,19	10,73±0,18	8,82±2,17
PAL (UI/L)	J0	121,97±7,06	117,50±7,50	106,50±3,50	114,50±15,50
	J28	119,87±18,5	123,11±3,33	121,97±7,06	127,70±8,11
TG (g/L)	J0	0,69±0,06	1,48±0,37	1,08±0,18	1,05±0,26
	J28	0,56±0,03	0,69±0,05	1,10±0,19	0,77±0,08
Chol (g/L)	J0	1,77±0,31	0,88±0,13	0,76±0,19	1,22±0,22
	J28	2,10±0,18	0,64±0,12	1,01±0,07	0,75±0,10
HDL (g/L)	J0	0,12±0,01	0,14±0,02	0,12±0,02	0,12±0,02
	J28	0,64±0,07	0,64±0,05	0,57±0,09	0,42±0,05
LDL (g/L)	J0	0,81±0,13	0,48±0,18	0,43±0,18	0,46±0,08
	J28	1,35±0,19	0,49±0,15	0,21±0,04	0,26±0,16
Glycémie	J0	1,15±0,08	1,10±0,11	1,10±0,13	0,93±0,08
	J28	1,07±0,04	1,13±0,28	1,03±0,05	1,10±0,11

**Tableau XII :** Paramètres biochimiques liés au foie des rats traités par l'extrait DOSA

Paramètres biochimiques	Jours	Doses de l'extrait DOSA (mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 5 (400)	Lot 6 (800)	Lot 7 (1600)
TGO (UI/L)	J0	197,76 ± 36,67	151,62 ± 42,18	162,85 ± 35,16	193,72 ± 40,49
	J28	289,20 ± 17,02	355,26 ± 19,79	346,76 ± 10,86	346,54 ± 29,97
TGP (UI/L)	J0	7,33 ± 1,23	24,00 ± 8,05	15,25 ± 5,05	19,28 ± 6,20
	J28	13,65 ± 1,77	10,54 ± 1,58	13,38 ± 1,31	8,88 ± 0,61
PAL (UI/L)	J0	121,97 ± 7,06	122,70 ± 9,08	120,43 ± 5,94	110,13 ± 11,69
	J28	119,87 ± 18,5	112,80 ± 13,13	111,95 ± 23,18	119,49 ± 13,71
TG (g/L)	J0	0,69 ± 0,06	1,08 ± 0,16	0,67 ± 0,08	0,63 ± 0,05
	J28	0,56 ± 0,03	0,96 ± 0,12	0,65 ± 0,11	0,89 ± 0,21
Chol (g/L)	J0	1,77 ± 0,31	6,08 ± 0,18	5,50 ± 0,25	6,05 ± 0,42
	J28	2,10 ± 0,18	5,58 ± 0,37	5,28 ± 0,18	5,22 ± 0,18
HDL (g/L)	J0	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,04	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,00
	J28	0,64 ± 0,07	0,81 ± 0,05	0,64 ± 0,07	0,66 ± 0,05
LDL (g/L)	J0	0,81 ± 0,13	0,54 ± 0,03	0,50 ± 0,04	0,71 ± 0,23
	J28	1,35 ± 0,19	0,93 ± 0,12	1,17 ± 0,28	1,24 ± 0,16
Glycémie	J0	1,15 ± 0,08	0,88 ± 0,10	0,86 ± 0,10	0,94 ± 0,02
	J28	1,07 ± 0,04	1,05 ± 0,10	1,00 ± 0,02	1,09 ± 0,05

#### 1.4.2.4.2. Paramètres liés au rein suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

Les valeurs des paramètres biochimiques liés au rein sont résumées dans les tableaux XIII et XIV. Avant l'administration des extraits aqueux DRC ou DOSA aux doses indiquées, si l'on considère l'ensemble des valeurs moyenne de chaque paramètre biochimique, il est remarqué que toutes les valeurs obtenues sont comprises pour :

- l'Urée entre  $0,12 \pm 0,02$  et  $0,15 \pm 0,01$  ;
- la créatinine entre  $4,97 \pm 0,82$  et  $5,50 \pm 0,25$  ;
- la Protéine totale entre  $6,49 \pm 0,33$  et  $8,17 \pm 0,73$ .

Au 28<sup>ème</sup> jour après l'administration des différentes doses des extraits aqueux DRC ou DOSA, si l'on considère également les valeurs moyennes de chaque paramètre biochimique, il est constaté que toutes les valeurs obtenues sont comprises pour :

- l'Urée entre  $0,11 \pm 0,00$  et  $0,22 \pm 0,01$  ;
- la créatinine entre  $4,55 \pm 0,17$  et  $8,30 \pm 0,48$  ;
- la Protéine totale entre  $6,33 \pm 0,21$  et  $8,25 \pm 3,01$ .

Ainsi, lorsque les valeurs moyennes d'un lot donné sont comparées entre elles avant l'administration des extraits DRC ou DOSA (J<sub>0</sub>). Après leur administration (J<sub>28</sub>), il est constaté que tous les paramètres biochimiques obtenues n'ont subi aucune variation significative.

**Tableau XIII** : Paramètres biochimiques liés aux reins des rats traités par l'extrait DRC

Paramètres biochimiques	Jours	Doses de l'extrait DRC (mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 2 (400)	Lot 3 (800)	Lot 4 (1600)
Urée (mg/L)	J0	$0,12 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$
	J28	$0,11 \pm 0,00$	$0,22 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$
Créat (mg/L)	J0	$4,97 \pm 0,82$	$5,52 \pm 0,56$	$5,65 \pm 0,28$	$6,24 \pm 0,43$
	J28	$4,55 \pm 0,17$	$8,30 \pm 0,48$	$7,58 \pm 0,53$	$7,32 \pm 0,25$
Prot (g/L)	J0	$6,49 \pm 0,33$	$7,25 \pm 1,75$	$8,00 \pm 2,00$	$8,17 \pm 0,73$
	J28	$6,33 \pm 0,21$	$7,00 \pm 3,44$	$8,25 \pm 3,01$	$7,40 \pm 0,51$

**Tableau XIV :** Paramètres biochimiques liés aux reins des rats traités par l'extrait DOSA

Paramètres biochimiques		Doses de l'extrait DOSA ( mg/Kg/PC)			
		Lot 1 (témoin)	Lot 5 (400)	Lot 6 (800)	Lot 7 (1600)
Urée (mg/L)	J0	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01
	J28	0,11 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,00	0,13 ± 0,00
Créat (mg/L)	J0	4,97 ± 0,82	6,08 ± 0,18	5,50 ± 0,25	6,05 ± 0,42
	J28	4,55 ± 0,17	5,58 ± 0,37	5,28 ± 0,18	5,22 ± 0,18
Prot (g/L)	J0	6,49 ± 0,33	7,50 ± 0,76	7,83 ± 0,48	6,67 ± 0,56
	J28	6,33 ± 0,21	6,80 ± 0,58	6,40 ± 0,51	6,80 ± 0,37

#### 1.4.2.5. Poids relatifs des organes suite au gavage avec les extrais (DRC ou DOSA)

Après quatre semaines de gavage avec le DRC ou le DOSA aux doses indiquées, l'examen macroscopique des différents organes n'a montré aucun changement morphologique dans les organes des rats traités par rapport aux organes des rats du lot témoin, que ce soit en termes de couleur ou de texture. Aucune différence significative n'a été observée entre le poids des organes des rats traités et celui des rats témoin (Tableaux XV).

**Tableau XV : Poids relatif des organes des rats traités par les extraits DRC ou DOSA**

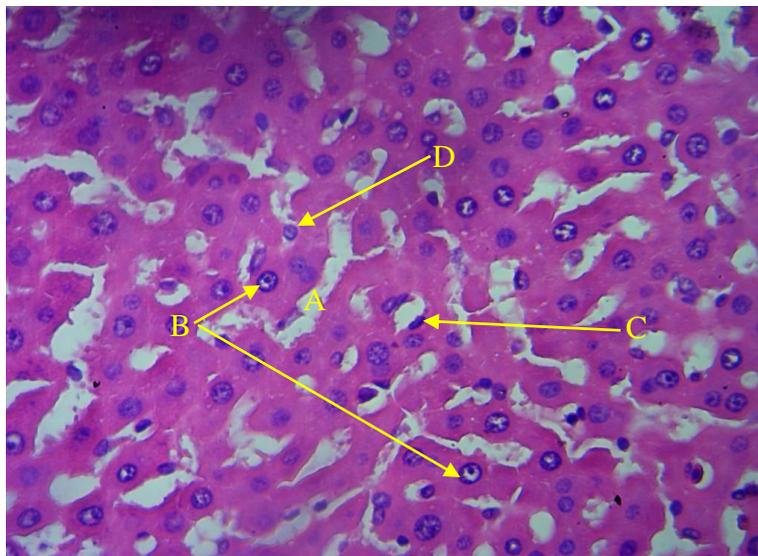
Extraits	Organes	Témoin	Poids relatif (g)		
			400	800	1600
<b>DRC</b>	<b>Cœur</b>	0,36 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,41 ± 0,03
	<b>Foie</b>	3,43 ± 0,10	3,22 ± 0,22	3,33 ± 0,15	3,99 ± 0,07
	<b>Rein</b>	0,73 ± 0,03	0,68 ± 0,04	0,70 ± 0,03	0,79 ± 0,02
	<b>Poumon</b>	0,75 ± 0,07	0,80 ± 0,16	0,73 ± 0,12	0,86 ± 0,06
	<b>Rate</b>	0,29 ± 0,04	0,33 ± 0,10	0,28 ± 0,02	0,30 ± 0,02
<b>DOSA</b>	<b>Cœur</b>	0,36 ± 0,01	0,35 ± 0,04	0,36 ± 0,01	0,40 ± 0,02
	<b>Foie</b>	3,43 ± 0,10	3,56 ± 0,38	3,33 ± 0,15	4,04 ± 0,09
	<b>Rein</b>	0,73 ± 0,03	0,71 ± 0,04	0,70 ± 0,03	0,78 ± 0,01
	<b>Poumon</b>	0,75 ± 0,07	0,95 ± 0,12	1,04 ± 0,12	0,94 ± 0,04
	<b>Rate</b>	0,29 ± 0,04	0,36 ± 0,08	0,27 ± 0,02	0,35 ± 0,04

#### 1.4.2.6. Coupes histologiques des organes suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

Les figures 15 à 24 sont celles obtenues lors des coupes histologiques du foie et du rein par comparaison des lots rats traités avec la dose 1600 mg/Kg/PC (la plus forte dose) des extraits aqueux DRC ou DOSA et ceux du témoin. Elles révèlent de manière générale une architecture hépatique et rénale conservée et sans signe de cytolysse inhérente à une éventuelle toxicité des extraits aqueux utilisés. Ainsi, il n'a pas été constaté de lésion organique ni de fibrose au niveau des organes sollicités. Cependant, des signes de congestions probablement dus au sacrifice ont été observés à la fois dans les lots traités et le lot témoin (Figures 14 à 23).

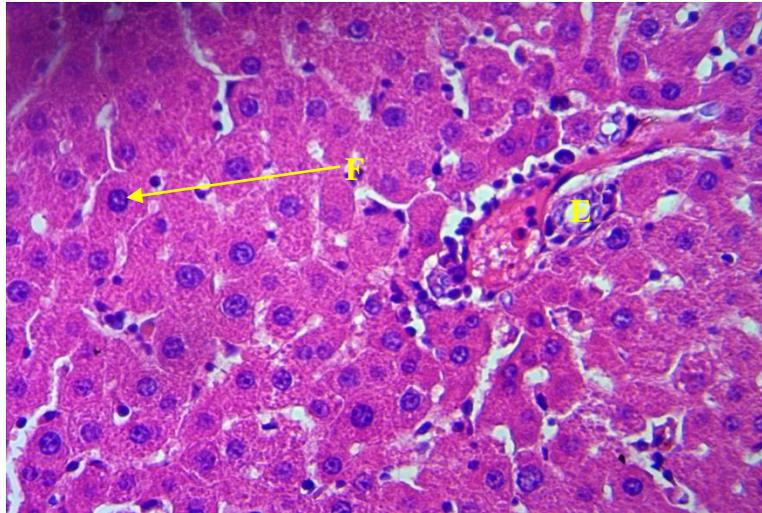
#### 1.4.2.6.1. Coupes histologiques du foie suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)

Les figures 15 à 24 sont celles obtenues lors des coupes histologiques du foie et du rein par comparaison des lots rats traités avec la dose 1600 mg/Kg/PC (la plus forte dose) des extraits aqueux DRC ou DOSA et ceux du témoin. Il ressort de l'ensemble de ces résultats de cette étude que la plus forte dose (1600 mg/Kg/PC) des divers extraits (DRC ou DOSA) administré par voie orale toute comme les plus petites doses (400 ; 800 mg/Kg/PC) sont bien tolérés et n'entraînent aucun préjudice sur les organes sollicités, les paramètres biochimiques, hématologiques et sur la masse des animaux comparativement au lot témoin.



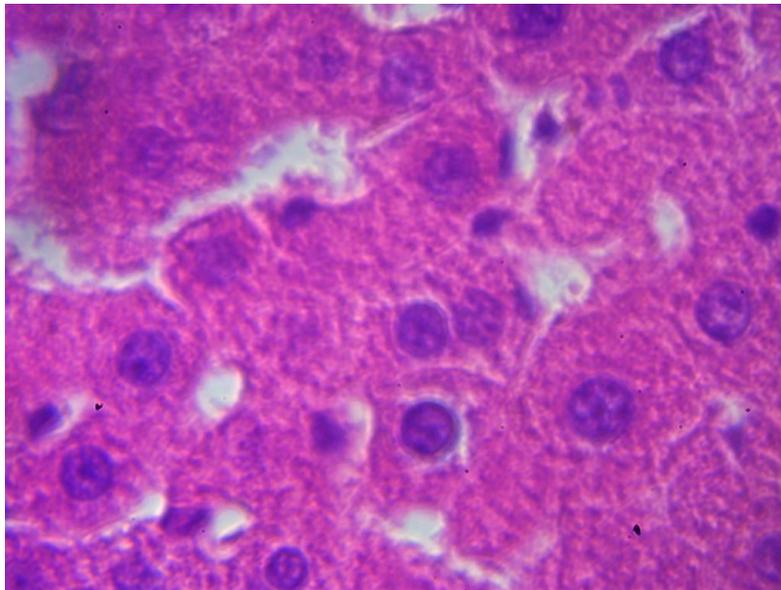
**Figure 14 :** Micro photographie d'une coupe de tissu du foie de rat témoin

*Légende : A : espace sinusoidal ; B : hépatocytes ; C : cellules de kypher  
D : macrophage ; Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement x 400*



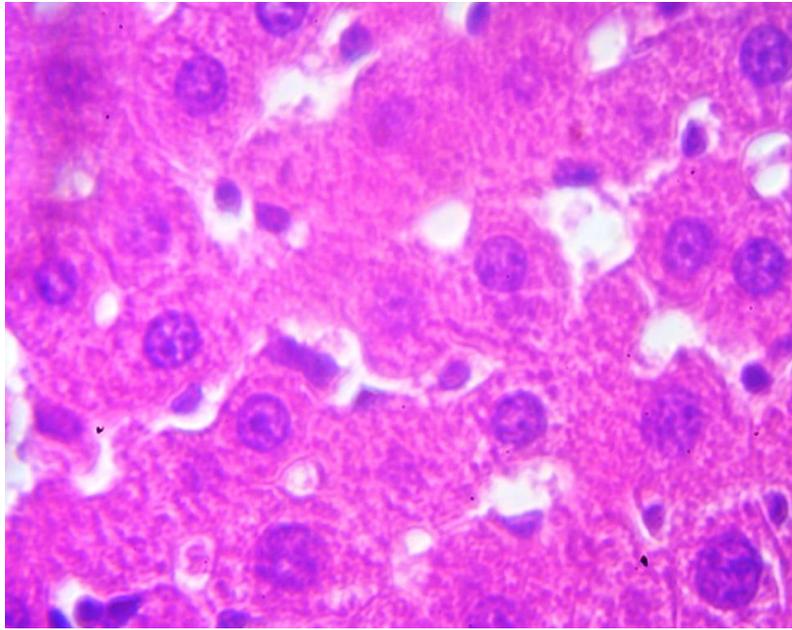
**Figure 15 :** Micro photographie d'une coupe de tissu du foie de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC

*Légende : E : canal biliaire ; F : hyperchromatose ; Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement x 400*



**Figure 16 :** Micro photographie d'une coupe de tissu du foie de rat témoin

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement x 1000*

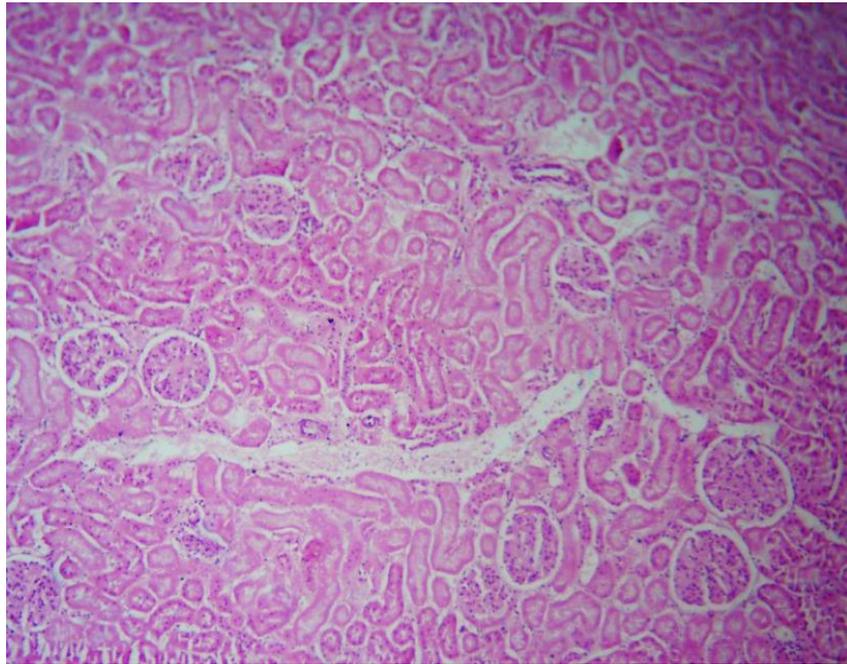


**Figure 17** : Micro photographie d'une coupe de tissu du foie de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement x 1000*

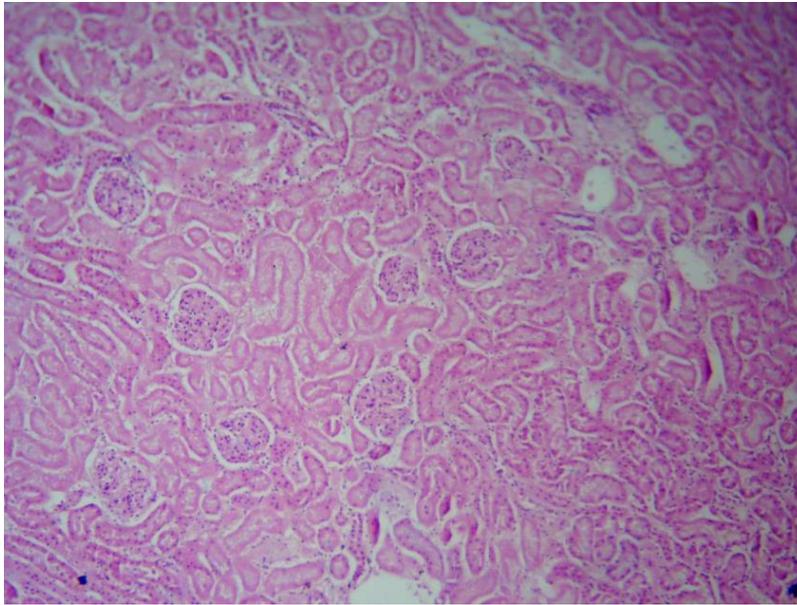
#### **1.4.2.6.2. Coupes histologiques du rein suite au gavage avec les extraits (DRC ou DOSA)**

Les figures 14 à 23 sont celles obtenues lors des coupes histologiques du foie et du rein par comparaison des lots rats traités avec la dose 1600 mg/Kg/PC (la plus forte dose) des extraits aqueux DRC ou DOSA et ceux du témoin. Il ressort de l'ensemble de ces résultats de cette étude- que la plus forte dose (1600 mg/Kg/PC) des divers extraits (DRC ou DOSA) administré par voie orale toute comme les plus petites doses (400 ; 800 mg/Kg/PC) sont bien tolérés et n'entraînent aucun préjudice sur les organes sollicités, les paramètres biochimiques, hématologiques et sur la masse des animaux comparativement au lot témoin.



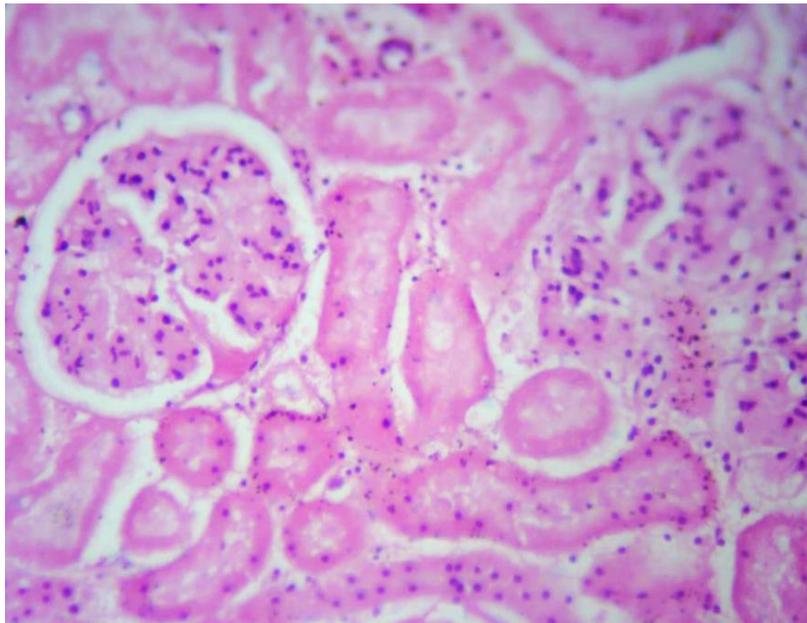
**Figure 18 :** Micro photographie d'une coupe de tissus du rein témoin

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement : x 100*



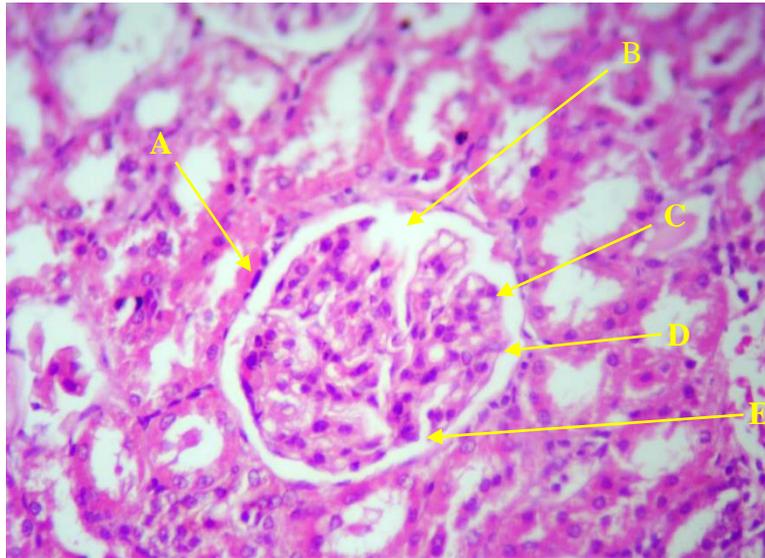
**Figure 19 :** Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/kg

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement : x 100*



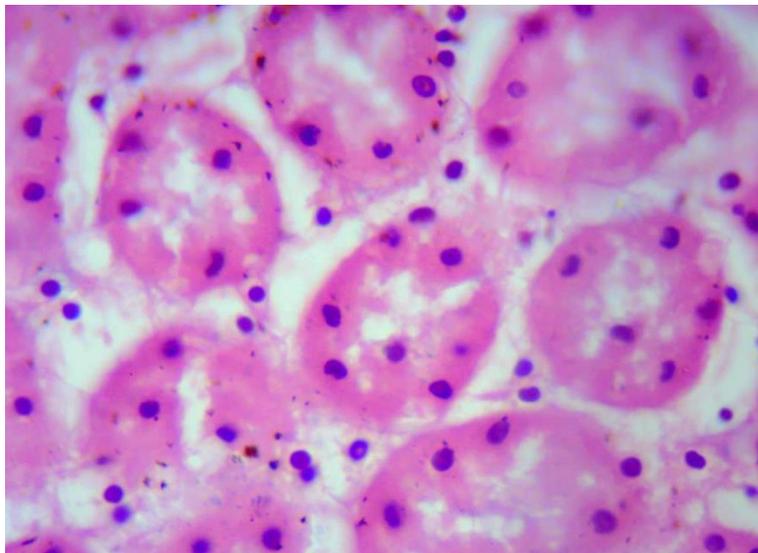
**Figure 20 :** Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat témoin

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement : x 400*



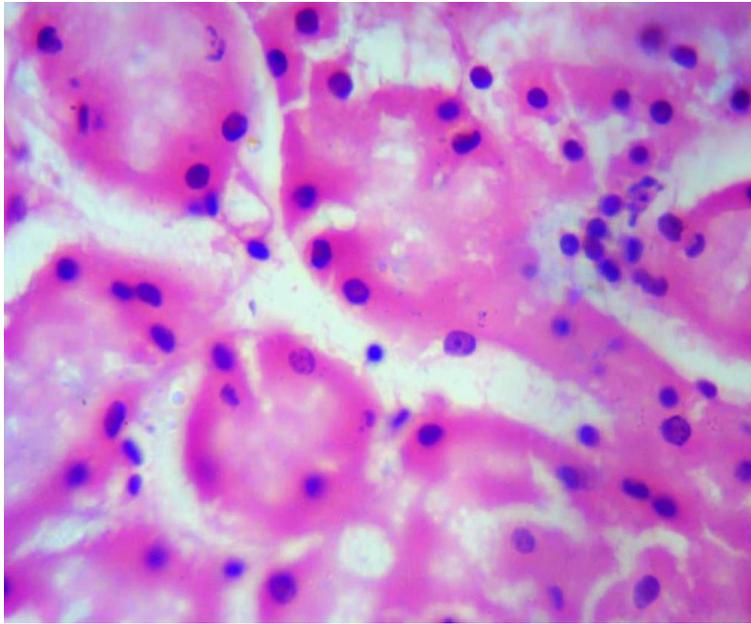
**Figure 21** : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC

*Légende : A : cellule épithéliale ; B : capsule de Bowman ; C : podocyte ; D : glomérule, E : chambre urinaire. Coloration : hématoxyline – éosine ; Grossissement : x 400*



**Figure 22** : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat témoin

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine G x 1000*



**Figure 23** : Micro photographie d'une coupe de tissus du rein de rat traité à la dose 1600 mg/Kg/PC

*Légende : Coloration : hématoxyline – éosine G x 1000*

## **1.5. Effets anti-drépanocytaire *in vitro* d'inhibition de la falciformation et de la polymérisation des hémoglobines SS des extraits DRC ou DOSA**

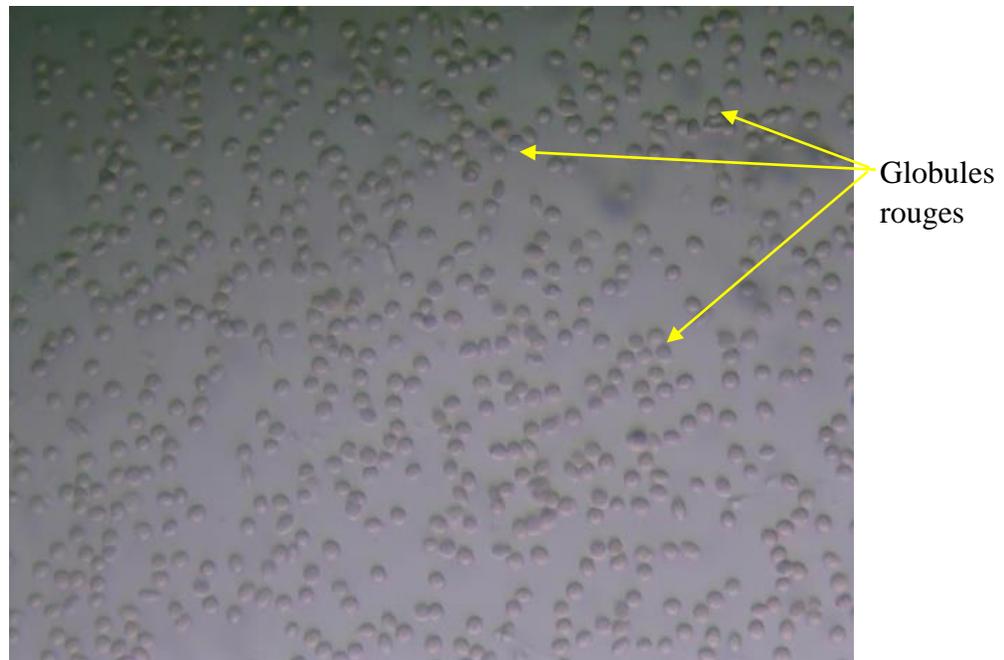
### **1.5.1. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges**

#### **1.5.1.1. Analyse morphologique des érythrocytes en présence du métabisulfite, du DRC ou du DOSA**

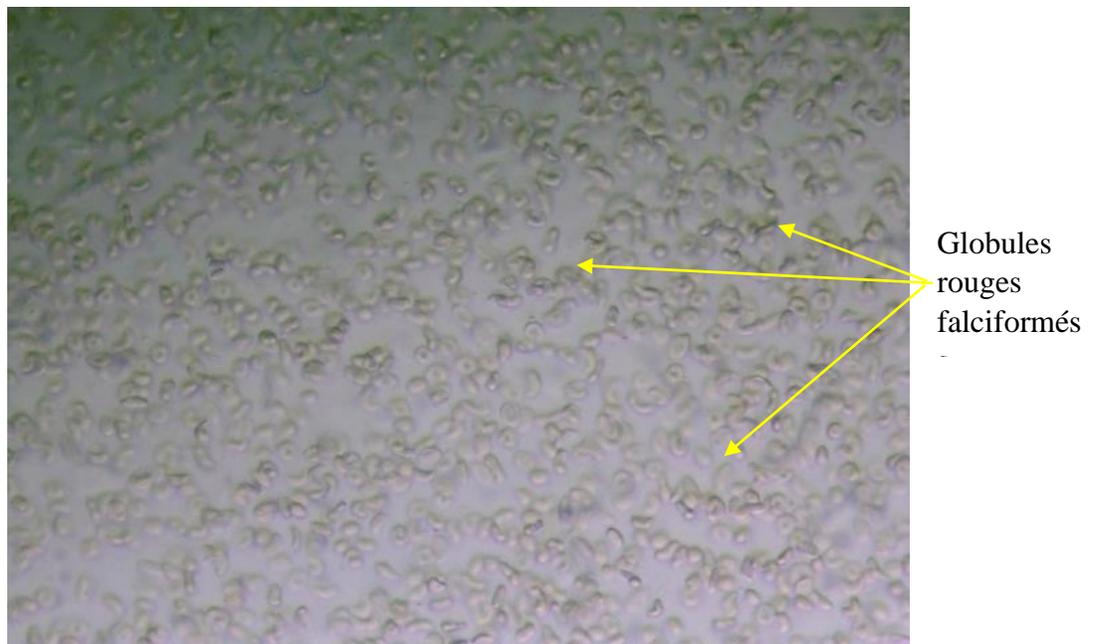
La Figure 24 est celle de la forme à l'état initial, toutes les cellules observées au microscope après leur lavage et centrifugation. Elles sont toutes normales. Quant à la figure 25 est celle obtenue lorsque les hématies initialement normales sont mises en contact dans les tubes avec le métabisulfite de sodium (2 %) pendant 120 min. Ces hématies sont falciformées c'est-à-dire elles passent des formes normales aux formes falciformes.

De manière générale, l'ajout simultané des concentrations 0,31 ; 0,62 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 ou 10 mg/mL des produits suivants (DRC ou DOSA ou la phénylalanine) après celui du métabisulfite de sodium (2 %) inhibe la falciformation des hématies et cela quelque soit la concentration considérée. Néanmoins, cette inhibition est fonction de la concentration du produit utilisé. Par exemple, sur les figures 26 ; 27 et 28, il est remarqué une inhibition de la falciformation des hématies (globules rouges) après l'ajout de DRC ou DOSA ou la phénylalanine des à la concentration de 0,31 mg/mL après celui de métabisulfite de sodium (2 %). Les globules rouges observées sont normaux tout le temps de l'expérience.

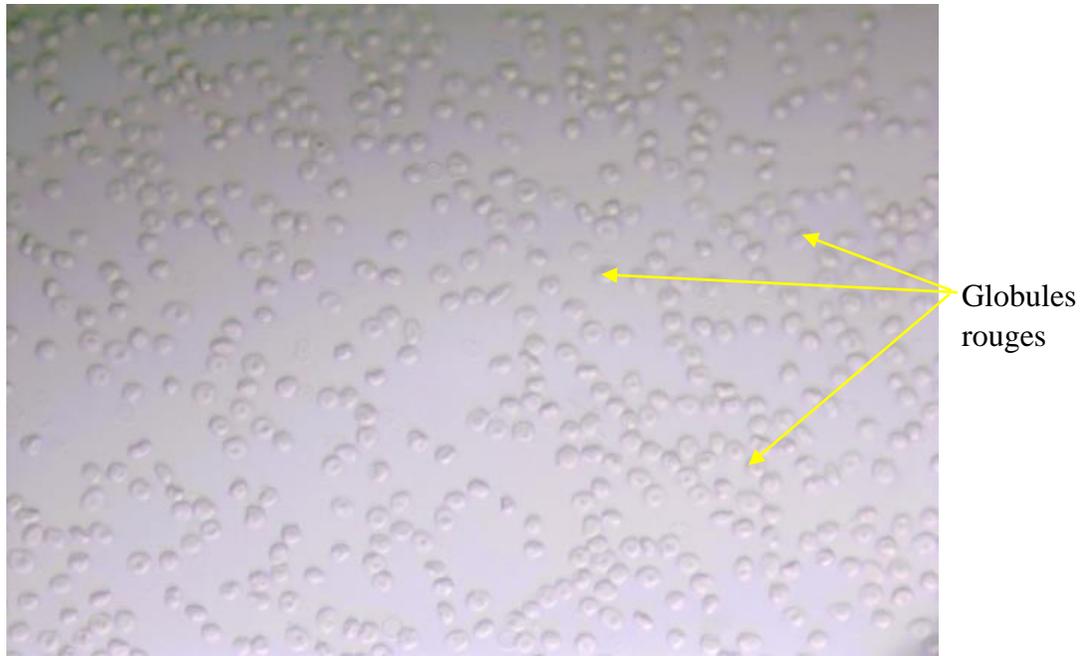
Particulièrement, après l'ajout la concentration de 0,62 mg/ mL du DRC ou DOSA à la suite du métabisulfite de sodium (2 %), les globules rouges sont normaux les 29 premières minutes d'observation ensuite, quelques cellules à forme normales et turgescente sont constatées pendant les 60 min enfin toutes les cellules sont éclatées au bout de 120 minutes (Figure 29). Aux concentrations allant de 1,25 ; 2,5 ; 5 ou 10 mg/mL DE DRC ou DOSA ajoutées après le métabisulfite de sodium (2 %), les globules rouges turgescentes puis subissent une hémolyse (éclatement) tout le temps de l'expérience chaque 30 min jusqu'à 120 min. Au cours des tests de ces différentes concentrations des extraits (DRC ou DOSA) dans le temps, il a été constaté la présence d'un amas sous forme de gélatine (Figures 30).



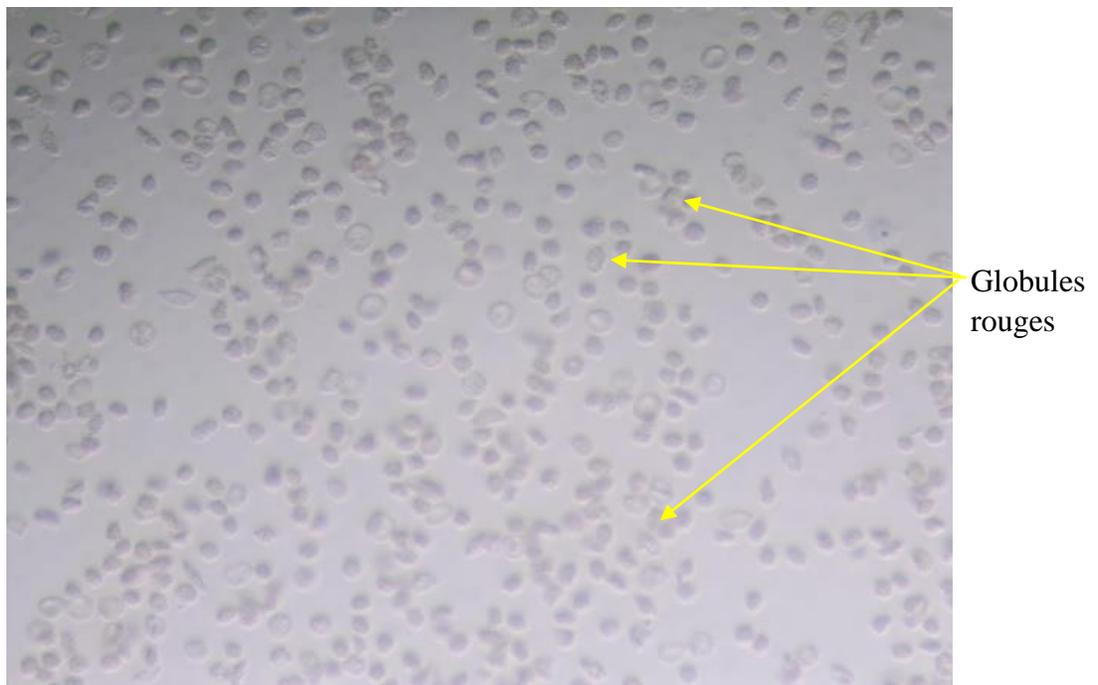
**Figure 24** : Globules rouges sous la forme normale (arrondie)



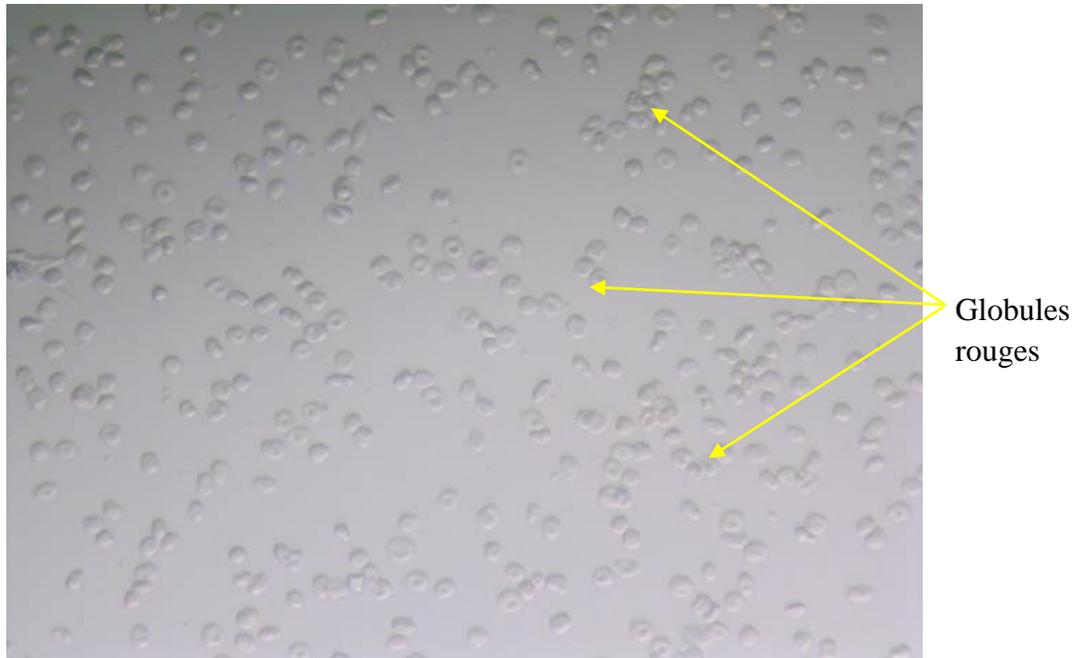
**Figure 25** : Globules rouges falciformés avec le métabisulfite de sodium (2 %)



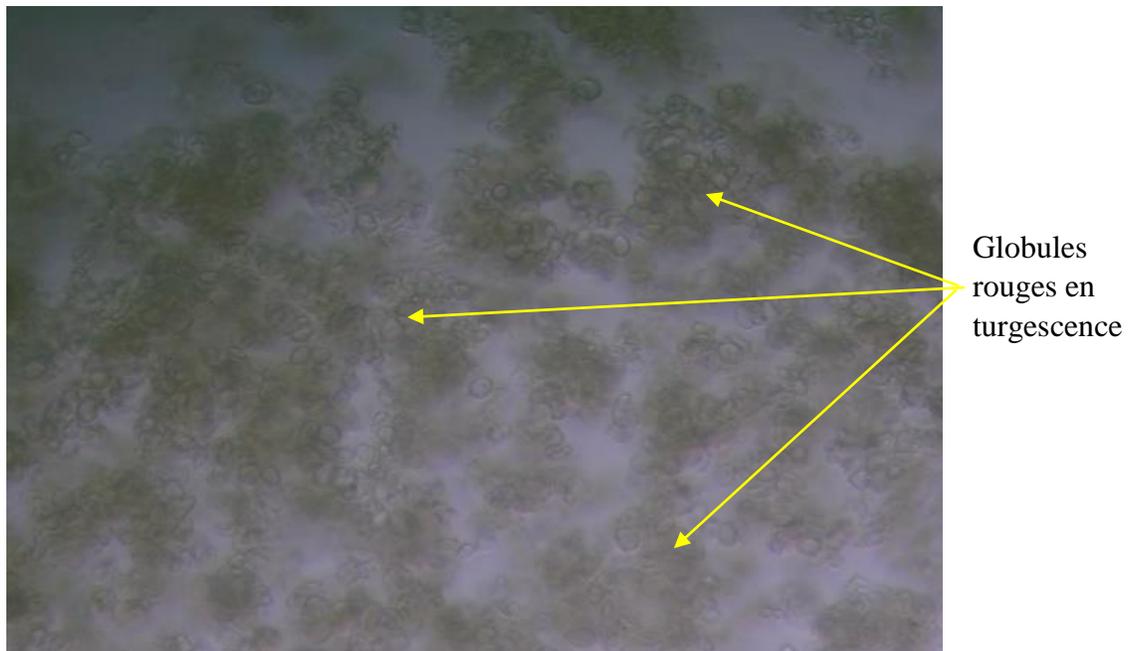
**Figure 26** : Etat des érythrocytes avec le DRC à la concentration 0,31 mg/mL



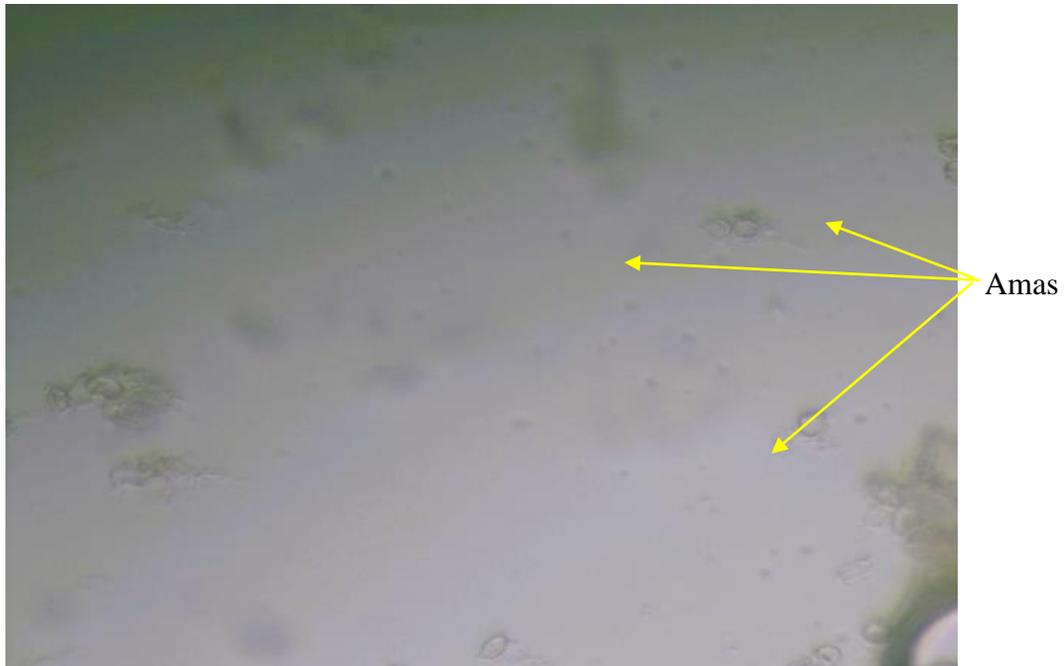
**Figure 27** : Etat des érythrocytes avec le DOSA à la concentration 0,31 mg/mL



**Figure 28 :** Etat des érythrocytes avec la phénylalanine à la concentration 0,31 mg/mL



**Figure 29 :** Globules rouges en turgescence pendant l'hémolyse à la concentration 0,62 mg/mL de DOSA ou DRC



**Figure 30 :** Globules rouges après l'hémolyse totale aux différentes concentrations de 1,25 ; 2,5 ; 5 à 10 de DOSA ou DRC

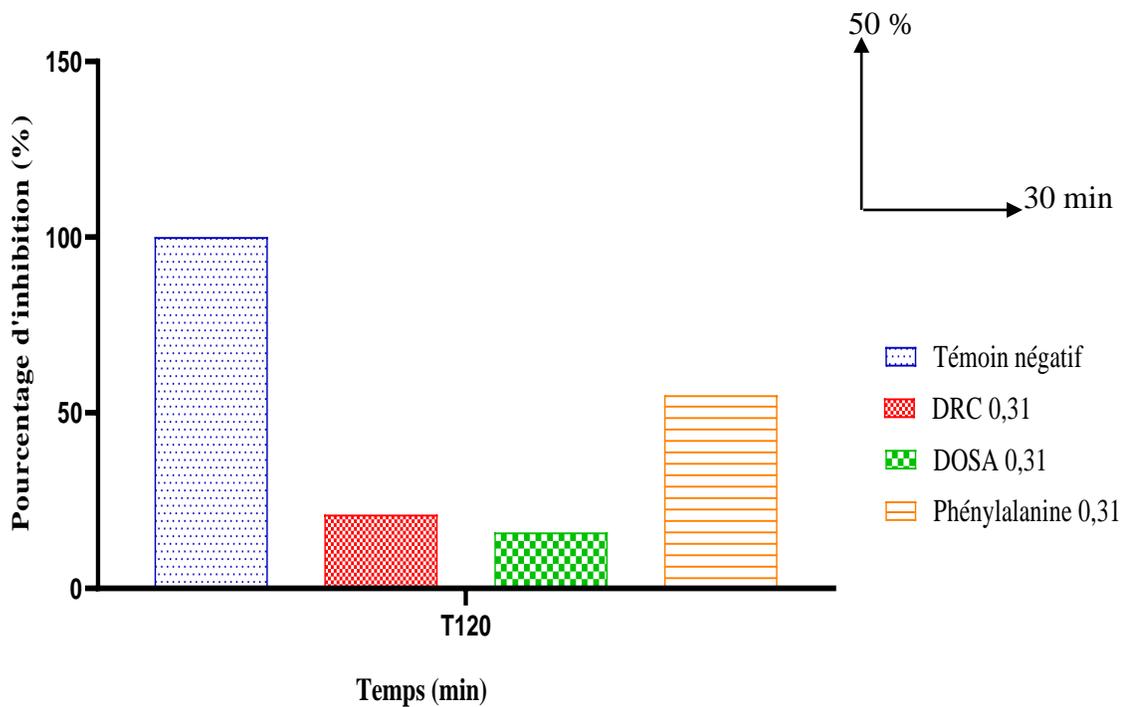
### 1.5.1.2. Effets inhibiteurs des extraits DRC ou DOSA et la phénylalanine sur la falciformation des globules rouges

La figure 31 est le résultat de l'action *in vitro* du DRC ou du DOSA ou de la phénylalanine à la concentration 0,31 mg/mL sur la falciformation des globules rouges (hématies). De façon générale, il est remarqué que l'effet du métabisulfite de sodium (2 %) sur les hématies est inversement proportionnel à celui des produits utilisés (DRC ou DOSA ou phénylalanine) et cela en fonction du temps. Ainsi, en fonction du temps, le pourcentage de globules rouges falciformés augmente plus en présence uniquement du métabisulfite de sodium (2 %) contrairement à la combinaison avec soit le DRC ou le DOSA ou la phénylalanine. Cette diminution (inhibition) des formes falciformées de globules rouges est importante lors de l'ajout à la suite de métabisulfite de sodium (2 %) 0,31 mg/mL de DRC, de DOSA et de phénylalanine et cela au cours des 30 premières minutes jusqu'à 120 minutes.

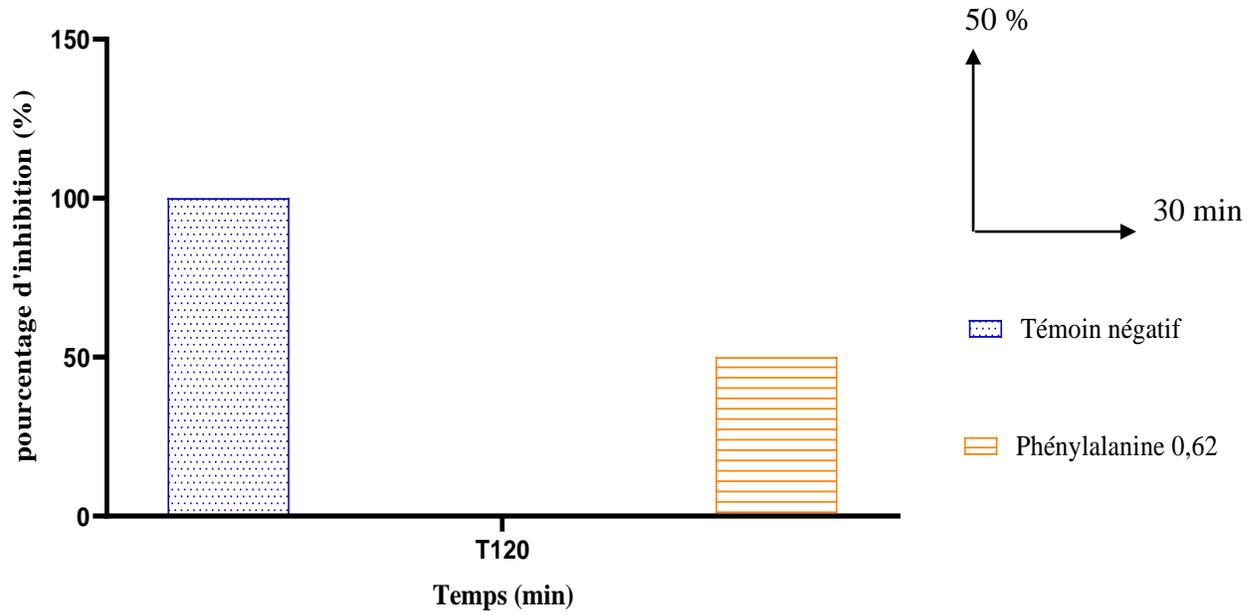
La figure 32 obéit aux mêmes observations de la figure 31 avec une activité de moins en moins importante d'inhibition de la falciformation des globules rouges à 0,62 mg/mL. Ainsi, en fonction du temps, aucune cellule sanguine n'a pu être observée dans chaque champs d'observation

lors de la sollicitation de l'extrait DRC par contre, certaines cellules sont observées au 60 première minutes lors de la sollicitation de DOSA. Le champ d'observation du microscope est apparu comme un amas de gélatine au microscope.

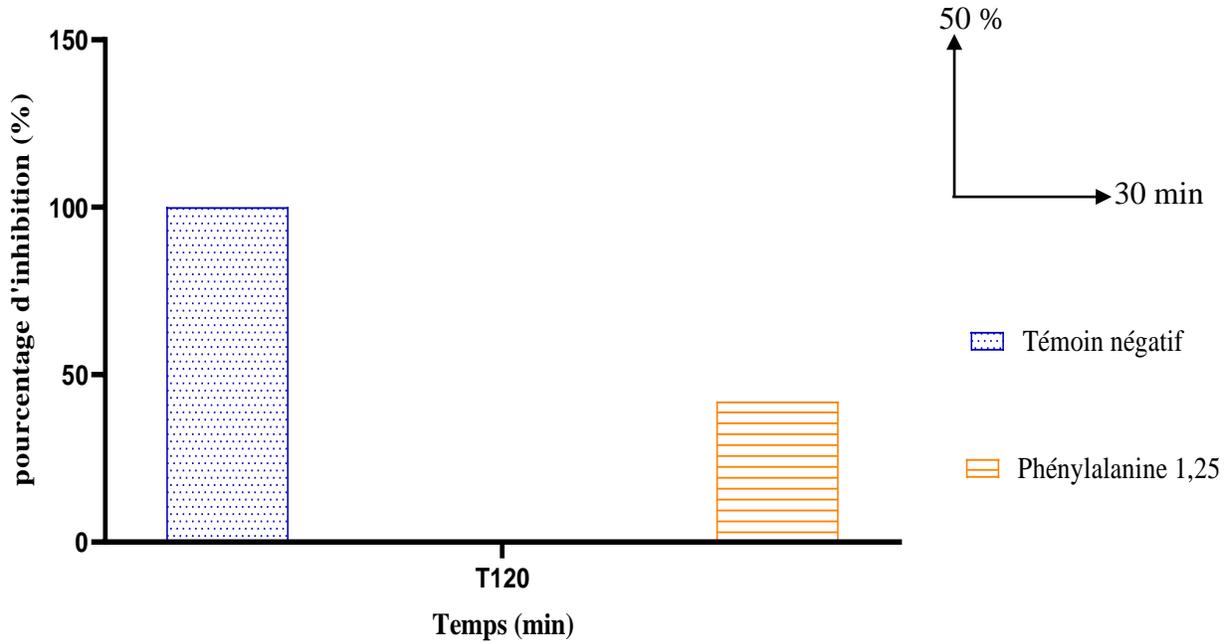
Les figures 33 à 36 révèlent les mêmes constatations des figures précédentes avec une hémolyse totale des globules rouges de 2,5 ; 5 et 10 mg/mL lors de la sollicitation des extraits DRC et DOSA. Ainsi, aucune cellule sanguine n'a pu être observée dans chaque champs d'observation. Le champ d'observation du microscope est apparu comme un amas de gélatine au microscope. Seule la sollicitation de la phénylalanine permet d'observer des globules rouges à toutes les concentrations utilisées.



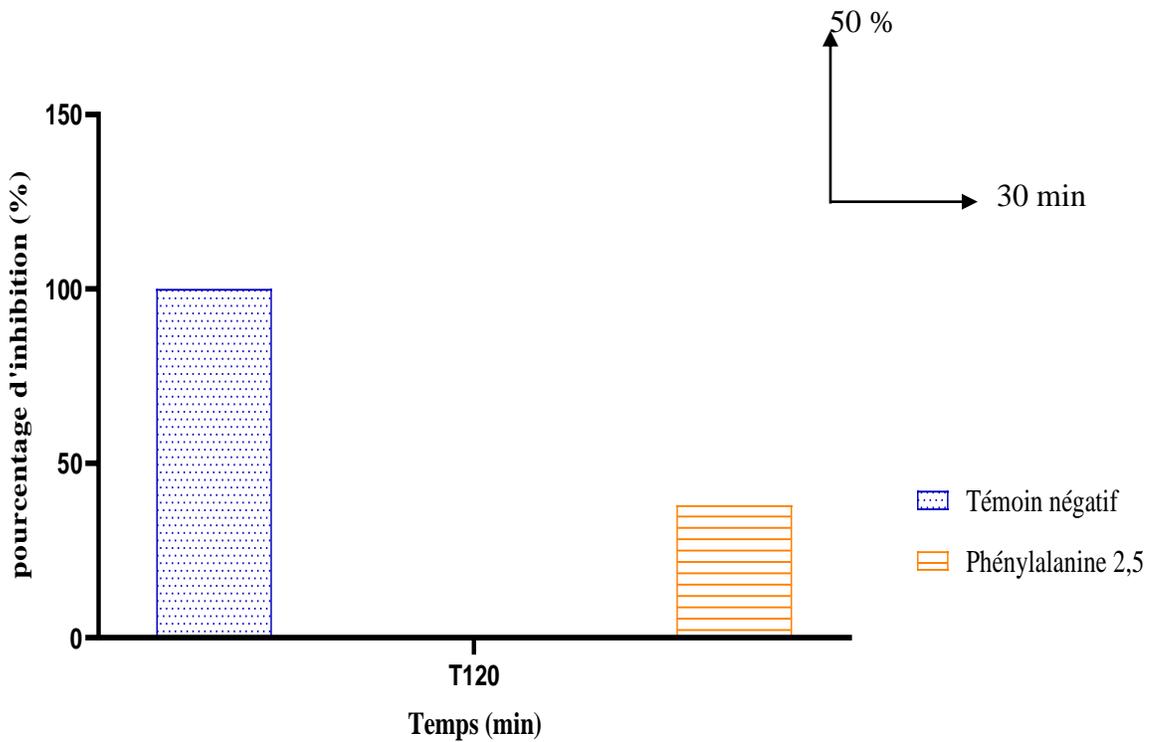
**Figure 31 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 0,31 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges



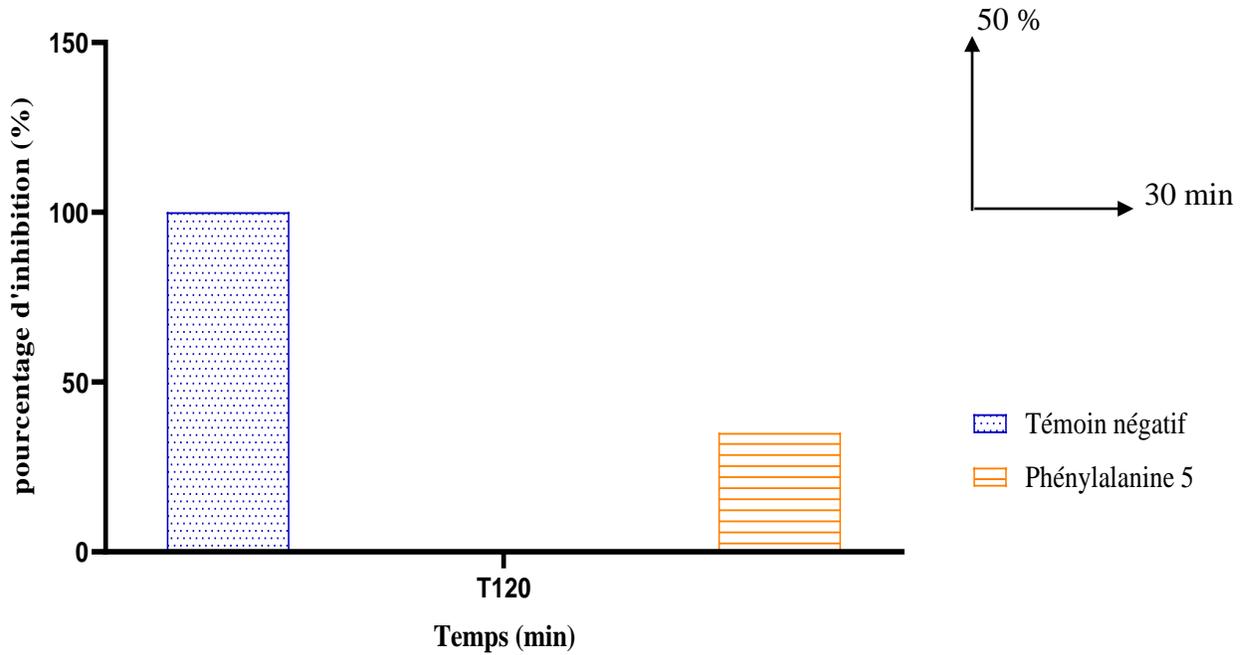
**Figure 32 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 0,62 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges



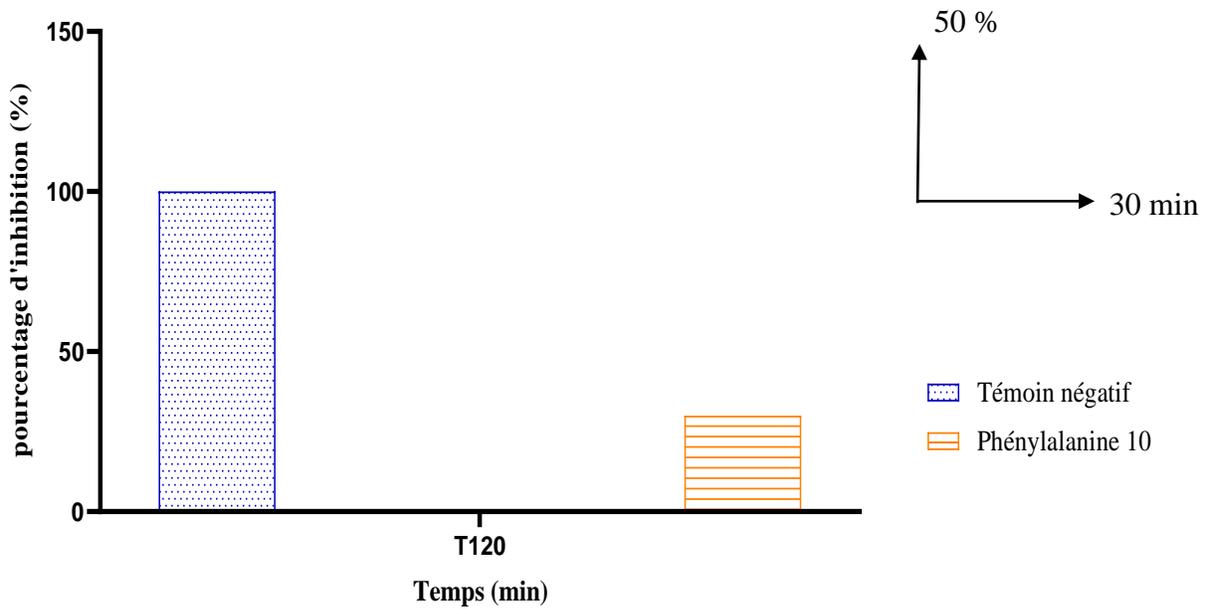
**Figure 33 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 1,25 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges



**Figure 34 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 1.25 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges



**Figure 35 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 5 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges



**Figure 36 :** Effet *in vitro* de la phénylalanine, du DRC et du DOSA à la concentration 10 mg/mL sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges

### 1.5.1.3. Taux d'inhibition de la falciformation

Les tableaux XVI à XVIII montrent les taux d'inhibition de la falciformation de globules rouges des produits utilisés (DRC ou DOSA et la phénylalanine) par rapport au témoin négatif (utilisant le métabisulfite de sodium (2 %)). De manière générale, il est constaté que les produits sollicités ont une action d'inhibition sur la falciformation des globules rouges en fonction du temps. Toutefois, de tous les produits utilisés, seul la phénylalanine a un effet inhibiteur sur la falciformation des globules rouges à toutes les concentrations (0,31 à 10 mg/mL) et à tous les temps. En effet, à 120 minutes. Les taux de globules rouges falciformés sont de 55 à 50 ; 45 ; 42 ; 30 et 25 % avec les concentrations 0,31 ; 0,62 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL soit respectivement des pourcentages d'inhibition de la falciformation de 45 ; 50 ; 55 ; 58 ; 70 ; 75 %.

Excepte ce cas, l'utilisation de DRC et DOSA a permis d'avoir uniquement cette inhibition à la concentration de 0,31 mg/mL de chaque extrait sollicité. Effectivement à cette concentration de chacun des extraits, le taux de globules rouges falciformés (drépanocytes) est de 20 % à 120 minutes soit un taux d'inhibition *in vitro* de la falciformation de 80 % et cela pour le DRC. Quant au DOSA, a permis d'avoir un taux de globules rouges falcimormés (drépanocytes) de 16 % à 120 minutes soit un taux d'inhibition *in vitro* de la falciformation de 84 %. En dehors de cette concentration, les deux extraits ont mis en évidence une absence de globules rouges dans les différents milieux réactionnels aux concentrations allant de 0,625 à 10 mg/mL.

**Tableau XVI** : Taux d'inhibition de la falciformation des globules rouges par l'extrait DRC

Solution		Concentrations (mg/mL)					
		0,312	0,625	1,25	2,5	5	10
Taux d'inhibition de la falciformation	DRC	80 %	-	-	-	-	-
	DOSA	84 %	-	-	-	-	-
	Phénylalanine	45 %	50 %	55 %	58 %	70 %	75 %

Légende : - : absence de cellules

**Tableau XVII :** Taux d'inhibition de la falciformation des globules rouges par l'extrait DOSA

	<b>Concentrations de l'extrait DOSA (mg/mL)</b>					
<b>Temps (min)</b>	<b>0,312</b>	<b>0,625</b>	<b>1,25</b>	<b>2,5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>
<b>T 120</b>	84 %	-	-	-	-	-

Légende : - : absence de cellules

**Tableau XVIII :** Pourcentage d'inhibition de la falciformation des globules rouges par la phénylalanine

	<b>Concentrations de la solution de phénylalanine (mg/mL)</b>					
<b>Temps (min)</b>	<b>0,312</b>	<b>0,625</b>	<b>1,125</b>	<b>2,5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>
<b>T 120</b>	45 %	50 %	55 %	58 %	70 %	75 %

## **1.5.2. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la polymérisation**

### **1.5.2.1. Evolution de l'inhibition de la polymérisation**

#### **1.5.2.1.1. Evolution de inhibition de la polymérisation des hémoglobines S traités avec les extraits DRC ou DOSA**

Les figures 37 et 38 sont les résultats de l'effet des extraits (DRC ou DOSA) sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines S en comparaison avec le témoin négatif (l'utilisation de l'eau distillée). De façon générale, toutes les courbes obtenues sont décroissantes et sont en dessous de la courbe témoin en passant de la concentration 0,31 mg/mL à 10 mg/mL pendant un temps expérimental variant de 0 à 240 secondes. Cependant, les courbes décrites par l'action de DRC sont variables tandis que celles de l'action de DOSA sont continues.

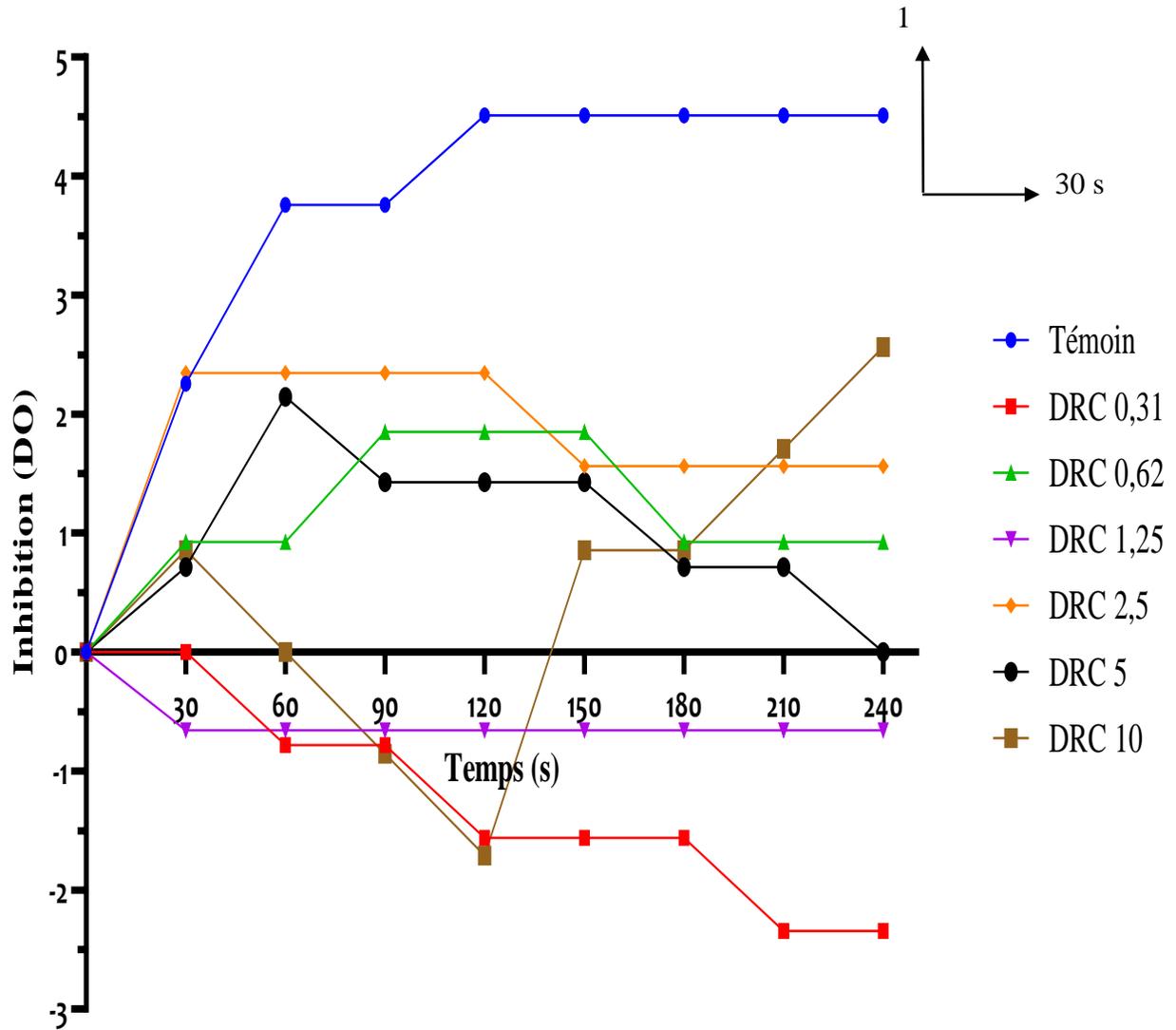


Figure 37 : Effet *in vitro* de l'extrait DRC sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines

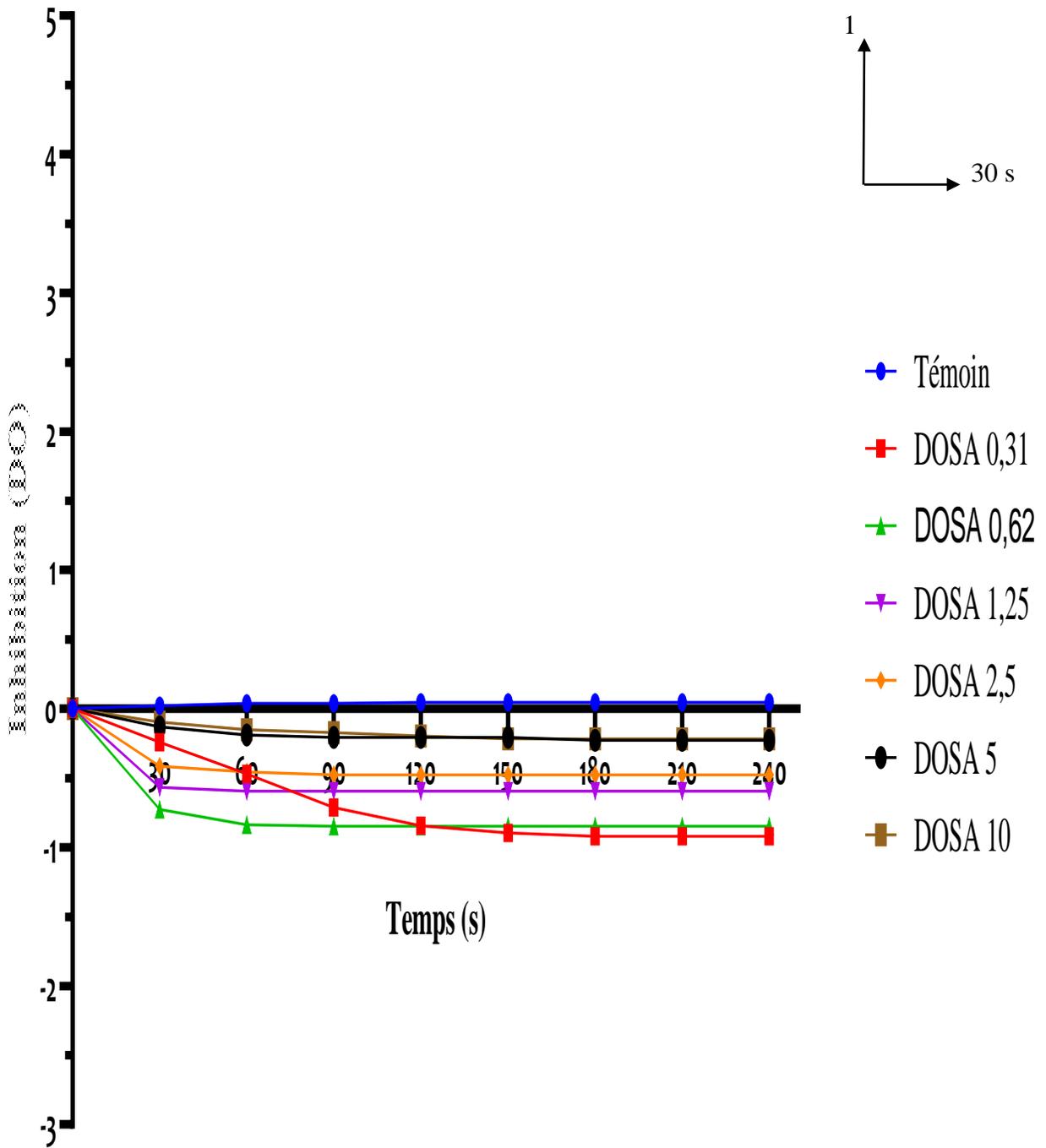


Figure 38 : Effet *in vitro* de l'extrait DOSA sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines

**1.5.2.2. Effets des extraits DRC ou DOSA sur l'inhibition de la polymérisation des hémoglobines SS**

Dans ces différents tableaux XIX et XX, il est remarqué en générale, une décroissance du taux d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines en fonction du temps et de la concentration utilisée pour chaque extrait sollicité contrairement à celui du témoin négatif.

**Tableau XIX :** Taux d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines par l'extrait DRC

Temps(s)	Concentrations de l'extrait DRC (mg/mL)						
	Témoin	0,31	0,62	1,25	2,5	5	10
<b>00</b>	71,94 %	69,24 %	58,42 %	62,22 %	69,24 %	65,73 %	63,29 %
<b>30</b>	71,94 %	67,71 %	57,66 %	69,88 %	69,30 %	64,59 %	62,42 %
<b>60</b>	71,94 %	66,21 %	56,82 %	68,72 %	68,29 %	64,55 %	60,99 %
<b>90</b>	71,94 %	66,21 %	57,35 %	68,72 %	68,29 %	64,03 %	60,47 %
<b>120</b>	71,94 %	65,21 %	56,93 %	68,15 %	67,80 %	63,50 %	59,52 %
<b>150</b>	71,94 %	65,21 %	56,93 %	68,15 %	67,28 %	63,50 %	59,52 %
<b>180</b>	71,94 %	65,21 %	56,42 %	68,15 %	67,28 %	62,98 %	59,52 %
<b>210</b>	71,94 %	64,70 %	56,42 %	68,15 %	67,28 %	62,98 %	59,52 %
<b>240</b>	71,94 %	64,70 %	56,42 %	68,15 %	67,28 %	62,46 %	59,52 %

**Tableau XX :** Taux d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines par l'extrait DOSA

Temps (s)	Concentrations de l'extrait DOSA (mg/mL)						
	Témoin	0,31	0,62	1,25	2,5	5	10
00	71,94 %	73,57 %	39,49 %	20,01 %	24,88 %	28,67 %	49,76 %
30	71,94 %	54,49 %	10,58 %	8,46 %	14,28 %	24,33 %	43,91 %
60	71,94 %	37,54 %	6,26 %	7,82 %	13,03 %	22,42 %	40,66 %
90	71,94 %	20,33 %	5,73 %	7,82 %	12,51 %	21,90 %	39,62 %
120	71,94 %	10,87 %	5,69 %	7,76 %	12,42 %	21,74 %	38,30 %
150	71,94 %	7,25 %	5,69 %	7,76 %	12,42 %	21,74 %	37,27 %
180	71,94 %	5,69 %	5,69 %	7,76 %	12,42 %	21,22 %	37,27 %
210	71,94 %	5,69 %	5,69 %	7,76 %	12,42 %	21,22 %	37,27 %
240	71,94 %	5,69 %	5,69 %	7,76 %	12,42 %	21,22 %	37,27 %

## 1.6. Effets antianémiques, antiinflammatoires et analgésiques des extraits DRC ou DOSA

### 1.6.1. Effets antianémiques des extraits DRC ou DOSA

#### 1.6.1.1. Effet des extraits DRC ou DOSA sur des paramètres zootechniques

##### 1.6.1.1.1. Poids moyens des rats

L'évolution du poids moyen des rats expérimentaux durant les 21 jours d'expérimentation sont illustrés par le tableau XXI. Ce tableau révèle de manière générale que le poids corporelle moyen des animaux utilisés augmente dans le temps en fonction du lot considéré (témoin sain, témoin anémié, traité avec la vitamine B9 et diverses concentrations de DRC ou DOSA) avec une légère baisse au deuxième jour (J<sub>2</sub>) excepté chez le témoin sain. Il montre également que cette évolution moyenne du poids corporel n'est pas significative entre celle des lots traités avec les différentes doses de DRC ou DOSA et le lot témoin sain en opposition à celui traité par la vitamine B9 surtout de la première semaine (J<sub>7</sub>) à la troisième semaine (J<sub>21</sub>).

Dans ce tableau, il est constaté que lorsque l'on considère uniquement la troisième semaine (J<sub>21</sub>), le poids corporel moyen des animaux est plus important pour chaque lot constitué que les

autres jours de l'expérimentation. Cette observation est remarquable avec le traitement avec la vitamine B9 ( $211,33 \pm 2,96$ ), avec 800 mg/Kg/PC de DOSA ( $194,50 \pm 0,50$ ) et de DRC ( $189,67 \pm 6,74$ ) comparativement le témoin anémie ( $165 \pm 11,26$ ). Néanmoins, lorsque l'on compare spécialement le poids corporel moyen des animaux traités avec les diverses doses des produits à la troisième semaine avec celui du lot témoin, l'on constate qu'il n'y a pas de variation significative entre eux exception fait au témoin anémié.

**Tableau XXI** : Poids moyens des rats des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Poids moyens (%)				
	J0	J2	J7	J14	J21
Témoin sain	$162,67 \pm 6,74$	$170,07 \pm 4,19$	$177,77 \pm 4,74$	$177,77 \pm 7,65$	$179,33 \pm 7,62$
Témoin anémié	$149,73 \pm 8,14$	$143,67 \pm 13,86$	$152,20 \pm 6,12$	$162,87 \pm 11,77$	$165,67 \pm 11,26$
Vitamine B9 2 mg/kg	$159,07 \pm 10,91$	$154,53 \pm 11,69$	$193,47 \pm 4,65^*$	$206,93 \pm 4,19^{**}$	$211,33 \pm 2,96^{**}$
DRC	200 mg/Kg/PC	$154,67 \pm 3,18$	$150,40 \pm 5,18$	$160,50 \pm 9,12$	$163,33 \pm 8,66$
	400 mg/Kg/PC	$156,67 \pm 13,67$	$149,10 \pm 15,21$	$160,13 \pm 11,94$	$181,9 \pm 4,22$
	800 mg/Kg/PC	$153,00 \pm 15,70$	$151,76 \pm 14,68$	$164,60 \pm 15,50$	$179,60 \pm 8,33$
DOSA	200 mg/Kg/PC	$151,33 \pm 7,80$	$145,46 \pm 6,63$	$156,00 \pm 3,05$	$161,00 \pm 3,00$
	400 mg/Kg/PC	$150,25 \pm 2,25$	$148,13 \pm 1,88$	$162 \pm 0,25$	$170,5 \pm 5,75$
	800 mg/Kg/PC	$151,00 \pm 3,00$	$141 \pm 2,00$	$162 \pm 2,00$	$175 \pm 4,00$

Légende : \* : significative ; \*\* : très significative

#### 1.6.1.1.2. Gain moyen quotidien des rats

L'évolution du gain moyen quotidien (GMQ) du poids des rats expérimentaux durant les 21 jours d'expérimentation sont illustrés par le tableau XXII.

Il montre de façon générale que le gain moyen quotidien (GMQ) des animaux sollicités s'accroît dans le temps selon le lot considéré (témoin sain, témoin anémié, traité avec la

vitamine B9 et diverses doses de DRC ou DOSA) avec une légère baisse au deuxième jour (J<sub>2</sub>) en dehors du témoin sain. Il indique aussi que le gain moyen quotidien n'est pas significative quel que soit le lot utilisé. Si l'on considère spécifiquement la troisième semaine (J<sub>21</sub>), il est remarqué que le paramètre étudié est plus important avec le traitement avec la vitamine B9 ( $32,86 \pm 0,30$ ) que celui avec DOSA ( $28,81 \pm 2,58$ ). Ce dernier est quant à lui plus élevé que celui traité avec DRC ( $23,97 \pm 13,46$ ). Ce constat est valable lorsqu'il est comparé avec le témoin anémié ( $10,67 \pm 6,63$ ). Toutefois, la comparaison à la même période du gain moyen quotidien des animaux traités avec les différentes doses des produits avec celui du témoin sain a permis d'avoir des valeurs qui ne sont pas significativement différentes.

**Tableau XXII :** Gains moyens quotidiens des rats des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Gain moyens quotidien (%/J)				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	0,00 ± 5,86	4,55 ± 5,04	9,28 ± 5,38	13,38 ± 4,98	18,44 ± 4,96
<b>Témoin anémié</b>	0,00 ± 7,69	-4,05 ± 10,63	1,65 ± 6,87	8,77 ± 9,84	10,64 ± 6,63
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 9,70	-2,85 ± 9,92	21,63 ± 8,84*	30,09 ± 9,30**	32,86 ± 9,30**
<b>DRC 200 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 2,91	-2,76 ± 3,90	3,77 ± 6,27	5,60 ± 6,01	9,70 ± 4,27
<b>DRC 400 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 12,34	-1,74 ± 11,87	2,21 ± 11,73	16,11 ± 10,48	18,51 ± 10,78
<b>DRC 800 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 14,51	-2,55 ± 14,10	7,58 ± 14,98	17,39 ± 13,21	23,97 ± 13,46
<b>DOSA 200 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 7,29	-3,88 ± 6,62	3,08 ± 5,68	6,39 ± 5,83	11,01 ± 7,36
<b>DOSA 400 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 2,12	-1,41 ± 1,83	7,82 ± 1,62*	13,48 ± 4,19**	21,46 ± 10,64**
<b>DOSA 800 mg/Kg/PC</b>	0,00 ± 2,81	-6,62 ± 2,28	7,28 ± 2,51	15,89 ± 3,51	28,81 ± 2,58

### 1.6.1.1.3. Effet antianémique des extraits DRC ou DOSA chez les Rats

Le tableau XXIII est le résultat de la variation uniquement du taux de globules rouges après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine puis traitement ou non avec des produits tels que la vitamine B9 et diverses doses de DRC ou DOSA. Il est remarqué généralement que le taux de globules rouges diminue au deuxième jour de l'expérience (J<sub>2</sub>) hormis le témoin sain pour relativement augmenter de la première semaine (J<sub>7</sub>) à la troisième semaine (J<sub>21</sub>) et cela quel que

soit le lot considéré. Ces variations ne sont pas également significatives quelque soit le lot considéré. Cependant lorsque le taux de globules rouges à la troisième semaine ( $J_{21}$ ) des produits utilisés est comparé entre eux avec celui du lot témoin anémié, il est constaté que globalement le taux est sensiblement important lors de la sollicitation des différentes doses de DOSA que celui de la vitamine B9. Tandis que ce taux est généralement plus important pour ce dernier que les lots de l'utilisation des diverses doses de DRC. La comparaison entre le nombre de globules rouges à la même période des rats traités avec les diverses doses des produits avec celui du témoin sain a mis en évidence un nombre de globules rouges qui n'est pas significativement différent entre eux.

Le tableau XXIV est le résultat de la variation uniquement du taux d'hématocrites après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine puis traitement ou non avec des produits tels que la vitamine B9 et diverses doses de DRC ou DOSA. Il est remarqué généralement que le taux d'hématocrites diminue au deuxième jour de l'expérience ( $J_2$ ) hormis le témoin sain pour relativement augmenter de la première semaine ( $J_7$ ) à la troisième semaine ( $J_{21}$ ) et cela quel que soit le lot considéré. Ces variations ne sont pas également significatives quelque soit le lot considéré. Cependant lorsque le taux de hématocrites à la troisième semaine ( $J_{21}$ ) des produits utilisés est comparé entre eux avec celui du lot témoin anémié, il est constaté que globalement le taux est sensiblement important lors de la sollicitation des différentes doses de DOSA que celui de la vitamine B9. Tandis que ce taux est généralement plus important pour ce dernier que les lots de l'utilisation des diverses doses de DRC. La comparaison entre le nombre d'hématocrites à la même période des rats traités avec les diverses doses des produits avec celui du témoin sain a mis en évidence un nombre de hématocrites qui n'est pas significativement différent entre eux.

Le tableau XXV est le résultat de la variation uniquement du taux d'hémoglobine après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine puis traitement ou non avec des produits tels que la vitamine B9 et diverses doses de DRC ou DOSA. Il est remarqué généralement que le taux d'hémoglobine diminue au deuxième jour de l'expérience ( $J_2$ ) hormis le témoin sain pour relativement augmenter de la première semaine ( $J_7$ ) à la troisième semaine ( $J_{21}$ ) et cela quel que soit le lot considéré. Ces variations ne sont pas également significatives quelque soit le lot considéré. Cependant lorsque le taux d'hémoglobine à la troisième semaine ( $J_{21}$ ) des produits utilisés est comparé entre eux avec celui du lot témoin anémié, il est constaté que globalement le taux est sensiblement important lors de la sollicitation des différentes doses de DOSA que celui de la vitamine B9.

Tandis que ce taux est généralement plus important pour ce dernier que les lots de l'utilisation des diverses doses de DRC. La comparaison entre le nombre d'hémoglobine à la même période des rats traités avec les diverses doses des produits avec celui du témoin sain a mis en évidence un nombre de hématocrites qui n'est pas significativement différent entre eux.

Les tableaux XXVI à XXVIII sont les résultats de la variation des taux du volume globulaire moyen (VGM), de la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH), de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), du nombre de plaquettes (PLT), des neutrophiles, des lymphocytes, des monocytes et des éosinophiles. Les résultats de cette étude n'ont révélé aucune variation significative de ces paramètres hématologiques quelque soit la solution sollicitée et la dose utilisée pendant les 21 jours de l'expérience par rapport au lot témoin sain.

**Tableau XXIII :** Taux de globules rouges des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

		Taux de globules rouges ( $10^6/uL$ )				
Lots	J0	J2	J7	J14	J21	
<b>Témoin sain</b>	$7,25 \pm 0,25$	$7,35 \pm 0,09$	$7,27 \pm 0,26$	$7,31 \pm 0,14$	$7,30 \pm 0,28$	
<b>Témoin anémié</b>	$7,75 \pm 0,20$	$3,12 \pm 0,70$	$4,70 \pm 0,09$	$5,20 \pm 0,39$	$5,95 \pm 0,27$	
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	$7,25 \pm 0,25$	$3,37 \pm0,20^{****}$	$5,70 \pm 0,40$	$6,83 \pm 0,24$	$7,19 \pm 0,40$	
<b>200 mg/Kg/PC</b>	$7,75 \pm 0,25$	$3,4 \pm 0,46$	$4,85 \pm 0,69$	$6,71 \pm 0,46$	$7,15 \pm 0,02$	
<b>DRC 400 mg/Kg/PC</b>	$7,05 \pm 0,015$	$3,11 \pm 0,06$	$4,30 \pm 0,32$	$6,02 \pm 0,20$	$7,03 \pm 0,18$	
<b>800 mg/Kg/PC</b>	$7,30 \pm 0,80$	$3,57 \pm 0,32$	$5,04 \pm 0,45$	$6,61 \pm 0,12$	$7,12 \pm 0,06$	
<b>200 mg/Kg/PC</b>	$7,85 \pm 0,35$	$3,44 \pm 0,22$	$4,42 \pm 0,55$	$6,23 \pm 0,50$	$7,20 \pm 0,10$	
<b>DOSA 400 mg/Kg/PC</b>	$7,17 \pm 0,17$	$3,21 \pm 1,32$	$3,97 \pm 0,29$	$6,11 \pm 0,82$	$7,25 \pm 0,25$	
<b>800 mg/Kg/PC</b>	$7,00 \pm 0,50$	$3,46 \pm 1,05$	$4,22 \pm 0,20$	$6,08 \pm 0,11$	$7,23 \pm 0,48$	

**Tableau XXIV** : Taux d'hématocrite des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux d'hématocrite (%)					
	J0	J2	J7	J14	J21	
<b>Témoin sain</b>	43,00 ± 0,00	42,93 ± 1,08	43,66 ± 1,02	43,03 ± 1,31	43,96 ± 1,35	
<b>Témoin anémié</b>	43,00 ± 20,00	22,03 ± 1,64	32,36 ± 1,44	37,53 ± 1,55	38,76 ± 1,57	
<b>Vitamine B9</b>	<b>2 mg/Kg/PC</b>	43,00 ± 2,08	22,10 ± 1,40****	36,60 ± 1,73	46,23 ± 0,95	46,46 ± 0,95
<b>DRC</b>	<b>200 mg/Kg/PC</b>	41,00 ± 40,00	22,23 ± 1,28	36,10 ± 1,60	42,63 ± 0,95	43,73 ± 1,15
	<b>400 mg/Kg/PC</b>	41,50 ± 3,50	21,96 ± 0,35	33,26 ± 1,02	42,63 ± 0,95	43,30 ± 0,66
	<b>800 mg/Kg/PC</b>	41,50 ± 6,50	22,03 ± 0,95	34,86 ± 0,95	42,76 ± 1,08	43,23 ± 0,84
<b>DOSA</b>	<b>200 mg/Kg/PC</b>	44,50 ± 0,50	21,75 ± 2,54	40,07 ± 2,40	48,71 ± 1,15	46,96 ± 3,70
	<b>400 mg/Kg/PC</b>	40,50 ± 0,50	32,66 ± 4,75	33,04 ± 8,01	42,17 ± 0,12	49,87 ± 5,93
	<b>800 mg/Kg/PC</b>	44,00 ± 1,00	26,25 ± 8,62	33,97 ± 13,45	50,35 ± 0,24	45,54 ± 12,44

**Tableau XXV :** Taux d'hémoglobine des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux d'hémoglobine (g/dL)				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	12,65 ± 0,15	12,46 ± 0,77	12,83 ± 0,22	12,29 ± 0,26	12,93 ± 0,50
<b>Témoin anémié</b>	13,10 ± 0,90	6,73 ± 0,62	9,60 ± 0,06	10,40 ± 0,33	11,96 ± 0,31
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	12,90 ± 0,10	6,90 ± 0,13****	10,50 ± 0,46	14,06 ± 0,28	14,96 ± 0,57
<b>DRC</b>					
<b>200 mg/kg</b>	12,70 ± 0,30	6,43 ± 0,48	10,40 ± 0,86	12,93 ± 0,64	12,86 ± 0,51
<b>400 mg/Kg/PC</b>	12,70 ± 0,30	6,03 ± 0,31	10,23 ± 0,44	13,13 ± 0,45	13,41 ± 0,24
<b>800 mg/Kg/PC</b>	12,98 ± 0,05	6,66 ± 0,51	10,20 ± 0,46	13,16 ± 0,35	14,66 ± 0,16
<b>DOSA</b>					
<b>200 mg/Kg/PC</b>	12,67 ± 0,44	6,70 ± 1,21	10,00 ± 0,10	12,50 ± 0,10	12,25 ± 0,05
<b>400 mg/Kg/PC</b>	12,33 ± 0,67	7,83 ± 1,39	11,47 ± 0,68	11,25 ± 0,05	13,95 ± 0,15
<b>800 mg/Kg/PC</b>	12,75 ± 0,25	6,90 ± 0,70	10,43 ± 0,94	12,65 ± 0,15	14,10 ± 0,40

**Tableau XXVI :** Taux du VGM des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux du VGM (FI)					
	J0	J2	J7	J14	J21	
<b>Témoin sain</b>	58 ± 10	54,3 ± 1,71	56,43 ± 1,59	57,17 ± 2,58	62,23 ± 2,26	
<b>Témoin anémié</b>	58,5 ± 1,50	58,9 ± 0,90	79,77 ± 1,16	68,9 ± 1,20	62,85 ± 0,15	
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	60,5 ± 1,50	59,63 ± 1,36***	79,07 ± 3,81	66,93 ± 2,66	64,27 ±	
<b>DRC</b>	<b>200 mg/Kg/PC</b>	61,5 ± 1,50	52,2 ± 0,20	74,05 ± 0,25	61,3 ± 1	57,2 ± 1,50
	<b>400 mg/Kg/PC</b>	60,5 ± 1,50	59,9 ± 1,39	77,7 ± 1,23	67,77 ± 1,92	62,93 ± 0,86
	<b>800 mg/Kg/PC</b>	60,5 ± 2,50	58,50 ± 1,12	77,27 ± 3,18	64,03 ± 0,55	63,47 ± 2,15
	<b>200 mg/Kg/PC</b>	53,5 ± 4,5	56,13 ± 4,27	81,93 ± 4,67	76,57 ± 4,62	57,2 ± 2,00
<b>DOSA</b>	<b>400 mg/Kg/PC</b>	54 ± 2,00	58,47 ± 3,70	72,33 ± 11,88	68,1 ± 8,90	52,1 ± 2,60
	<b>800 mg/Kg/PC</b>	52,5 ± 0,50	53,55 ± 1,55	79,77 ± 2,14	80,35 ± 1,85	54,35 ± 4,45

**Tableau XXVII :** Taux du TCMH des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux du TCMH (pg)				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	17,25 ± 0,25	17,10 ± 0,38	17,43 ± 0,34	17,60 ± 0,70	17,33 ± 0,54
<b>Témoin anémié</b>	18,33 ± 0,33	20,2 ± 0,38	23,73 ± 0,28	21,40 ± 0,50	20,75 ± 1,35
<b>Vitamine B9 2 mg/kg/PC</b>	18,50 ± 0,50	19,70 ± 0,42	23,23 ± 1,27*	20,37 ± 0,67	20,17 ± 0,22
<b>DRC</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	17,50 ± 0,50	18,85 ± 0,05	21,35 ± 0,35	18,45 ± 0,55	17,45 ± 0,55
<b>400 mg/kg/PC</b>	19,50 ± 0,50	20,30 ± 0,46	23,87 ± 0,79	21,87 ± 0,47	19,93 ± 0,39
<b>800 mg/kg/PC</b>	18 ± 1,00	18,70 ± 0,30	22,93 ± 1,69	19,70 ± 0,31	18,63 ± 0,19
<b>DOSA</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	19 ± 6,00	25,31 ± 2,99	27,96±3,26	20,33±1,44	24,89 ± 1,42
<b>400 mg/kg/PC</b>	17,5 ± 5,50	20,68 ± 4,12	29,04±0,43	18,89±2,63	24,05 ± 2,05
<b>800 mg/kg/PC</b>	18,5 ± 0,50	25,8 ± 2,30	33,19±2,94	20,83±0,64	19,6 ± 0,40

**Tableau XXVIII :** Taux du CCMH des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux du CCMH (g/dl)				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	31,00 ± 1,00	32,27 ± 0,73	30,40 ± 0,20	30,73 ± 0,17	32,63 ± 1,23
<b>Témoin anémié</b>	30,00 ± 3,00	34,57 ± 0,35	30,03 ± 0,43	31,00 ± 0,30	31,10 ± 0,10
<b>Vitamine B9 2 mg/kg/PC</b>	30,50 ± 3,50	31,70 ± 1,40	28,60 ± 0,00	30,40 ± 0,20	31,40 ± 0,00
<b>DRC</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	31,50 ± 1,50	36,10 ± 0,00	28,85 ± 0,35	30,05 ± 0,45	30,45 ± 0,15
<b>400 mg/kg/PC</b>	31,00 ± 0,00	33,83 ± 1,10	30,67 ± 0,62	32,23 ± 0,57	31,67 ± 0,35
<b>800 mg/kg/PC</b>	30,00 ± 2,00	31,9 ± 0,38	29,63 ± 1,19	30,80 ± 0,26	30,87 ± 0,49
<b>DOSA</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	33 ± 0,00	39,5 ± 1,94	33,83 ± 2,17	26,47 ± 0,41	35,94 ± 1,53
<b>400 mg/kg/PC</b>	32,7 ± 2,30	38,04 ± 1,21	32,63 ± 2,89	27,65 ± 0,25	38,65 ± 1,65
<b>800 mg/kg/PC</b>	32 ± 2,00	39,3±1,80	34,4±0,89	25,85±0,15	35,7±2,80

**1.6.1.1.4. Plaquettes sanguines**

Le tableau XXIX est le résultat de la variation du taux de plaquettes sanguines. Le résultat de cette étude n'a révélé aucune variation significative de ce paramètre hématologique quelque soit la solution sollicitée et la dose utilisée pendant les 21 jours de l'expérience par rapport au lot témoin sain.

**Tableau XXIX :** Taux de plaquette des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux de plaquette (x103 / $\mu$ l)					
	J0	J2	J7	J14	J21	
Témoin sain	950 $\pm$ 76,38	711,67 $\pm$ 270,39	896,11 $\pm$ 264,22	1179,67 $\pm$ 65,71	879,73 $\pm$ 126,64	
Témoin anémié	955 $\pm$ 50	491,33 $\pm$ 131,67	682,33 $\pm$ 124,86	847 $\pm$ 65	732,5 $\pm$ 32,00	
Vitamine B9 2 mg/kg/PC	750 $\pm$ 20	593,33 $\pm$ 116,15	633 $\pm$ 237,57	882 $\pm$ 169,32	915,33 $\pm$ 66,58	
DRC	200 mg/kg/PC	880 $\pm$ 120	385 $\pm$ 113	634 $\pm$ 143	876,5 $\pm$ 59,5	880 $\pm$ 100
	400 mg/kg/PC	750 $\pm$ 250	444 $\pm$ 267,88	786 $\pm$ 85,8	925 $\pm$ 123,56	875,33 $\pm$ 156,94
	800 mg/kg/PC	1050 $\pm$ 150	521,67 $\pm$ 305,47	662,67 $\pm$ 40,44	884,33 $\pm$ 129,99	1007 $\pm$ 61,54
DOSA	200 mg/kg/PC	950 $\pm$ 150,00	806,67 $\pm$ 320,43	844,67 $\pm$ 16,33	850,67 $\pm$ 75,86	960 $\pm$ 10,00
	400 mg/kg/PC	900 $\pm$ 0,00	1088,67 $\pm$ 160,17*	830,67 $\pm$ 99,98	1016,5 $\pm$ 1,50	999,5 $\pm$ 0,50
	800 mg/kg/PC	850 $\pm$ 50,00	263,5 $\pm$ 113,50	1013 $\pm$ 16,00	835 $\pm$ 68,00	858,5 $\pm$ 58,50

#### **1.6.1.1.5. Paramètres liés aux cellules immunitaires**

Les valeurs des paramètres liées aux cellules immunitaires sont résumées dans les tableaux XXX à XXXV. Au niveau du tableau XXX se trouve l'évolution du taux de globules blancs après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine puis le traitement ou non avec les produits tels que la vitamine B9 et différentes doses de DRC ou DOSA. Globalement, il est observé une variation (augmentation ou élévation) après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine pendant les premiers jours puis une diminution des globules blancs jusqu'à la valeur normale en fonction du temps et du produit utilisé. Cette élévation atteint son pic au deuxième jour de l'expérience (J<sub>2</sub>) et cela quelque soit le produit sollicité. La diminution du taux de globules blancs est observée à partir du septième jour (J<sub>7</sub>) jusqu'à la normale au vingt-et-unième jour (J<sub>21</sub>).

Au niveau des tableaux XXXI à XXXV se trouve l'évolution des taux de neutrophile, de lymphocyte, de monocyte et d'éosinophile après l'induction de l'anémie avec la phénylhydrazine puis le traitement ou non avec les produits tels que la vitamine B9 et différentes doses de DRC ou DOSA. Globalement, il est observé qu'il n'y a aucune variation significative des neutrophiles, des lymphocytes, des monocytes et des éosinophiles quelque soit la solution sollicitée et la dose utilisée pendant les 21 jours de l'expérience par rapport au lot témoin sain.

**Tableau XXX :** Taux de globule blanc des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux de globule blanc ( $\times 10^3 / \mu\text{l}$ )				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	11,33 $\pm$ 1,00	16,07 $\pm$ 1,41	13,26 $\pm$ 0,54	16,44 $\pm$ 2,44	16,47 $\pm$ 0,80
<b>Témoin anémié</b>	11,17 $\pm$ 1,00	29,13 $\pm$ 4,15	11,67 $\pm$ 0,04	13,03 $\pm$ 0,28	16,31 $\pm$ 1,03
<b>Vitamine B9 2 mg/kg/PC</b>	12,00 $\pm$ 0,50	30,21 $\pm$ 3,10*	18,41 $\pm$ 1,38	15,2 $\pm$ 2,96	19,34 $\pm$ 1,79
<b>200 mg/kg/P C</b>	13,50 $\pm$ 3,50	19,92 $\pm$ 7,23	16,98 $\pm$ 1,21	13,67 $\pm$ 1,03	16,64 $\pm$ 4,46
<b>DRC 400 mg/kg/P C</b>	12,50 $\pm$ 2,50	20,31 $\pm$ 1,74	13,1 $\pm$ 2,23	12,94 $\pm$ 1,99	10,88 $\pm$ 0,45
<b>800 mg/kg/P C</b>	11,00 $\pm$ 1,00	31,14 $\pm$ 1,56	22,81 $\pm$ 0,40	18,29 $\pm$ 3,1	15,66 $\pm$ 1,23
<b>200 mg/kg/P C</b>	17,00 $\pm$ 2,00	28,5 $\pm$ 3,86	13,16 $\pm$ 6,97	12 $\pm$ 0,80	16,22 $\pm$ 0,57
<b>DOSA 400 mg/kg/P C</b>	10,50 $\pm$ 1,50	31,5 $\pm$ 9,50	15,87 $\pm$ 5,85	17,15 $\pm$ 2,15	17,38 $\pm$ 0,48
<b>800 mg/kg/P C</b>	17,50 $\pm$ 2,50	24,65 $\pm$ 3,25	25,03 $\pm$ 2,30	10,9 $\pm$ 1,20	14,77 $\pm$ 0,16

**Tableau XXXI :** Taux de neutrophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux de neutrophile				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	2 ± 0,58	3,52 ± 0,37	2,09 ± 0,39	3,43 ± 0,33	2,98 ± 0,30
<b>Témoin anémié</b>	1,75 ± 0,25	3,79 ± 1,03	1,18 ± 0,15	2,64 ± 0,37	2,02 ± 0,52
<b>Vitamine B9 2 mg/kg/PC</b>	2,5 ± 0,50	6,43 ± 0,98	1,57 ± 0,63	2,38 ± 0,70	2,99 ± 0,33
<b>DRC</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	3 ± 1	5,07 ± 0,30	0,88 ± 0,46	3,1 ± 1,13	3,33 ± 1,52
<b>400 mg/kg/PC</b>	2,5 ± 0,5	5,54 ± 0,65	1,54 ± 0,21	2,46 ± 0,47	1,22 ± 0,06
<b>800 mg/kg/PC</b>	4 ± 2	5,14 ± 1,59	1,65 ± 0,49	3,7 ± 0,76	2,69 ± 0,34
<b>DOSA</b>					
<b>200 mg/kg/PC</b>	2,5 ± 0,50	4,77 ± 0,62	3,77 ± 0,97	2,44 ± 0,47	3,65 ± 0,15
<b>400 mg/kg/PC</b>	2,25 ± 0,25	4,9 ± 1,42	4,22 ± 0,90	2,59 ± 1,01	3,08 ± 0,78
<b>800 mg/kg/PC</b>	2,5 ± 0,50	4,71 ± 0,56	3,26 ± 0,35	1,94 ± 0,73	2,24 ± 0,79

**Tableau XXXII :** Taux de lymphocyte des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux de lymphocyte (%)				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	13,00±1,00	11,91 ± 1,87	8,33 ± 1,50	8,58 ± 0,46	12,81 ± 1,18
<b>Témoin anémié</b>	12,5±1,50	17,95 ± 1,30	9,37 ± 1,33	13,01 ± 4,66	13,25 ± 1,40
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	14,25±4,75	20,97 ± 1,88	14,06 ± 3,05	10,41 ± 2,75	12,12 ± 2,04
<b>DRC 200 mg/Kg/PC</b>	11 ± 1,00	17,86 ± 2,38	13,48 ± 0,01	8,47 ± 1,22	11,74 ± 2,03
<b>400 mg/Kg/PC</b>	11 ± 1,00	13,23 ± 1,02	9,88 ± 1,10	9,61 ± 1,80	8,57 ± 0,75
<b>800 mg/Kg/PC</b>	12,50 ± 0,50	21,37 ± 0,56	10,29 ± 0,32	13,38 ± 1,98	11,91 ± 1,42
<b>DOSA 200 mg/Kg/PC</b>	15,67 ± 0,67	12,24 ± 2,68	6,07 ± 1,25	6,61 ± 0,62	14,32 ± 0,36
<b>400 mg/Kg/PC</b>	11,6 ± 1,51	13,28 ± 1,29	6,99 ± 0,59	7,51 ± 1,09	14,28 ± 0,92
<b>800 mg/Kg/PC</b>	12,73 ± 1,79	14,4 ± 2,50	4,73 ± 0,41	7,99 ± 0,54	14,3 ± 1,70

**Tableau XXXIII :** Taux de monocyte des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux de monocyte				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	0,90 ± 0,00	0,97 ± 0,09	0,81 ± 0,24	1,07 ± 0,22	0,8 ± 0,16
<b>Témoin anémié</b>	0,93 ± 0,08	0,93 ± 0,12	0,76 ± 0,27	1,26 ± 0,29	0,97 ± 0,28
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	0,9 ± 0,35	1,05 ± 0,08	0,66 ± 0,32	1,54 ± 0,04	0,95 ± 0,25
<b>200 mg/Kg/PC</b>	0,92 ± 0,28	0,97 ± 0,12	1,34 ± 0,14	0,79 ± 0,48	0,77 ± 0,31
<b>DRC 400 mg/Kg/PC</b>	0,6 ± 0,20	1,02 ± 0,16	0,62 ± 0,25	0,55 ± 0,08	0,69 ± 0,26
<b>800 mg/Kg/PC</b>	1,25 ± 0,05	1,07 ± 0,11	0,54 ± 0,38	0,64 ± 0,09	0,66 ± 0,12
<b>200 mg/Kg/PC</b>	2,20 ± 0,20	2,54 ± 0,18	1,64 ± 0,04	2,47 ± 0,21	1,71 ± 0,07
<b>DOSA 400 mg/Kg/PC</b>	1,40 ± 0,60	1,94 ± 0,45	1,46 ± 0,03	2,16 ± 0,36	1,10 ± 0,29
<b>800 mg/Kg/PC</b>	1,25 ± 0,25	2,40 ± 0,45	1,68 ± 0,19	1,58 ± 0,24	1,60 ± 0,00

**Tableau XXXIV :** Taux d'éosinophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	Taux d'éosinophile				
	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	0,23 ± 0,08	0,32 ± 0,21	0,25 ± 0,07	0,24 ± 0,07	0,32 ± 0,15
<b>Témoin anémié</b>	0,18 ± 0,08	0,36 ± 0,14	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,09	0,40 ± 0,14
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	0,35 ± 0,15	0,51 ± 0,15	0,29 ± 0,14	0,13 ± 0,03	0,52 ± 0,11
<b>DRC</b>					
<b>200 mg/Kg/PC</b>	0,28 ± 0,18	0,33 ± 0,06	0,49 ± 0,03	0,48 ± 0,14	0,33 ± 0,18
<b>400 mg/Kg/PC</b>	0,34 ± 0,13	0,49 ± 0,12	0,21 ± 0,05	0,22 ± 0,08	0,33 ± 0,13
<b>800 mg/Kg/PC</b>	0,55 ± 0,05	0,43 ± 0,08	0,25 ± 0,04	0,36 ± 0,22	0,32 ± 0,11
<b>DOSA</b>					
<b>200 mg/Kg/PC</b>	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,07
<b>400 mg/Kg/PC</b>	0,10 ± 0,00	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,14 ± 0,04	0,15 ± 0,05
<b>800 mg/Kg/PC</b>	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,17 ± 0,03	0,15 ± 0,05	0,15 ± 0,05

**Tableau XXXV :** Taux de basophile des lots traités par les extraits DRC ou DOSA par rapport aux lots témoins

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
<b>Témoin sain</b>	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,09 ± 0,04
<b>Témoin anémié</b>	0,07 ± 0,01	0,1 ± 0,03	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,05 ± 0,01
<b>Vitamine B9 2 mg/Kg/PC</b>	0,09 ± 0,00	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01
<b>200 mg/Kg/PC</b>	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,03	0,08 ± 0,03
<b>DRC 400 mg/Kg/PC</b>	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,1 ± 0,04	0,08 ± 0,02
<b>800 mg/Kg/PC</b>	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,04
<b>200 mg/Kg/PC</b>	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01
<b>DOSA 400 mg/Kg/PC</b>	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01
<b>800 mg/Kg/PC</b>	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01

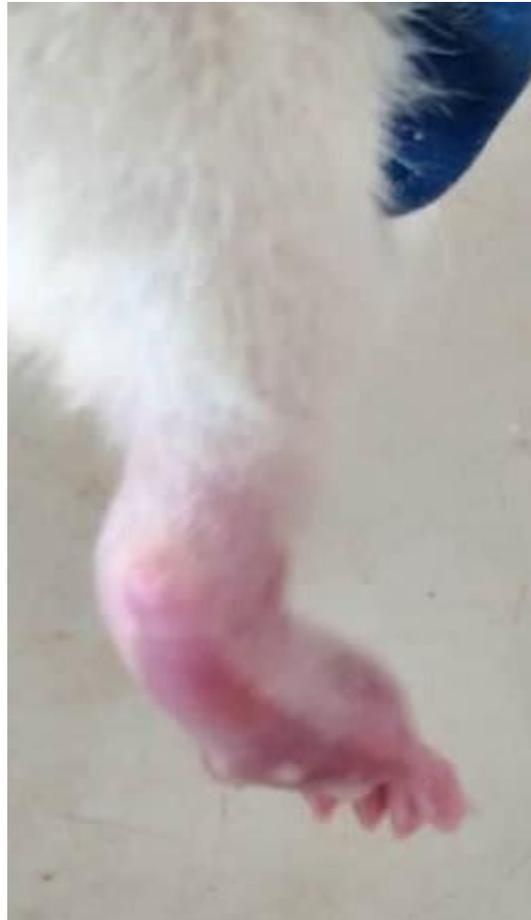
Les résultats de cette étude ont montré que les extraits de DRC ou DOSA ont des effets antianémiques. Par ailleurs les traitements des rats avec les extrais (DRC ou DOSA) n'ont provoqué aucune perturbation au niveau du gain moyen quotidien des masses des rats jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour. Il est de même aux paramètres liés aux globules blancs. En effet, leur taux est resté constant durant la période de l'expérimentation. De ces deux extraits (DRC ou DOSA), le DOSA à la dose 800 mg/Kg/PC présente les meilleurs résultats.

### **1.6.2. Effets anti-inflammatoires des extraits DRC ou DOSA**

Les figures 39 et 40 montrent l'état œdémateux de la patte postérieure de l'animal après l'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire.



**Figure 39** : Vue de face de la patte postérieure œdémateuse après l'injection de carragénine



**Figure 40 :** Vue de dos de la patte postérieure œdémateuse de rat après l'injection de la carragénine

#### **1.6.2.1. Epaisseurs des œdèmes**

Les variations des œdèmes des pattes des rats après l'injection de la carragénine sont présentés par les figures 41 et 42. Ces figures révèlent de manière générale qu'initialement ( $T_0$ ), l'épaisseur moyenne des pattes postérieures étaient d'environ  $2,37 \pm 0,11$  millimètre. De plus de la 1<sup>ère</sup> heure à la 2<sup>ème</sup> heure (120 minutes), il est constaté que l'épaisseur moyenne des pattes a augmenté progressivement jusqu'à atteindre un pic quelque soit le produit utilisé (diclofénac (acide 2-2,6-dichloranilino phénylacétique) et les diverses doses de DRC ou DOSA). Après ce temps, toutes les courbes obtenues ont toutes tendances à décroître. De même les courbes décrites par l'action des produits sollicités sont toutes en dessous des courbes des témoins. De manière spécifique sur la figure 42 ou les courbes décroites sont fonctions de la concentration de DOSA

sollicité. Ainsi dans ce dernier cas l'épaisseur moyenne des pattes diminue au fur et à mesure que la concentration de DOSA augmente.

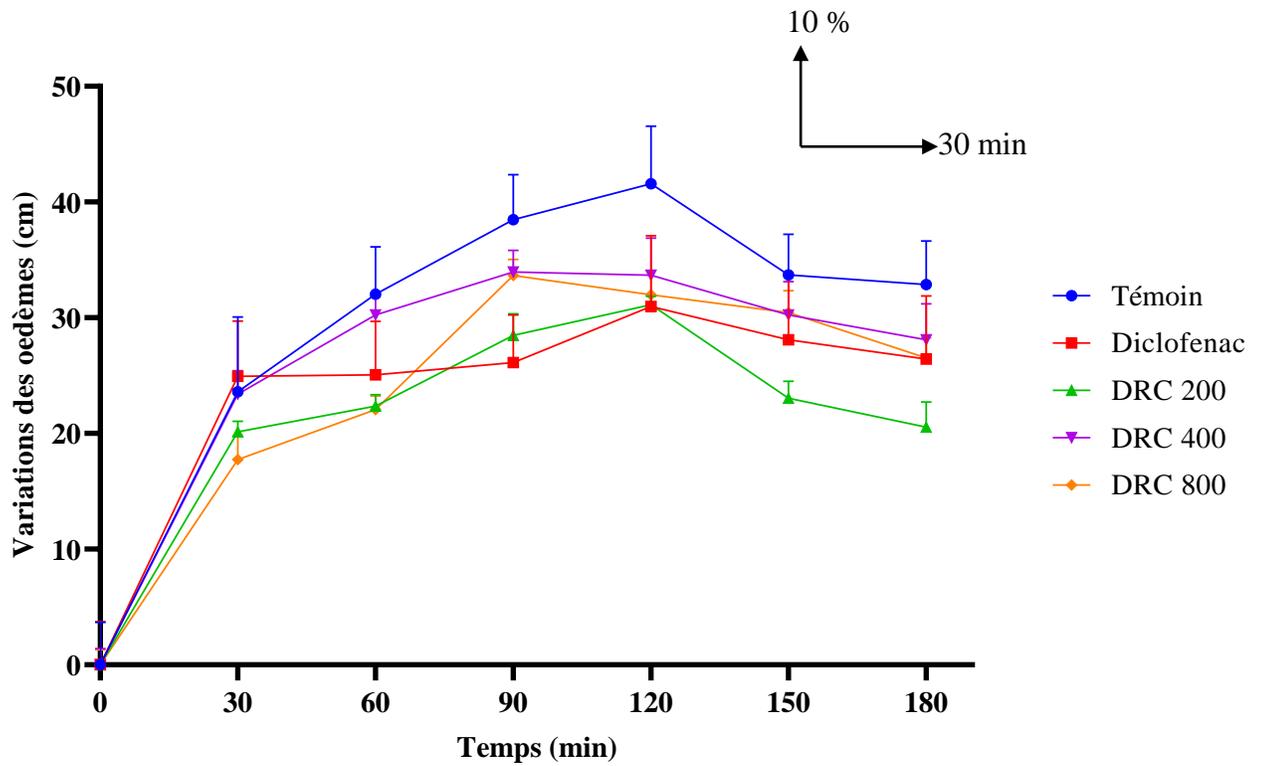


Figure 41 : Variations des épaisseurs des œdèmes des pattes des rats traités par le DRC

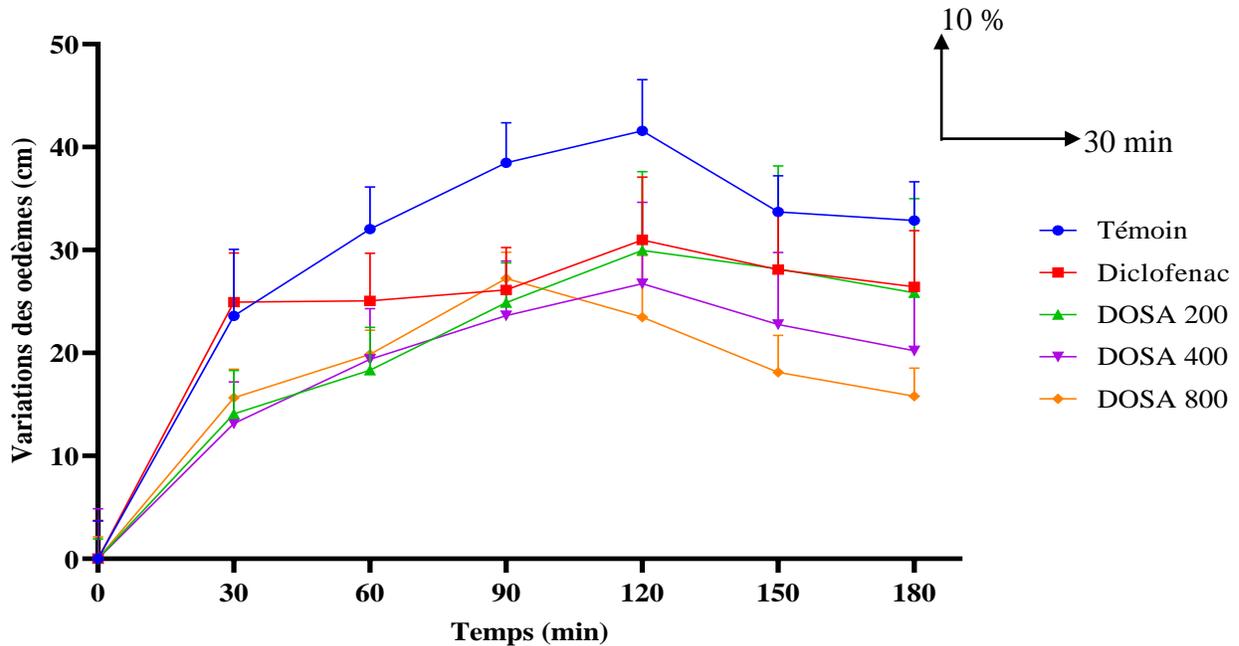


Figure 42 : Variations des épaisseurs des œdèmes des pattes des rats traités par le DOSA

### 1.6.2.2. Taux d'augmentation des œdèmes des pattes des rats

Les variations du pourcentage d'augmentations des œdèmes des pattes postérieures des rats après l'injection de la carragénine puis administration orale des divers produits (diclofénac (acide 2-2,6-dichloranilino phénylacétique) sont représentés par les figures 43 et 44. La tendance générale des courbes obtenues par l'action de DRC est leur évolution progressive jusqu'à un pic compris entre 20 et 40 % d'augmentation pour tous les produits utilisés de T<sub>1</sub> (30 minutes) à T<sub>4</sub> (120 minutes). Après cette étape, il y'a leur régression générale qui se trouve entre 20 et 30 % d'augmentation. Ces mêmes phénomènes sont observés avec l'action des différentes doses de DOSA. A la seule différence que le pic se trouve entre 10 et 40 % pour les temps de T<sub>1</sub> (30 minutes) à T<sub>4</sub> (120 minutes). Alors qu'il y'a une diminution progressive qui se stabilise entre 10 à 20 % entre 150 minutes et 180 minutes avec une meilleure action à 800 mg/Kg/PC de DOSA.

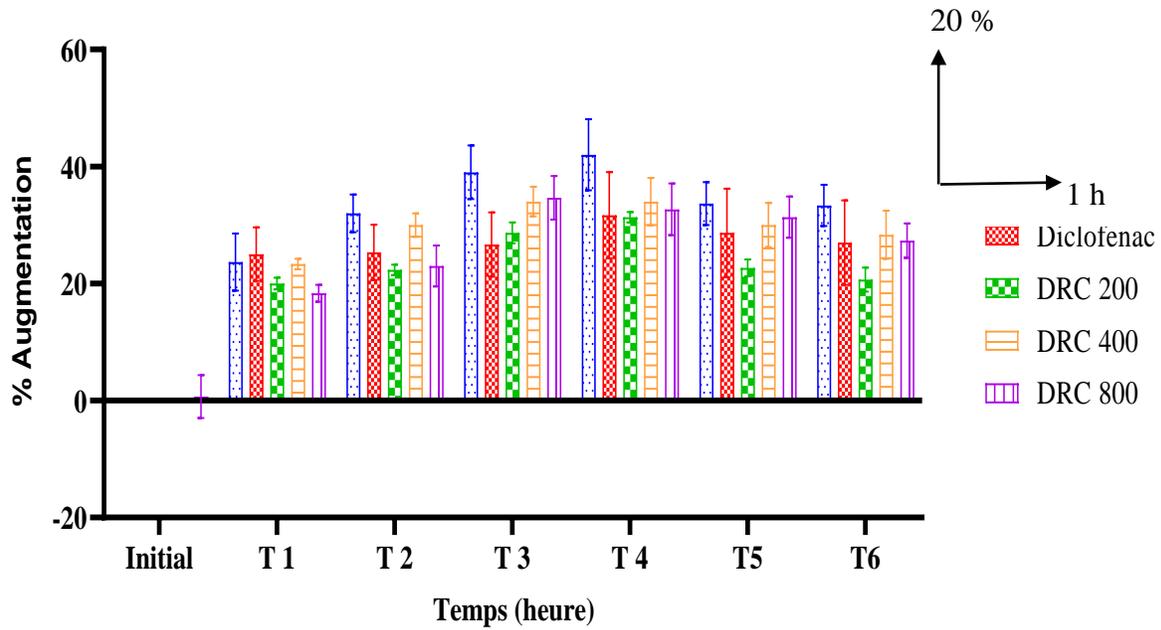


Figure 43 : Variation du pourcentage d'augmentation des œdèmes des pattes des rats traités par l'extrait DRC

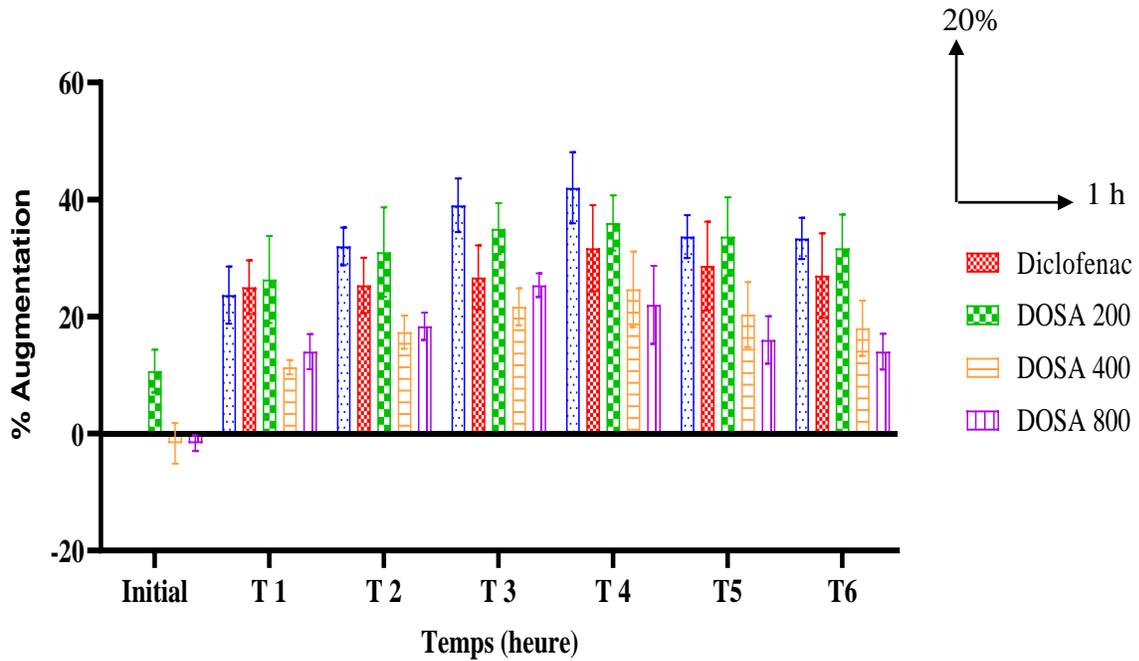


Figure 44 : Variation du pourcentage d'augmentation des œdèmes des pattes des rats traités par l'extrait DOSA

### 1.6.2.3. Taux d'inhibition des œdèmes des pattes des rats

Le tableau XXXVI est le résultat du taux d'inhibition des œdèmes des pattes chez les rats après injection de la carragénine puis administration orale des différents produits sollicités. De façon, il est remarqué avec l'utilisation du diclofénac que ce taux d'inhibition augmente avec le temps pour atteindre leur maximum à 180 minutes ( $58,0 \pm 3,6$  %). Quant à l'usage des diverses doses de DRC ou DOSA, il est constaté une variation du taux d'inhibition quel que soit la dose et le produit sollicité. Cependant, si l'on compare entre eux le taux d'inhibition de l'action de chaque produit utilisé, il est remarqué qu'à 180 minutes de l'expérience à  $58 \pm 0,24$  % pour le diclofénac qui est supérieur à  $55 \pm 0,24$  % pour 800 mg/Kg/PC de DOSA qui lui à son tour est supérieur  $17 \pm 0,01$  % pour 800 mg/Kg/PC de DRC. La comparaison entre le pourcentage d'inhibition des œdèmes des pattes à la même période des rates traités avec diverses doses des produits avec celui du témoin positif a mis en évidence un pourcentage d'inhibition des œdèmes des pattes qui est significativement différent entre les lots DRC à toutes les doses et le lot DOSA à 400 mg/Kg/PC par rapport aux autres lots.

**Tableau XXXVI :** Taux d'inhibition des œdèmes des pattes des rats traités par les extraits DRC ou DOSA

		Pourcentages d'inhibition des œdèmes des pattes					
Lots	Doses mg/Kg/PC	1 H	2 H	3 H	4 H	5 H	6 H
diclofénac	10	$-7 \pm 0,09$	$23 \pm 0,15$	$32 \pm 0,19$	$42 \pm 0,40$	$47 \pm 0,33$	$58 \pm 0,36$
	200	$8 \pm 0,30$	$30 \pm 0,08$	$24 \pm 0,21$	$23 \pm 0,17$	$31 \pm 0,14$	$37 \pm 0,12$
DRC	400	$-9 \pm 0,44$	$5 \pm 0,07$	$10 \pm 0,21$	$13 \pm 0,39$	$8 \pm 0,29$	$11 \pm 0,35$
	800	$14 \pm 0,34$	$29 \pm 0,11$	$10 \pm 0,03$	$21 \pm 0,04$	$7 \pm 0,07$	$17 \pm 0,01$
DOSA	200	$16 \pm 0,51$	$6 \pm 0,27$	$2 \pm 0,18$	$4 \pm 0,34$	$19 \pm 0,49$	$16 \pm 0,50$
	400	$50 \pm 0,11$	$46 \pm 0,13$	$43 \pm 0,22$	$38 \pm 0,38$	$38 \pm 0,32$	$43 \pm 0,32$
	800	$39 \pm 0,17$	$43 \pm 0,13$	$32 \pm 0,21$	$42 \pm 0,45$	$50 \pm 0,27$	$55 \pm 0,24$

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits (DRC ou DOSA) ont des effets anti-inflammatoires. Par ailleurs, les traitements des rats avec les extraits (DRC ou DOSA) n'ont provoqué d'inhibition des œdèmes des pattes des rats jusqu'à la 6<sup>ème</sup> heure.

En effet, les pourcentages d'inhibition des œdèmes augmentent progressivement durant la période de l'expérimentation. De ces deux extraits (DRC ou DOSA), le DOSA à la dose 800 mg/Kg/PC présente les meilleurs résultats ( $55\pm 0,24\%$ ).

### **1.6.3. Effets analgésiques des extraits DRC ou DOSA**

#### **1.6.3.1. Effets des extraits DRC ou DOSA sur le nombre de contorsions abdominales**

La figure 46 est le résultat obtenu lors de la détermination de l'activité analgésique après une induction de la torsion abdominale par l'acide acétique à 0,6 %. Puis une leur traitement avec divers produits tels que le paracétamol et diverses doses de DRC ou DOSA. La figure révèle une diminution globale des contorsions lors de l'utilisation des différents produits comparativement au témoin. Cette régression est importante plus pour le paracétamol que celle des différentes doses de DRC ou DOSA. Néanmoins, avec la sollicitation de 400 mg/Kg/PC de DOSA. Ce constat est en opposition avec l'utilisation de 800 mg/Kg/PC de ces mêmes produits.

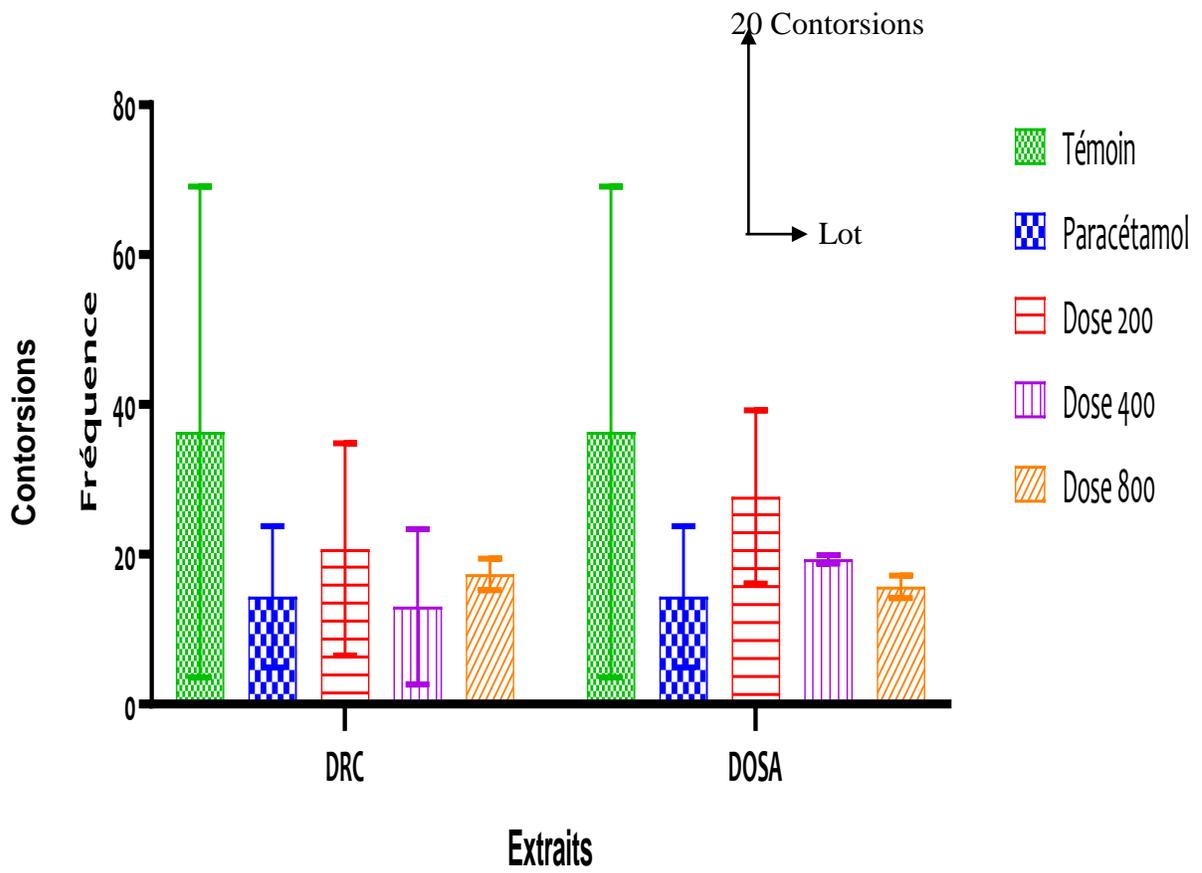


Figure 45 : Activité analgésique par les extraits DRC ou DOSA

### 1.6.3.2. Effets anti-douleur par des extraits DRC ou DOSA

Dans le tableau XXXVII est consigné le résultat du pourcentage d'inhibition de la douleur lors de l'usage de paracétamol et différentes doses de DRC et DOSA. Globalement, il est constaté que le pourcentage d'inhibition augmente en fonction de la concentration de DRC ou DOSA utilisée. Par ailleurs, la comparaison de l'action des diverses doses de DRC ou DOSA et du paracétamol entre elles sur le pourcentage d'inhibition a permis de voir que 10 mg/Kg/PC du paracétamol donne  $60,55 \pm 25,44$  % contre  $56,88 \pm 22,57$  % pour 800 mg/Kg/PC de DOSA et  $52,04 \pm 25,04$  %.

**Tableau XXXVII :** Pourcentages d'inhibitions de la douleur des extraits DRC ou DOSA sur les contorsions abdominales induites chez les souris après l'injection de l'acide acétique

Produits	Doses (mg/Kg/PC)	% d'inhibition
TN Eau physiologique	1 mL/100 g	00
TP Paracétamol	10	$60,55 \pm 25,44$
	200	$43,12 \pm 37,17$
DRC	400	$48,22 \pm 24,89$
	800	$52,20 \pm 25,04$
	200	$23,85 \pm 43,69$
DOSA	400	$46,69 \pm 27,70$
	800	$56,88 \pm 22,57$

Les données ont montré que les extraits DRC ou DOSA ont des effets analgésiques. Ces effets sont de doses dépendantes. Ces effets sont plus importants avec l'extrait DOSA à 800 mg/Kg/PC ( $56,88 \pm 22,57$  %) qu'avec l'extrait DRC à la même dose ( $52,20 \pm 25,04$  %) comparativement au témoin positif qui est la paracétamol (acétaminophène).

## 2. DISCUSSION

Le but de la présente étude était d'évaluer la toxicité, l'activité anti-drépanocytaire et quelques paramètres zootechniques de *Rhynchospora corymbosa* et *Olox subscorpioïdea* chez le rat wistar de ces deux espèces de plantes. Selon Bla *et al.* (2015), la décoction a été choisie comme mode d'extraction car elle est fréquemment utilisée dans le milieu traditionnel pour la fabrication de médicaments à base de plante. En effet, ces auteurs ont démontré que plus de 65 % de la population ivoirienne étudiée utilise cette approche. Cela s'applique également aux recherches de Gnagne *et al.* (2017), qui ont démontré que la décoction est utilisée à 88,2 % dans la préparation de médicaments à base de plantes.

Les différents composants chimiques des extraits de plantes peuvent être influencés par plusieurs facteurs s'agissant des compositions chimiques. En effet, selon Sofowora (1996) la situation géographique, l'organe prélevé, la période, le moment et les conditions de stockage affectent la composition d'une plante en métabolites secondaires. En plus, Il est important de souligner que les qualités bioactives des plantes sont attribuables à ces métabolites secondaires.

Le triphytochimie a révélé que le décocté de *Rhynchospora corymbosa* (DRC) contient des alcaloïdes, des tanins catéchiques, des stérols, des polyterpéniques et des saponines dans par contre, les polyphénols, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes, les alcaloïdes, les saponines et les stéroïdes ont été présents dans le décocté de *Olox subscorpioïdea* (DOSA). Ces résultats confirment les travaux de Soro *et al.* (2021) ainsi que ceux de Odoma *et al.* (2014), Adegbite *et al.* (2015), Kazeem *et al.* (2015), Odoma *et al.* (2015) et Popoola *et al.* (2016). Ces auteurs ont signalé la présence de ces mêmes composés dans les fractions d'extrait (aqueuse, butanolique, hexanique et acétate d'éthylique et hydro éthanolique) de *Olox subscorpioïdea*. Par contre, ces résultats diffèrent de ceux de Fankam *et al.* (2011) et de Ishola *et al.* (2015). En plus des tanins, des saponines, des stéroïdes, des polyphénols et des flavonoïdes, ces auteurs ont découvert que les anthraquinones (dérivés des quinones) étaient présentes dans l'extrait aqueux des feuilles *Olox subscorpioïdea*.

Il faut signaler que les quinones sont absentes dans les extraits aqueux de DRC ou DOSA de cette étude. Il est démontré que ces groupes chimiques présentent des activités biologiques. En effet, les composés phénoliques tels que les tanins cathéchiques sont connus pour leurs propriétés antioxydantes (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010). Ces antioxydants ont le potentiel d'activer la défense immunitaire et protéger les érythrocytes contre l'oxydation des protéines et la

peroxydation lipidique membranaire (Mpondo *et al.*, 2012). Quant aux saponines, ils présentent des activités protectrices sur les veines et les capillaires, et une activité œdémateuse et hormonale (Macheix *et al.*, 2005). Alors que les terpénoïdes et les stéroïdes constituent les métabolites secondaires des végétaux les plus largement connus (Yamunadevi *et al.*, 2011). En effet, les stéroïdes sont des métabolites secondaires connus pour leur action analgésique. Ils régularisent le métabolisme des protéines et des glucides, et augmentent la synthèse des muscles et des os (Bruneton, 2009). En plus de ces qualités mentionnées précédemment, ils sont liés au contrôle hormonal des femmes (Hossain *et al.*, 2013). Outre ces composés, les alcaloïdes possèdent des activités antalgiques selon Koua *et al.* (2018). Enfin, les alcaloïdes sont retrouvés dans les deux espèces de plantes (*Rhynchospora corymbosa* et de *Olox subscorpioïdea*). Les alcaloïdes ont plusieurs propriétés biologiques selon Okwu *et al.* (2007). Selon Badiaga (2011), les alcaloïdes sont très recherchés pour leur large spectre d'activités biologiques dont les propriétés analgésiques et antalgiques. Ils possèdent également des actions sur le système nerveux central (Bruneton, 1999). De même, les tanins catéchiques et galliques sont présents dans l'extrait de *Olox subscorpioïdea*. Comme propriétés biologiques, ils sont utilisés pour leurs activités antioxydante (Yessoufou *et al.*, 2013) et hémostatique (Agunu *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009). Les flavonoïdes précisément les flavones sont retrouvés dans les deux extraits de plantes. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation sanguine et possèdent un fort potentiel antioxydant ou anti-radicalaire (Gbénou *et al.*, 2011), et empêchent la tendance des cellules sanguines minuscules ou plaquettes à se regrouper et à former des caillots sanguins (Adedapo *et al.*, 2013). Les flavonoïdes ont également des effets anti-inflammatoires, hépato-protectrices et diurétiques (Park *et al.*, 2008). Ces plantes à flavonoïdes sont des traitements efficaces contre de nombreuses maladies en raison de leurs nombreuses propriétés (Kidikpouka *et al.*, 2015 ; Houmènou *et al.*, 2017). Les anthocyanes et leuco-anthocyanes ont une action antiœdémateuse, renforcent la résistance des capillaires sanguins et réduisent leur perméabilité (Bruneton, 1999). Les dérivés quinoniques sont retrouvés dans l'espèce *Olox subscorpioïdea*. Les tanins, flavonoïdes, leuco-anthocyanes et quinones sont des composés phénoliques avec des propriétés antioxydantes puissantes qui fonctionnent comme des poubelles à radicaux libres en prévenant et en réglant les dommages causés par les radicaux libres. Les antioxydants synthétisés *in situ* ou apportés grâce à un apport alimentaire peuvent être utilisés pour éliminer les radicaux libres produits au cours du métabolisme cellulaire (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010). La défense immunitaire peut être activée par

ces antioxydants, réduisant ainsi le risque de maladies dégénératives (Mpondo *et al.*, 2012). Les métabolites secondaires des végétaux les plus courants comprennent les polyterpénoïdes et les stéroïdes qui dérivent des terpénoïdes (Yamunadevi *et al.*, 2011). Ils sont retrouvés chez *Rhynchospora corymbosa* et *Olax subscorpioïdea*. Les saponosides sont des groupes hétérogènes des produits naturels retrouvés dans les extraits de *Rhynchospora corymbosa* et *Olax subscorpioïdea*. Les saponosides présentent des activités protectrices des veines et des capillaires et une activité œdémateuse avec une activité hormonale (Macheix *et al.*, 2005).

Toutefois, il faut remarquer une augmentation de l'utilisation de médicaments naturels pour traiter de nombreuses maladies. Cependant, certaines substances chimiques naturelles peuvent avoir des effets potentiellement dangereux, et la sécurité de ces substances est un sujet majeur de préoccupation pour la santé (Han *et al.*, 2020). Diverses études de toxicité précliniques, telles que les études de toxicité aiguë et la toxicité à doses répétées sont nécessaires dans le processus de développement de médicaments (Sharma & Sarkar, 2013). Effectivement, l'information sur l'innocuité des médicaments traditionnels à base de plantes consommés est vraiment cruciale pour répondre aux préoccupations de santé publique (El-Kabbaoui *et al.*, 2017). Yuet-Ping *et al.* (2013) ont proposé de documenter l'information expérimentale sur le profil d'innocuité des plantes médicinales et leurs extraits utilisés dans le développement de médicaments dans ce cadre. Par conséquent, les rapports et les données concernant les effets potentiellement nocifs des plantes médicinales sont essentiels au développement de leurs applications thérapeutiques (El-Kabbaoui *et al.*, 2017). Ainsi, le but de l'évaluation de la toxicité aiguë des extraits aqueux (DRC ou DOSA) était de mesurer et d'enregistrer les différents effets négatifs qui sont apparus après l'administration des substances testées. Les résultats de cette étude ont montré que les extraits aqueux (DRC ou DOSA) n'ont créé aucun préjudice sur le comportement et le poids des rats avec la dose unique de 2000 mg/Kg/PC. Ces résultats concordent avec les travaux de Leblanc (2010) qui ont démontré que les animaux traités avec l'extrait de *Olax subscorpioïdea* à une dose de 2000 mg/kg n'ont montré aucun changement de comportement ni de signes d'intoxication. Après l'évaluation de la toxicité aiguë, la  $DL_{50}$  est estimée supérieure à 2000 mg/Kg/PC par voie orale. Ces résultats ont confirmé aussi les travaux de certains auteurs comme Nazifi *et al.* (2015). En effet, ceux-ci ont permis d'avoir une  $DL_{50}$  estimée à 3800 mg/Kg/PC lors de l'usage des extraits méthanolique et éthanolique de feuilles de *Olax subscorpioïdea*. Cependant, la  $DL_{50}$  orale de l'extrait méthanolique de feuilles de *Olax subscorpioïdea* a été quant à elle estimée plus de 5000 mg/Kg/PC, selon Odoma

*et al.* (2014). En ce qui concerne les travaux de Victoria *et al.* (2016) sur l'extrait méthanolique de racine de *Olax subscorpioidea*, la  $DL_{50}$  est estimée est supérieure à 2154 mg/Kg/PC. Ces résultats obtenus au cours de cette étude sont en contradiction avec les travaux de Manda *et al.* (2017). En effet, ces auteurs ont montré des changements de comportements et des signes d'intoxication plus ou moins graves (apathie, somnolence, déplacement difficile des animaux pendant les 3 premières heures et émission de matières fécales humides) chez les animaux qui ont reçu les doses supérieures à 2000 mg/Kg/PC néanmoins aucun cas de mortalité n'a été enregistré par l'utilisation de la maximale de 5000 mg/Kg/PC par voie orale. Cette différence de résultat pourrait montrer que la dose 2000 mg/Kg/PC est la dose tolérable.

Selon le Système de Classification Globalement Harmonisé de l'OCDE (2001), les extraits DRC ou DOSA peuvent être classés dans la catégorie 5 et considérés comme une substance non toxique par voie orale. La valeur de  $DL_{50}$  résultant de chaque extrait aqueux d'organe de plante est supérieure à 0,1 mg/mL sur l'échelle de Mousseux (1995). Ceci signifie qu'aucune des deux drogues végétales n'affecte pas la santé des rats

Selon El-hilaly *et al.* (2004), le changement du poids est utilisé comme un indicateur général des effets indésirables des composés chimiques. Ainsi, la perte du poids est liée à l'état physiologique de l'animal et peut être expliquée, non seulement par l'anorexie (Righetti *et al.*, 2012), mais aussi par des changements dans le métabolisme des animaux (Mukinda & Syce, 2007). Les animaux traités dans ce cas présent n'ont pas été déshydratés par émission de matières fécales humides. Par ailleurs, un suivi de l'évolution pondérale des rats pendant les 28 jours de traitement avec les extraits de *Rhynchospora corymbosa* ou de *Olax subscorpioidea* n'a pas révélé de perte significative en poids ( $p < 0,05$ ). Ces résultats sont similaires à ceux de Adebayo *et al.* (2017) qui ont révélé que l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea* à 1000 mg/Kg/PC n'a aucun effet sur le poids corporel. Aussi, l'administration orale de façon répétée de l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea* aux différentes doses (250, 500, 750 et 1000 mg/Kg/PC) n'a également aucun effet sur le poids corporel des rats. Cependant, Rhiouani *et al.* (2008) et Lakmichi *et al.* (2011) ont montré l'effet délétère de l'administration orale de l'extrait de *Olax subscorpioidea* sur le poids corporel des animaux.

Les extraits aqueux (DRC ou DOSA) n'ont entraîné aucune modification significative sur l'ensemble des paramètres h hématologiques étudiés (globules blancs, globules rouges, hémoglobine, hématocrites, volume globulaire moyen, concentration corpusculaire moyenne

d'hémoglobine, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, plaquettes, neutrophiles, lymphocytes, monocytes et éosinophiles) et cela sur toutes les concentrations des traités par rapports aux rats témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de Adebayo *et al.* (2017), qui n'ont pas enregistré de modifications significative de globules rouges, de volume de cellules emballées, de volume corpusculaire moyen, de plaquettes et de concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire aux doses 250, 500 et 750 mg/Kg/PC. Cependant, ces résultats n'ont pas été confirmés par les travaux de Adebayo *et al.* (2017) avec la dose 1000 mg/Kg/PC. En effet, leurs travaux ont mise en évidence une réduction de l'hémoglobine corpusculaire moyenne, des lymphocytes, des globules blancs et de l'hémoglobine et une augmentation significative des neutrophiles lors de l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique de *Olox subscorpioïdea*. La période ou le lieu de la récolte de la plante ou encore la nature du solvant utilisé pour la réalisation de l'extraction de *Olox subscorpioïdea* pourraient expliquer cette différence.

Selon Mukinda & Syce (2007) et Li *et al.* (2010), le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles aux substances toxiques. Il représente un ensemble important de marqueurs de l'état physiologique et pathologique de l'homme et de l'animal. Tout changement dans l'un de ces paramètres hématologiques peut prédire une intoxication humaine (Olson *et al.*, 2000 ; Rhiouani *et al.*, 2008)).

Par ailleurs, Reichl (2004) affirme que le foie est responsable de la détoxification des substances naturelles. Ainsi, l'étude des fonctions hépatiques peut être utile pour évaluer les effets toxiques des plantes étudiées sur le foie. Les principales enzymes pour évaluer la fonction hépatique sont les transaminases (ALAT ou ASAT). Ces enzymes proviennent du cytoplasme et de la mitochondrie. En effet, toute nécrose cellulaire, destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes favorise l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine, ce qui entraîne une augmentation de leurs taux sériques. Ainsi, l'évaluation de différentes doses de DRC ou DOSA (400 ; 800 et 1600 mg/Kg/PC) sur la fonction hépatique a permis de voir que ces extraits aux diverses doses n'ont aucune variation significative sur les paramètres biochimiques Transaminase (TGO ou TGP) et la glycémie chez les rats traités en comparaison avec les rats témoins. Ces résultats ne sont pas corroborés par les recherches de Abiodun *et al.* (2014). Les résultats de ces derniers ont révélé une diminution significative des taux sériques d'alanine aminotransférase (ALAT) aux doses 250 et 500 mg/Kg/PC. Également une augmentation considérable de l'ALP à des doses 500, 750 et 1000

mg/Kg/PC et celle de ALAT, ASAT, ALP et du glucose à la dose de 2500 mg/Kg/PC lors de la sollicitation de l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea*. Cette différence pourrait s'expliquer par la période ou encore le lieu de la récolte ou par la nature du solvant utilisé pour la réalisation de l'extraction. Quant aux bilans rénaux, selon Timbrell, (2000) il est destiné à évaluer un éventuel dysfonctionnement rénal. Il compose en première approche quelques examens biochimiques dont l'urée, la créatinine, la protéines totales et les électrolytes. En effet, selon Wassan *et al*, (2001) et Mohsen *et al*. (2017), les valeurs de ces paramètres sont élevées en cas d'altération du mécanisme de la filtration rénale. Par conséquent, l'évaluation de diverses doses (400 ; 800 et 1600 mg/Kg/PC) des extraits aqueux (DRC ou DOSA) sur la fonction rénale a mis en évidence une variation non significative sur les paramètres tels que l'urée, la créatinine et la protéine totale des rats traités en comparaison avec les rats témoins. Ces résultats de cette étude ne sont pas en accord avec ceux de Abiodun *et al*. (2014). Effectivement ces auteurs ont révélé une augmentation de manière significative de la protéine totale à la dose de 2500 mg/Kg/PC lors de l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea*. Cette différence pourrait s'expliquer par la dose très élevée ou par la période ou le lieu de la récolte ou encore par la nature du solvant utilisé pour la réalisation de l'extraction.

Quant à l'évaluation des différentes doses des extraits aqueux (DRC ou DOSA) sur le poids relatif des organes tels que le cœur, le foie, les reins, la rate et les poumons a permis de savoir que les doses diverses extraits n'ont pas d'effet sur le poids relatif des organes utilisés. Par ailleurs, les diverses doses de DRC ou DOSA Les résultats de cette étude sont similaires aux travaux de Adebayo *et al*. (2017) et Abiodun *et al*. (2014). Ces auteurs ont révélé que le poids relatif des organes utilisés n'est pas affecté par l'administration orale subaiguë l'administration orale subaiguë de l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea* à différentes doses (250 à 2500 mg/Kg/PC). Par ailleurs, les diverses doses des extraits aqueux (DRC ou DOSA) ont été sans effet sur la texture du foie et des reins. Les résultats obtenus confirment les conclusions de Abiodun *et al*. (2014). Pour eux, l'extrait hydroéthanolique de *Olax subscorpioidea* il n'y a eu aucun changement histopathologique sur le foie et les reins à toutes les doses utilisées (250 ; 500 ; 500 ; 750 ; 1000 et 2500 mg/Kg/PC). Ces résultats confirment également les travaux de Adebayo *et al*. (2014) car ils ont signalé un manque d'hépatotoxicité et de toxicité rénale de l'extrait éthanolique de *Olax subscorpioidea*.

La falciformation est la déformation morphologique des globules rouges qui est une conséquence directe de la gélification. Ainsi, il est remarqué une inhibition de la falciformation des globules rouges à la même dose et dans le même temps pour divers produits utilisés avec un meilleur pourcentage pour le DOSA. Ce qui n'est pas le cas de l'usage de la métabisulfite de sodium. Cette étude prouverait que DRC et DOSA auraient une activité sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges du sang de génotype SS surtout à 0,312 mg/mL.

Cette activité de ces extraits aqueux (DRC ou DOSA) serait liée à leurs compositions chimiques. En effet, selon Gbénou *et al.* (2011) les flavonoïdes sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation sanguine. Selon Adedapo *et al.* (2013), les flavonoïdes inhibent la tendance des cellules sanguines de petite taille ou plaquettes à se regrouper et à former des caillots sanguins (Adedapo *et al.*, 2013). Tout comme les différents travaux de Mpiana *et al.* (2007 ; 2008 ; 2009 et 2010) ont aussi démontrés que l'activité antifalcémiant de la majorité des plantes médicinales Congolaises était attribuée aux flavonoïdes. En outre, Aherne *et al.* (1999) et Railson *et al.* (2013) ont démontré que les flavonoïdes tels que la myricétine, la quercétine et la rutine protègent espèces d'oxygène réactives produites lors de la drépanocytose. De plus, selon Ghosh *et al.* (2009) déclarent que les flavonoïdes améliorent la fonction endothéliale en permettant l'activation de la synthèse de l'oxyde nitrique qui est un vasoréaxant. Par conséquent, ils jouent un rôle important dans le traitement de crises vaso-occlusives. La vasoréaxation améliore la circulation sanguine, empêche la survenue de crises vaso-occlusives. Selon Gbolo *et al.* (2017), les flavonoïdes ont aussi la capacité de réhydrater les globules rouges falciformes et donc d'empêcher l'augmentation de la concentration intracellulaire en Hb SS. Quant aux anthocyanes, ils interviennent dans la normalisation des érythrocytes grâce à leur action sur l'augmentation du temps de latence, qui deviendrait supérieur au temps de passage dans les capillaires (Kasonga, 2011).

Par contre, les extraits aqueux (DRC ou DOSA) aux différentes concentrations (0,625; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) entraînent une hémolyse des globules rouges à 120 min. Les résultats de ces travaux sont similaires à ceux de Houmènou *et al.* (2017) et de Soro *et al.* (2021). Soro *et al.* (2021) ont travaillé sur les extraits aqueux (DRC et DOSA) et ont montré que ces extraits provoquaient une hémolyse des globules rouges à toutes concentrations supérieures à 0,312 mg/mL. Les travaux de Houmènou *et al.* (2017) réalisés à partir de l'extrait éthanolique de *Olox subscorpioïdea* sur les larves de crevette, *Artemia salina* a permis de mettre en évidence des effets

de létal sur ceux aux concentrations supérieures à 0,469 mg/mL. En fait, la diminution du taux de globules rouges par hémolyse révèle que les extraits des plantes (*Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea*) peuvent contenir des composés phytochimiques nocifs. Selon Itodo *et al.* (2011), les saponines sont reconnues très toxiques lorsqu'ils sont injectés dans la circulation sanguine et peuvent provoquer une hémolyse des globules rouges et éventuellement détruire les cellules. Cette baisse pourrait être aussi liée à une possible présence dans ces extraits de l'hémolysine, substance saponoside à effet hémolytique (Yuldasheva *et al.*, 2005).

Par ailleurs, ce qui concerne l'activité inhibitrice de la polymérisation des hémoglobines des extraits (DRC ou DOSA), l'analyse des résultats schématisés sous forme de courbes d'activité a montré que toutes les courbes d'activité des extraits aqueux DRC ou DOSA aux différentes concentrations (0,3125 ; 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/mL) dans les tubes contenant le métabisulfite de sodium et l'hémolysât sont décroissantes et en dessous de la courbe des tubes contenant uniquement de l'eau distillée et l'hémolysât. Les pourcentages d'inhibition de la polymérisation des hémoglobines par l'extrait DOSA sont meilleurs par rapport aux pourcentages d'inhibition de la polymérisation de DRC. Cette différence d'activité serait justifiée par la présence des flavonoïdes et les anthocyanes dans l'extrait DOSA et leur absence dans le DRC. En effet, selon Mpiana *et al.* (2010), les flavonoïdes sont impliqués dans l'inhibition des effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène produites lors de de la drépanocytose. Les flavonoïdes totaux ont la capacité d'améliorer l'hydratation des globules rouges en facilitant la réduction de la concentration intra-érythrocytaire d'HbS, prolongeant ainsi le temps de retard de la polymérisation de l'Hb S (Nanfack *et al.*, 2013 ; Richard *et al.*, 2014 ; Baraka *et al.*, 2018). Quant aux anthocyanes, il a été récemment démontré que ces derniers réduisent non seulement la polymérisation de l'HbS en inhibant la polymérisation par la réhydratation cellulaire avec l'action éventuelle sur le canal Gardos, le cotransport (K-Cl) ainsi que la pompe Na-K ou par leur interaction directe avec la molécule d'HbS (Mpiana *et al.*, 2008). Elles agissent également aussi en stabilisant la membrane des érythrocytes (Mpiana *et al.*, 2010 ; Ngbolua, 2012). Mehanna (2002) a aussi montré que les anthocyanes ont la capacité d'interagir avec les protéines. Leur possible interaction avec l'hémoglobine S entre en compétition avec la polymérisation de cette hémoglobine et empêche ainsi la polymérisation des globules rouges. De façon générale, il ressort de ces résultats que tous les extraits aqueux étudiés DRC ou DOSA à différentes concentrations ont une activité sur

l'inhibition *in vitro* de la polymérisation des hémoglobines SS et de la falciformation des globules rouges en fonction de la concentration et du temps.

Le changement du poids est utilisé en tant qu'un indicateur général des effets indésirables des composés chimiques (El-hilaly *et al.*, 2004). De ce fait, la perte de poids est liée au fonctionnement physiologique de l'animal et peut être expliquée non seulement par l'anorexie mais aussi par l'altération du métabolisme des animaux (Mukinda & Syce, 2007 ; Righetti *et al.*, 2012).

Par conséquent, l'administration de la phénylhydrazine (PHZ) pourrait obéir à cette assertion car elle a provoqué une perte de poids aux rats au jour 2. Tous les rats traités ont eu une croissance progressive durant toute l'expérimentation. Ce constat pourrait attester que les extraits aqueux (DRC ou DOSA) ont un effet positif sur la croissance des rats. L'extrait aqueux DOSA a agi de manière dose-réponse car l'augmentation du poids moyen est proportionnelle à celle de la dose. La meilleure croissance a été observée chez les rats traités l'extrait aqueux DOSA à la dose 800 mg/Kg/PC. Il existe donc une relation dose réponse entre les extraits de ces espèces de plantes et le GMQ. Ces extraits aqueux (DRC ou DOSA) sont bénéfiques sur l'évolution pondérale des rats. L'administration de la phénylhydrazine (PHZ) a provoqué un stress oxydatif par production des radicaux libres, engendrant ainsi une peroxydation lipidique qui induit la lyse des globules rouges. La diminution de l'hémoglobine indiquait la présence d'une anémie qui a été provoquée par une action de la PHZ sur l'hémolyse des globules rouges (Hariri *et al.*, 2011). Cependant, cette l'anémie induite par la PHZ est réversible. En effet, après le traitement avec les extraits aqueux (DRC ou DOSA) aux concentrations de 200, 400 et de 800 mg/kg/P.C, une restauration du taux d'hémoglobine, du nombre de globules rouges et de la déformabilité des érythrocytes à la normale a été observé par rapport aux rats qui n'ont pas reçu la phénylhydrazine. Autrement dit, la PHZ ne détruit pas la cellule souche de production des cellules sanguines (Berger, 2007). L'extrait de DRC à la dose 800 mg/Kg/PC a permis d'avoir un taux d'hémoglobine ( $14,66 \pm 0,16$  %) semblable à celui de l'acide folique ( $14,96 \pm 0,57$  %), il n'existe donc pas de différence significative ( $P > 0,05$ ). Le fait que le taux d'hémoglobine qui est le paramètre clé lié à l'anémie augmente tout au long du test signifierait que les décoctés de *R. corymbosa* et de *Olox subscorpioïdea* possèdent un effet antianémique.

L'activité antianémique pourrait être attribuée en partie aux constituants phytochimiques présents dans les décoctés de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olox subscorpioïdea* qui pourraient stimuler l'érythropoïèse dans la moelle osseuse. En effet, selon Falcone *et al.* (1997), les saponines,

les flavonoïdes et les alcaloïdes ont montré des propriétés antianémiques. Les résultats obtenus sont confirmés par ceux de Yenon *et al.* (2015) qui ont montré que l'activité antianémique des écorces de *Entandrophragma angolense* était liée à la présence de ces composés. Ce résultat pourrait être dû à la présence d'alcaloïdes et des flavonoïdes dans les extraits aqueux DRC ou DOSA puisque ces composés sont de antioxydants puissants qui protègent ou restaurent les globules rouges des dommages causés par les radicaux libres ou les espèces de l'oxygène hautement réactives (Ogbe & Adoga, 2010). Turaaskar (2013) a signalé que la plupart des composés antianémiques sont connus pour leur activité de piégeage des radicaux libres qui inverse les conditions anémiques. Ainsi, la différence entre les activités des deux extraits aqueux pourrait être due au fait qu'ils n'ont pas de composés phytochimiques similaires (Saravanan & Manokaran, 2012).

Après l'injection de la phényldrazine, une augmentation significative du taux de globules blancs a été observée chez tous les rats ayant reçu la phényldrazine par rapport au témoin sain. En outre, l'élévation du taux des globules blancs chez les rats traités a indiqué directement un renforcement du système immunitaire (Hariri *et al.*, 2011). Cela suggérait que les substances bioactives présentes dans les extraits aqueux (DRC ou DOSA) ont le pouvoir d'amplifier la réponse immunitaire en augmentant le taux de globules blancs qui est le premier niveau défensif de l'organisme (Atsamo *et al.*, 2011). Dans une étude similaire menée par Iweala & Obidoa (2009), ils ont observé que la présence de phytostérols et flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Gompholobium latifolium* pourrait éventuellement interférer avec le processus de synthèse des globules blancs.

La falciformation apparaît au pôle veineux du capillaire et provoque un microthrombus qui génère une réaction inflammatoire à l'origine de la douleur. Les extraits aqueux (DRC ou DOSA) ont montré une activité antiinflammatoire intéressante avec des pourcentages d'inhibition de la douleur respectivement de  $37,00 \pm 0,12$  % et  $55,00 \pm ,24$  % à la dose 800 mg/kg/pc. L'extrait (DOSA) a donné le meilleur résultat avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème à  $55 \pm 0,24$  % à la dose 800 mg/Kg/PC. Cette activité pourrait être liée aux composants chimiques de ces extraits. En effet, les composés phénoliques tels que les tanins cathéchiques sont connus pour leurs propriétés antioxydantes (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010). Ces antioxydants pourraient ainsi activer la défense immunitaire et protéger les érythrocytes contre l'oxydation des protéines et la peroxydation lipidique membranaires (Mpondo *et al.*, 2012). Quant aux saponosides, ils présentent des activités

protectrices des veines et des capillaires, et une activité œdémateuse avec une activité hormonale (Macheix *et al.*, 2005).

Tandis que les alcaloïdes ont une activité directe sur le corps, en réduisant les spasmes et en soulageant la douleur (Hoffman, 2003). Tout comme les flavonoïdes possèdent également des propriétés antiinflammatoires (Park *et al.*, 2008). La présence des tanins justifierait les potentialités des extraits aqueux (DRC ou DOSA) pour les activités anti inflammatoires (Praven & Kumud, 2012). En ce qui concerne les anthocyanes et leuco-anthocyanes, ils ont une action œdémateuse, diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance (Bruneton, 1999). Ainsi, ce qui concerne l'extrait aqueux DOSA, l'importance de son activité antiinflammatoire serait liée à sa composition en alcaloïdes, tanins catéchiques, stérols, polyterpéniques, en saponines, en polyphénols, en flavonoïdes et en leuco-anthocyanes. Les résultats de nos études sont en contradiction avec ceux de Ishola *et al.* (2015). Effectivement, ces auteurs ont montré que l'extrait aqueux de feuilles de *Olox subscorpioidea* a produit un effet inhibiteur maximal significatif de l'inflammation (85,30 %) à 400 mg/Kg/PC. Cette valeur (85,30 %) est très supérieure aux valeurs 43,30 % et 55,30 % que nous avons obtenus respectivement avec les doses 400 et 800 mg/kg/PC. Cette différence pourrait s'expliquer par la présence des anthraquinones (dérivée des quinones) dans cette étude que Ishola *et al.* (2015) ont trouvé dans l'extrait aqueux de feuilles de *Olox subscorpioidea*. Les travaux El-Mezayen *et al.* (2006) ont permis de montrer que la thymoquinone (dérivée des quinones) permet de jouer un effet antiinflammatoire par l'inhibition de certaines protéines (l'expression de COX-1 et PGE2, protéines impliquées dans l'inflammation). Ces dérivées des quinones seraient responsables d'une activité inhibitrice importante de l'inflammation.

Il faut aussi souligner l'absence des polyphénols, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes et les quinones dans l'extrait DRC. Tout comme les quinones sont aussi absentes dans le DOSA. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle pour la prise en charge des troubles inflammatoires. Les extraits aqueux (DRC ou DOSA) ont montré une réduction significative et dose-dépendante du nombre de torsions abdominales et une réduction des réponses à la douleur. Leurs activités sont liées à leur composition en métabolites secondaires. En effet, selon Okwu *et al.* (2007) les alcaloïdes ont plusieurs propriétés biologiques. De même, selon Badiaga (2011) les alcaloïdes sont très prisés en raison de leur large spectre d'activités analgésiques antalgiques. Les stéroïdes sont aussi connus pour leurs propriétés analgésiques.

Il faut noter que l'extrait (DOSA) a enregistré le meilleur résultat avec un pourcentage d'inhibition du nombre de contorsions de  $56,88 \pm 22,57$  % à la dose 800 mg/Kg/PC.

Les résultats de ces travaux ont été confirmés par ceux de certains auteurs comme Sánchez-Mateo *et al.* (2006) et Adeoluwa *et al.* (2014). Adeoluwa *et al.* (2014) ont montré que l'extrait éthanolique de *Olax subscorpioidea* à une réduction significative et dose-dépendante sur le nombre de torsions abdominales et une réduction des réponses à la douleur. Sánchez-Mateo *et al.* (2006) suggèrent une activité analgésique périphérique de l'extrait de *Olax subscorpioidea*. Par contre, les résultats de cette étude sont en opposition avec ceux de Ishola *et al.* (2015) car ils ont trouvé un pourcentage d'inhibition du nombre de contorsions très élevées (68,28 %) avec l'extrait aqueux de *Olax subscorpioidea* à 50 mg/Kg/PC par rapport à la valeur  $56,88 \pm 22,57$  % de la dose 800 mg/Kg/PC de cette étude. Cette différence pourrait s'expliquer par la présence de anthraquinones (quinone) dans l'extrait aqueux de feuilles de *Olax subscorpioidea* sollicité par Ishola (2015). Ces résultats ont validé l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle pour la gestion de la douleur. L'utilisation des décoctés de *R. corymbosa* et de *Olax subscorpioidea* en milieu traditionnel dans la prise en charge de la drépanocytose serait donc justifiée.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Les extraits de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* obtenus par décoction et utilisés au cours de cette étude sont riches dans divers grands groupes chimiques. Ainsi, DRC issu de *Rhynchospora corymbosa* est caractérisé par la présence des alcaloïdes, des tanins catéchiques, des stérols, des polyterpéniques et des saponines. Tandis que DOSA issu de *Olax subscorpioïdea* se distingue par la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de leuco-anthocyanes, de alcaloïdes, de saponines, de polyterpéniques et de stéroïdes.

Les études menées sur la toxicité a permis de révéler que sur l'ensemble des résultats que l'administration par voie orale de la dose unique de 2000 mg/Kg/ PC n'a eu aucun préjudice sur les rats. Par conséquent, DL<sub>50</sub> est donc supposée être supérieur à 2000 mg/Kg/ PC. Aussi, une administration par voie orale des extraits (DRC ou DOSA) aux rats de doses répétées de 400 ; 800 et 1600 mg/Kg/PC de chaque extrait a été bien toléré et n'a eu aucun dommage sur les organes, leurs paramètres biochimiques et hématologiques leurs poids corporels comparativement aux témoins normaux.

Les groupes chimiques présents dans les extraits DRC ou DOSA seraient sollicités dans le traitement de la drépanocytose grâce aux propriétés anti-drépanocytaire, antioxydante et antifalcémiant. A la concentration de 0,31 mg/mL, les extraits DRC ou DOSA ont obtenu un pourcentage d'inhibition de la falciformation de 80 et 84 % respectivement à 120 minutes. Tous les deux extraits ont démontré une activité sur l'inhibition de la falciformation *in vitro* des globules rouges d'un sang humain HbSS. Quant à l'activité de l'inhibition de la polymérisation, elle a révélé que ces groupes chimiques auraient une action sur son inhibition. En effet, à la concentration de 0,31 mg/mL, les extraits de DRC ou DOSA ont obtenu un pourcentage d'inhibition de la polymérisation de 64 et de 5,69 % à 240 secondes respectivement. Par conséquent, aux faibles concentrations (0,31 mg/mL) de ces extraits les résultats obtenus sont excellents contrairement à leur élévation qui provoque la lyse des cellules sanguines.

Au niveau de l'activité antianémique, il ressort que les groupes chimiques présents dans les extraits DRC ou DOSA auraient des effets. Effectivement, les extraits DRC ou DOSA aux doses 200 ;400 et 800 mg/Kg/PC ont corrigé l'anémie induite aux rats par l'injection de la phénylhydrazine. De ces deux extraits (DRC ou DOSA), le DOSA à la dose 800 mg/Kg/PC présente les meilleurs résultats.

Quant à l'activité antiinflammatoire et analgésique, elle a permis de révéler que les groupes chimiques présents dans les extraits DRC ou DOSA auraient des effets. En fait, le pourcentage

d'inhibition des œdèmes obtenu pour l'activité antiinflammatoire a augmenté progressivement durant la période de l'expérimentation avec un meilleur résultat pour les extraits DOSA à la dose 800 mg/Kg/PC ( $55 \pm 0,24$  %). Alors que pour l'activité analgésique, il est de  $56,88 \pm 22,57$  % en comparaison avec le témoin positif (paracétamol) qui est de  $52,20 \pm 25,04$  %. Ainsi, il est possible de dire que l'extrait DOSA a eu un bon résultat pendant tous les tests effectués. Confirment donc l'utilisation de *Rhynchospora corymbosa* (DRC) et d'*Olax subscorpioïdea* (DOSA) pour la prise en charge de la drépanocytose dans le Nord de la Côte d'Ivoire.

A la suite de cette étude, il serait souhaitable de :

- étudier la toxicité cellulaire de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* ;
- identifier, isoler et caractériser le(s) principe(s) actif(s) responsable(s) des différentes activités anti-drépanocytaires ;
- formuler une farine infantile à base de ces plantes pour les enfants drépanocytaires ;
- proposer une formulation de médicament traditionnellement amélioré ;
- étudier le mécanisme d'action du ou de ces principes actifs.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abboud M., Laver J. & Blau C.A. (1998). **J2** causing sickle-cell crisis. *Lancet London England*, 28;351(9107): 959 p.
- Abiodun H.A., Oluwatobi S.A., Joseph A.O.O., Oyetomiwa O.F. & Kenechukwu B.O. (2014). Toxicological evaluation of extract of *Olox subscorpioidea* on albino Wistar rats. *African Journal Pharm Pharmacol*, 8(21): 570-578.
- Adams R.J., Kutlar A., McKie V., Carl E., Nichols F.T. & Liu J.C. (1994). Alpha thalassemia and stroke risk in sickle cell anemia. *American Journal of Hematology*, 5(4): 279-282.
- Adebayo A.H., Ashano E.E., Yakubu O.F. & Okubena O. (2017). Pro-inflammatory and toxicological evaluation of Hepacare Ò in mice. *Journal Taibah University Medical Sciences*, 12(4): 313-323.
- Adedapo A., Adewuyi T. & Sofidiya M. (2013). Phytochemistry, anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous leaf extract of *Lagenaria breviflora* (Cucurbitaceae) in laboratory animals. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 61(1): 281-290.
- Adegbite O.S., Akinsanya Y.I., Kukoyi A.J., Iyanda-Joel W.O., Daniel O.O. & Adebayo A.H. (2015). Induction of rat hepatic mitochondrial membrane permeability transition pore opening by leaf extract of *Olox subscorpioidea*. *Pharmacognosy Research*, 7(1): 63-68.
- Adeoluwa O.A., Aderibigbe A.O. & Agu G.O. (2016). Pharmacological evaluation of central nervous system effects of ethanol leaf extract of *Olox subscorpioidea* in experimental animals. *Drug Research*, 66(4): 203-210.
- Adeoluwa O.A., Aderibigbe A.O. & Olonode E.T. (2014). Antinociceptive property of *Olox subscorpioidea* Oliv (Olacaceae) extract in mice. *Journal Ethnopharmacol*, 156: 353-357.
- Agunu A., Yusuf S., Andrew G.O., Zezi, A.U. & Abdulrahman E.M. (2005). Evaluation of five medicinal plants used in diarrhoea treatment in Nigeria. *Ethnopharmacological journal*, 101(1-3): 27-30.
- Aherne S.A. O'Brien N.M. (1999). Protection by flavonoids Myricetin, Quercetin and Rutin against Hydrogen peroxide induced DNA damage in Caco-2 and Hep G2 cell. *Nutrition and Cancer*, 34(2): 160-166.
- Ahmad M.H., Jatau A.I., Alshargi O.Y., Julde S.M., Mohammed M., Muhammad S., Mustapha S., Bala A.A., Wada A.S., Aminu M. and Usman A.M. (2021). Ethnopharmacological uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Olox subscorpioidea* Oliv (Olacaceae): a review, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7:115 p.

- Alkurd A., Hamed T.R. & Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4 : 265 - 274.
- Aniszewski T. (2015). Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and applications. *Elsevier masson*, 23(524) : 469-622.
- Anne J.B. (2017). Drépanocytose : premier succès d'une thérapie génique. Press, Lepoint, 03/03/2017, Paris (France), 2 p.
- Anupana A.S. (2012). Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Tamarindus indica* Seeds. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(3) : 213-217.
- Arimura G., Ozawa R., Shimoda T., Nishioka T., Boland W. & Takabayashi J. (2000). Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 406(6795) : 512-515.
- Aslan M., Ryan T.M., Adler B., Townes T.M., Parks D.A. & Thompson J.A. (2001). (Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States America*, 15215-15220.
- Atsamo A. D., Nguielefack T. B., Datté J. Y. & Kamanyi A. (2011). Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 697-702.
- Aubry P. & Gaüzère B. A. (2019). Hémoglobinoses, Centre René Labusquière. *Institut de Médecine Tropicale*, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France, 14 p.
- Ayad R. (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister, Spécialité : Chimie Organique, université Mentouri Constantine, Algérie, 40, 35-39.
- Ayandele A. & Adebisi A. (2006). The phytochemical analysis and antimicrobial screening of extracts of *Olox subscorpioidea*, Department of Pure and Applied Biology, LAUTECH, P.M.B 4000 Ogbomoso, Oyo State Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 6(7): 868-870.
- Ayandele A.A. & Adebisi A.O. (2007). The phytochemical analysis and antimicrobial screening of extracts of *Olox subscorpioidea*. *African Journal of Biotechnology*, 6(7): 868-870.
- Ayoola M.D., Adebajo A.C., Obuotor T.O. & Fleischer T. (2017). Antihyperglycaemic and antioxidant activities of Nigerian antidiabetic plants. *Journal of Sciences and Technology*, 37(2) : 71-84.

- Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences et Techniques, Mention : Chimie Organique, Université de Bamako, Mali, 136 p.
- Bahorun T. (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council , 83-94.
- Ballas S.K., Lieff S., Benjamin L.J., Dampier C.D., Heeney M.M. & Hoppe C. (2010). Definitions of the phenotypic manifestations of sickle cell disease. *American Journal of Hematology*, 85(1): 6-13.
- Banerjee T. & Kuypers F.A. (2004). Reactive oxygen species and phosphatidylserine externalization in murine sickle red cells. *British Journal Haematology*, 124(3): 391-402.
- Beauvais P. (1993). La drépanocytose. *Revue médicale*, 6 : 184-202.
- Békro Y.A., Janat A., Békro M., Boua B.B., Fézan H., TRA BI & Ehouan E.E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herendeen et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, 4 (2) : 217 - 225
- Belcher J.D., Beckman J.D., Balla G., Balla J. & Vercellotti G. (2010). Heme degradation and vascular injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, (2): 233-248.
- Benaissa O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Thèse de Doctorat, Spécialité : Activité Biologique, université Mentouri Constantine, Algérie, 63 p.
- Berger J. (2007). Hématotoxicité de la phénylhydrazine. *Journal Applique of Biomedical*, 5(2): 125-130.
- Beucher G., Grossetti E., Simonet T., Leporrier M. & Dreyfus M. (2011). Anémie par carence martiale et grossesse. Prévention et traitement. *Journal of Gynecology and Obstetrics & Biology of Reproduction*, 40(3): 185-200.
- Beyeme O & Chiabi B. (2004) A. Physiopathologie et clinique de la drépanocytose chez l'enfant. *Clinics in Mother and Child Health*, 1 (1): 37-42.
- Bla K., Trébissou J. et Bidié A. (2015). Étude ethnopharmacologique des plantes antipaludiques utilisées chez les Baoulé- N'Gban de Toumodi dans le Centre de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 85 : 7775-7783.

- Boafor T.K., Olayemi E., Galadanci N., Hayfron-Benjamin C., Dei-Adomakoh Y., Segbefia C., Kassim A.A., Galadanci H., Tuuli M.G., Rodeghier M., De-Baun M.R. and Oppong S.A. (2016). Pregnancy outcomes in women with sickle-cell disease in low and high income countries: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 123(5) : 691–8.
- Boulanger T. (2017). Pharmacologie : anti-inflammatoire. s.l.: IFSI, 4-6.
- Brüll V., Burak C. & Stoffel-Wagner B. (2015). Effets d'un extrait de peau d'oignon riche en quercétine sur la pression artérielle ambulatoire de 24 h et la fonction endothéliale chez les patients en surpoids ou obèses souffrant de (pré-) hypertension : un essai croisé randomisé en double aveugle contrôlé par placebo. *British Journal Nutrition*, 114 : 1263-1277.
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales. Revue et augmentée, Paris, Tec & Doc Éditions médicales internationales, Paris, France, 1288 p.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4e édition, TEC & DOC, Paris, France, 1269 p.
- Bunn H.F. (1997). Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 337(11): 762-769.
- Burkill H. M. (1985). The Useful Plants of West Tropical Africa. 2nd edition, Royal Botanic Gardens, Kew, volume 1 (Families A-D), 353-354.
- Cantrell C.L., Berhow M.A., Phillips B.S., Duval S.M., Weisleder D. & Vaughn S.F. (2003). Bioactive crude plant seed extracts from the NCAUR oilseed repository. *Phytomedicine*, 10(4): 325-333.
- Castro O., Brambilla D.J., Thorington B., Reindorf C.A., Scott R.B. & Gillette P. (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.
- Cazaux J. (2002). Etude de plantes riches en tannins et de leur activité antihelminthique sur les parasites intestinaux de la chèvre. Mémoire de stage de DEA Agro-ressources, option Elaboration, Université Paul Sabatier, Toulouse (France), 53 p.
- Collier H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A. and Scheider C. (1968). The abdominal contraction response and its suppression by antinociceptive drugs in the mouse. *British journal of pharmacology and chemotherapy*, 32 : 295-310.

- Cordier A.G. (2019). Impact de la drépanocytose sur les fonctions et le développement placentaires. Thèse de Doctorat, Spécialité : Bio Sorbone Paris Cité, Laboratoire UMR-S 1139 Physiopathologie et Pharmacotoxicologie Placentaire Humaine (3PHM) Microbiote Pré et Post natal, Université Paris Descartes, Paris, France, 50 p.
- Costa-Silva J.H., Lima C.R., Silva E.J.R., Araujo A.V., Fraga M.C.C.A., Ribeiro A., Arruda A.C., Lafayette S.S.L. & Wanderley A.G. (2008). Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliceae) seed oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 495-500.
- Da-Silva R.L.B., Dias Elias D.B., Barbosa M.C., Bandeira I.C.J. & Gonçalves R.P. (2012). DNA damage in leukocytes of sickle cell anemia patients is associated with hydroxyurea therapy and with HBB\*S haplotype. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 749(1–2): 48-52.
- De Benoist B., McLean E., Egli I. & Gogswell M. (2008). Worldwide prevalence of anemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia, WHO, 17 p.
- De-Montalembert M. (2018). [Stimulation of fetal hemoglobin production in children with sickle cell anemia]. *Archive Pédiatrie de l'Organisation Française des Pédiatres Officiel et Société*, 3(3): 207-209.
- Devkota K.P. & Sewald N. (2013). Terpenoid alkaloids derived by amination reaction. *Natural products*, Springer, Berlin (Allemagne), 923-951.
- Dupont C. (2017). Prévalence carence en fer. *Elsevier*, 24 : 45-48.
- Dzoyem J.P., Tchuenguem R.T., Kuate J.R., Teke G.N., Kechia F.A. & Kuete V. (2014). *In Vitro* and *In Vivo* antifungal activities of selected Cameroonian dietary spices. *Biology Molecular and Cellular of complementary and alternative medicine*, 14(1): 58 p.
- Eber S., & Lux S.E. (2004). Hereditary spherocytosis-defects in proteins that connect the membrane skeleton to the lipid bilayer. *Seminars in Hematology*, 41, 118–141.
- Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Bahramian F. & Bekhradnia A.R. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. Officinalis L. Var Angustifolius*, *V. Odorata*, *B. hyrcana* and *C. Speciosum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23 (1): 29-34.
- El hilaly J., Israili Z.H. & Lyoussi B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91 : 43-50.

- Elion J., Laurence S. & Lapoumériou C. (2010). Physiopathologie de la drépanocytose. *Médecine. Tropical*, 70: 454-458.
- El-Kabbaoui M., Chda A., El-Akhal J., Azdad O., Mejrhit N., Aarab L., Bencheikh R. & Tazi A. (2017). Acute and sub-chronic toxicity studies of the aqueous extract from leaves of *Cistus ladaniferus* L. in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 209: 147-156.
- Elliott L., Ashley-Koch A.E., De Castro L., Jonassaint J., Price J. & Ataga K.I. (2007). Genetic polymorphisms associated with priapism in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, (3): 262–267.
- El-Mezayen R., EL Gazzar M., Nicolls M.R., Marecki J.C., Dreskin S.C. & Nomiyama H. (2006). Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation. *Immunology* ; 106(1) : 72-81.
- Embury S.H. (1994). Editor Sickle cell disease: basic principles and clinical practice. *Raven Press*, New York, United States of America, 902 p.
- Emmel V.E. (1933). A red cell study of the erythrocytes in case of severe anemia with elongated and sickle and shape dred blood corpuscule. *Archives of Internal Medicine*, 7: 769-789.
- Ezeani N.N., Ibiam U.A., Orji O.U., Igwenyi I.O., Alope C., Alum E., Aja P.M. & Ugwu O.P.C. (2019). Effects of aqueous and ethanol root extracts of *Olox subscopioidea* on inflammatory parameters in complete Freund's adjuvantcollagen type II induced arthritic albino rats. *Pharmacognosics Journal*, 11(1): 16-25.
- Falcone A., Musto P., Rasario P. & Rosella M. (1997). Compounds and Methods for treatment of chemotherapy-induced Anemia. *European Journal of Haematology*, 58 : 34-39.
- Fankam J.M., Kuete A.G., Voukeng V. & Pages I.K. (2011). Antibacterial activities of selected Cameroonian plants and their synergistic effects with antibiotics against bacteria expressing MDR phenotypes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medecine*, 11(104): 1-11.
- FAO. (2013). La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture en 2013 : mettre les systèmes alimentaires au service d'une meilleure nutrition. Rome, Italie, 114 p.
- Fauroux B. (2000). Respiratory distress and drepanocytosis. *Archive Pediatrie de l'Organisation Francaise des Pediatres Official et Société*, 1: 82S-86S.

- Fleuriet A. & Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR)* : Lausanne, Suisse, 221 p.
- Fossati P., Principe L. & Berti G. (1983). Enzymatic Creatinine Assay : A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *In Clinical Chemistry*. 25: 1494-1496.
- Frenette P.S. (2004). Sick cell vasoocclusion: heterotypic, multicellular aggregations driven by leukocyte adhesion. *Microcirculation New York New*, (2): 167-177.
- Friewald W.T., Levy R.I. & Fredrickson D.S. (1972). Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma without the use of Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18: 499-502.
- Galbraith D. A. & Watts D. C. (1980). Changes in some cytoplasmic enzymes from red cells fractionated into age groups by centrifugation in Ficoll™/Triosil™ gradients: Comparison of normal human and patients with Duchenne muscular dystrophy. *Biochemistry Journal*, 191: 63-70.
- Garandi B., Fankam A.G., Nayim P., Wamba B.E.N., Mbaveng A.T. & Kuete V. (2018). Anti-staphylococcal activity and antibiotic-modulating effect of *Olox subscorpioidea*, *Piper guineense*, *Scorodophloeus zenkeri*, *Fagara leprieurii*, and *Monodora myristica* against resistant phenotypes. *Investigational Medicinal Chemistry and Pharmacology*, 1(2): 1-10.
- Gaubert C., 2018. inflammation. *sciences et avenir* , 1 p.
- Gbadamosi I.T., Raji L.A., Oyagbemi A.A. & Omobowale T.O. (2017). Hypolipidemic effects of *Olox subscorpioidea oliv.* root extract in experimental rat model. *African Journal Biomedical Research*, 20(3): 293-299.
- Gbénou J. D., Ahounou J.F., Ladouni P., Agbodjogbe W.K.D.D., Tossou R. & Dansou P. (2011). Propriétés anti-Inflammatoires des extraits aqueux de *Sterculia Setigera delile* et du mélange *Aframomum Melegueta* K. Schum – *Citrus Aurantifolia* Christm et *Panzer*. *International Journal of Biological and Chemmical Sciences*, 5(2) : 634-641.
- Gbolo Z.B., Tshibangu S.T.D., Asambo L., Bongo G., Kasali M.F. & Feza V. (2017). Sick Cell Anemia Therapeutic Approach Based on Drepanoalpha®: About 34 Sick Cell Anemia Therapeutic Approach Based on Drepanoalpha®: About 34 Cases. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*. 4(2): 1–8.

- Gbolo Z.B., Tshibangu S.T.D., Memvanga B.P., Bongo N.G., Kasali M.F. & Ngbolua K.N. (2017). Assessment of the Efficacy and Tolerance of Drepanoalpa® in the Management of Sickle Cell Disease in Kinshasa (DR Congo): About Ten Cases. *International Journal Medical Pharmaceutique Case Reports*, 9(2):1–10.
- Ghosh S., Adisa O.A., Chappa P., Tan F., Jackson K.A., Archer D.R. and Ofori-Acquah S.F. (2013). Extracellular hemin crisis triggers acute chest syndrome in sickle mice. *Journal of Clinical Investigation*, 123(11): 4809-4820.
- Giroit R., Bégué P.A. & Galacteros F. (2003). La drépanocytose. Editions John Libbey, Eurotext, Montrouge, Paris, France, 319 p.
- Gladwin M.T. & Vichinsky E. (2008). Pulmonary complications of sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 359(21): 2254-2265.
- Gnagne A.S., Camara D., Fofié N.B.Y., Béné K. & Zirihi G.N. (2017). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans le Département de Zouénoula (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 113: 11257-11266
- Grigg A.P. (2001). Granulocyte colony-stimulating factor-induced sickle cell crisis and multiorgan dysfunction in a patient with compound heterozygous sickle cell/beta+ thalassemia. *Blood* ;97(12): 3998-3999.
- Habibi A., Godeau B. & Galacteros F. (2007). Unité des maladies génétiques du globule rouge médecine interne. *Hôpital henri-mondor, aphp, 94000, Elsevier Masson*, créteil, France, 311-317.
- Hage D.S. (2013). Reference module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. *Open Acces Journal*, 4(1) : 142-167.
- Han C.T., Kim D.Y., Nam C., Moon S.H., Park S.H., Han K.G., Lee H.Y., Bae H.M., Park C.B., So J.H., Kang S. & Kang J.K. (2020). Acute and 13-week subchronic toxicity studies of hot-water extract of *Cynanchi wilfordii* Radix in Sprague-Dawley rats. *Toxicology Research*, 36(1): 89-98.
- Hariri A.T. Moallem S.A., Mahmoudi M. & Hosseinzadeh H. (2011). The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*, 18: 499-504

- Hassoun H., Vassiliadis J.N., Murray J., Njolstad P.R., Rogus J.J., Ballas S.K., Schaffer F., Jarolim P., Brabec V. & Palek J. (1997). Characterization of the underlying molecular defect in hereditary spherocytosis associated with spectrin deficiency. *Blood*, 90, 398–406.
- Hazoumé F.A. (1984). Traitement préventif général et surveillance de la drépanocytose en zone tropicale. Dans : Bégué P, *La maladie drépanocytaire*. Sandoz, Paris, 258-270.
- Hebbel R.P., Osarogiagbon R. & Kaul D. (1994). The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. *Microcirculation New York*, New York, (2): 129-51.
- 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, Spécialité : Sciences Exactes et Naturelles, Mention : Sciences de la Vie, Université des Antilles et de la Guyane, Guyane, 185p.
- Hoffman D. (2003). *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Inner Traditions bear and Company: Rochester, Vermont, United States America, 83 p.
- Hossain H., Jahan I.A., Howlader S.I., Dey S.K., Hira A. & Ahmed A. (2013). Phytochemical Screening and Anti-Nociceptive Properties of the Ethanolic Leaf Extract of *Trema Cannabina* Lour. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1): 103-108.
- Houmènou V., Adjatin A., Tossou M.G., Yédomonhan H., Dansi A., Gbénou J. & Akoegninou A. (2017). Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine dans les Départements de l'Ouémé et du plateau au Sud Bénin. *International Journal of Biological and Chemical. Sciences*, 11(4): 1851-1871,
- Hu Y., Yanhong S., Jing Z. & Cohen D. (2009). Synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés de flavonoïdes en tant qu'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase à double liaison. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal chemistry*, 24 : 372–380.
- Huynh-Moynot S., Moynot J.C., Commanneur D., Danguy Des Deserts M., Montelescaut E., Kenane N. & Drouillard I. (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.
- Ingram V.M. (1956). A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemia haemoglobin. *Nature*, 178: 792-794.

- Ishola I.O., Akinyede A., Lawal S.M. & Popoola T.D. (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Olax subscorpioidea* Oliv. (Olacaceae) leaf extract in rodents: possible mechanisms of antinociceptive action. *West African Journal of Pharmacy*, 26(1): 99-112.
- Ismail O., Ishola IO, Akinwumi A., Saheed M., Lawal, Temidayo D. Popoola & Abiodun M. (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Olax subscorpioidea* Oliv. (Olacaceae) leaf extract in rodents: possible mechanisms of antinociceptive action. *West African Journal of Pharmacy*, 26 (1): 99-112.
- Itodo A.U., Gafar M.K. & Hassan L.G. (2011). Dangoggo SM. Amino acid estimation and phytochemical screening of *Indigofera astragolina* leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5): 277-285.
- Iweala E. & Obidoa O. (2009). Effect of a long term consumption of a diet supplemented with leaves of *Gongronema latifolia* Benth on some biochemical and histological parameters in male Albino Rats. *Journal of Biological Sciences*. 9(8): 859-865.
- Iyamu 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.
- Jarolim P., Murray J.L., Rubin H.L., Taylor W.M., Prchal J.T., Ballas S.K., Snyder L.M., Chrobak L., Melrose W.D., Brabec V. & al. (1996). Characterization of 13 novel band 3 gene defects in hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. *Blood*, 88, 4366–4374.
- Jean B. (2009). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 4ème édition, *Lavoisier*. Paris (France), 176 p.
- Jean-Blain C. (2000). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 149 : 911-920.
- Kafando E., Savadogo L.G. & Ayéroué (2008). Les syndromes drépanocytaires majeurs : une enquête anonyme au près du corps médical au Burkina-Faso. *Medecine Tropicale*, 68 : 241-246.
- Kanyonga P., Zellou A., Essassi M. & Cherrah Y. (2010). Synthèse et évaluation de l'activité pharmacologique de la 4-phényl-1, 5-benzodiazépin-2-one et ses dérivés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(1) : 321-346.

- Kasonga K. T. (2011). Contribution à l'étude chimique des Anthocyanes extraits des feuilles de *Justicia secunda* Vahl et leurs influences sur le comportement de l'Hémoglobine S. Mémoires de D.E.S. Département de Chimie (Option chimie physique), Faculté de Science de l'Université de Kinshasa, Kinshasa, République Démocratique du Congo 150 p.
- Kazeem M.I., Ayeleso A.O. & Mukwevho E. (2015). *Olax subscorpioidea* Oliv. leaf alleviates postprandial hyperglycaemia by inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ glucosidase. *International Journal of Pharmacology*, 11(5): 484-489.
- Kerharo J. et Bouquet A. (1950). Mission d'étude de la pharmacopée indigène en Afrique de l'Ouest Francophone. Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire - Haute-Volta. *Office de la recherche scientifique Outre-Mer*, Ministère de la France d'Outre-Mer, Editions Vigot Frères, paris, France, 301 p.
- Kidikpouka M.C., Ngene J.P., Ngoule C.C., Mvogo Ottou, P.B., Ndjib R.C., Dibong S.D. & Mpondo, M. E. (2015). Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun). *International Journal of Biological and Chemical. Sciences*, 9(3): 1494-1516.
- Kinney T.R., Sleeper L.A., Wang W.C., Zimmerman R.A., Pegelow C.H. & Ohene-Frempong K. (1999). Silent Cerebral Infarcts in Sickle Cell Anemia: A Risk Factor Analysis. *Pediatrics*, 103(3): 640-645.
- Klaas V., Thoppil R.J. & Bishayee A. (2002). Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World Journal of Hepatology*, 3 : 228–249.
- Konan K., Justin N.K., Lydie B., Souleymane M., Francis Y.A., David N.J. (2015). Hepatoprotective and *In vivo* antioxidant activity of *Olax subscorpioidea* Oliv. (Olacaceae) and *Distemonathus benthamianus* Baill. (Caesalpiniaceae). *Pharmacognosy Magazine*, 11(41): 111-116.
- Koné W.M., Vargas M. & Keiser J. (2012). Anthelmintic activity of medicinal plants used in Côte d'Ivoire for treating parasitic diseases. *Parasitology*, 110(6): 2351-2362.
- Konkon N., Simaga D., Adjoungova A., N'guessan., Zirihi G. & Kone B. (2006). Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (willd.) o. ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique, *Pharmacy and Médecine Traditional in Africa*, 14 : 73-80.
- Koster R., Anderson M. and De Beer E.J. (1959). Acetic acid for analgesic screening, *Federation Proceedings*, 18 : 412-417.

- Koua K., Irié N., Effe K., Kouakou S., Ayoman T., Tetchi A. & Yapi H. (2018). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Crinum scillifolium* Extracts in Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry and Biophysics*, 6(4): 77-82.
- Kouassi K.A., Yao K & Kone M.W. (2017). Enquête ethnobotanique et évaluation de la composition minérale de plantes médicinales utilisées dans le Centre de la Côte d'Ivoire dans le traitement de l'ostéoporose et des maladies apparentées. *Afrique Science*, 13(1): 197-208.
- 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, Spécialité : Médecine, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 77 p.
- Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS* 128 p.
- Kushal K., Sabeena S. & Ashish K., (2017). Acute and sub-acute toxicological evaluation of lyophilized *Nymphaea* and *rubra* Roxb. ex-Andrews rhizome extract. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 88: 12-21.
- La fondation LYA & Dréparvie. (2018). Mission exploratoire d'évaluation des moyens nécessaires pour la mise en place d'un programme de formation dans le cadre du renforcement du système de santé dans la lutte contre la drépanocytose. Côte d'Ivoire, 50 p.
- La fondation LYA (2019). Drépanocytose : 6000 cas détectés à la naissance chaque année en Côte d'Ivoire. Journée mondiale contre la drépanocytose, 21 juin 2019, Abidjan, Côte d'Ivoire, 1 p.
- Labie D. & Elion J. (1996). [Sickle cell anemia: model of variability in expression of monogenic disease]. *Archives de Pédiatrie de l'Organe Officiel de la Société Française de Pédiatrie*, (2): 101-103.
- Labie D., Dunda-Belkhodja O., Rouabhi F., Pagnier J., Ragusa A. & Nagel R.L. (1985). The -158 site 5' to the G gamma gene and G gamma expression. *Blood*, (6): 1463-1465.

- Lagnika L., Amoussa A.M.O., Adjilèyè R.A.A., Lalèye A. & Sanni A. (2016). Antimicrobial, antioxidant, toxicity and phytochemical assessment of extracts from *Acmella uliginosa*, a leafy-vegetable consumed in Bénin, West Africa. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16:34.
- Lakmichi H., Bakhtaoui F. Z., Gadhi C. A., Ezoubeiri A., El-jahiri Y., El-mansouri A., Zrara I. & Loutfi K. (2011). Toxicity Profile of the Aqueous Ethanol Root Extract of *Corrigiola telephiiifolia* Pourr. (Caryophyllaceae) in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Leblanc G. A. (2010). Acute toxicity. *In: A Textbook of Modern Toxicology*. 4th edition, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 125-236.
- Lee Y., Yuk D. & Lee J. (2009). L'épigallocatechine-3-gallate empêche l'élévation induite par les lipopolysaccharides de la génération de  $\beta$ amyloïde et du déficit de mémoire. *Réseau cervical*, 1250 : 164–174.
- Létapin C. (2016). Méthodologie de quantification des tannins condensés dans les ressources tropicales. Rapport de stage, Université des Antilles, Antilles, 27 p.
- Levy T., De la cruz gongora V. & Villalpando S. (2016). Anemia: Causes and Prevalence. *Encyclopedia of Food and Health*, 156-163.
- Li X., Luo Y., Wang L., Li Y., Shi Y., Cui Y. & Xue M. (2010). Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 131: 110-115
- Liao P., Hemmerlin A., Bach T.J. & Chye M.L. (2016). The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. *Biotechnology Advances*, 34(5) : 697- 713.
- Lionnet F., Stankovic K. & Girot R. (2009). Drépanocytose de l'adulte. *EMC – Hématologie*, 4(2): 1-19
- Locatelli F., Rocha V., Reed W., Bernaudin F., Ertem M. & Grafakos S. (2003). Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood*, 15 ;101(6): 2137-2143.
- Machado R.F., Anthi A., Steinberg M.H., Bonds D., Sachdev V. & Kato G.J. (2006). N-256 terminal pro-brain natriuretic peptide levels and risk of death in sickle cell disease. *Journal of the American Medical Association*, 296(3): 310-3108.

- Macheix J.J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes* (PPUR), Lausanne, Suisse, 94 p.
- Malecky M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, Thèse Docteur, Spécialité : Sciences des Aliments, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, Paris, France, 9, 13-19.
- Manallah A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Spécialité : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, Algérie, 87 p.
- Manda P., Manda O., Vangah-manda M.O., Kroa E. & Dano S.D. (2017). Etude des toxicités aigüe et subaiguë du remède nature utilise dans le traitement du paludisme. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 29 (2017) 145 - 158
- Marion R. (2019). Étude du vécu de dix sujets adultes atteints de drépanocytose : regards phénoménologique et transculturel dans une perspective hypnothérapeutique. Thèse de Doctorat, Spécialité : Psychologie, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 70 p.
- Marotta C.A, Wilson J.T, Forget B.J. & Weissman S.M. (1977). Human  $\beta$ -globin messenger RNA III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. *Journal of Biological Chemistry* ;252, 5040-5051.
- Martin V. (2010). Les processus d'inflammatoires chez les oiseaux. *physiopathologie et implication clinique en aviculture*. Toulouse, France, s.n, p 5.
- Martin V.J.J., Pitera D.J., Withers S.T., Newman J.D. & Keasling J.D. (2003). Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids. *Nature Biotechnology*, 21(7) :796-802.
- Mattioni S., Stankovic S., Girot K.R. & Lionnet F. (2016). La drépanocytose en France. *Revue Francophone des Laboratoires*, (481): 61-66.
- McQuillan B.M., Picard M.H., Leavitt M. & Weyman A.E. (2001). Clinical correlates and reference Med *Principles and Practice*, 14(1): 15-9.
- Medkour T. (2008). Modélisation Mathématique et Simulation Numérique de la Polymérisation de l'Hémoglobine Drépanocytaire. Université Paris XII; (Print) e – ISSN, 1857-7431.

- Mehari A., Gladwin M.T., Tian X., Machado R.F. & Kato G.J. (2012). Mortality in adults with sickle cell disease and pulmonary hypertension. *Journal of the American Medical Association*, 307(12): 1254-6.
- Mohsen T., Seyed N.O. & Zatollah A. (2017). Sub-chronic oral toxicity of *Cuminum cyminum* L.'s essential oil in female Wistar rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 88: 138 -143.
- Mousseux M. (1995). Test de toxicité sur les larves d'*Artemia salina* et d'entretien d'un élevage de balanes, Rapport de stage de deuxième année. DEUST Aquaculture ; Centre Universitaire de Nouvelle Calédonie, France, 75 p.
- Mpiana P.T., Balangayi E.K., Kanangila A.B., Kalonda E.M., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K. et Lumbu J.B.S. (2009). Activité antirépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3: 551-560.
- Mpiana P.T., Mudogo V., Kabangu Y.F., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Atibu E.K., Mangwala K.P., Mbala M.B., Makelele L.K. and Bokota M.T. (2009). Antisickling activity and thermostability of anthocyanins extract from a Congolese plant, *Hymenocardia acida* Tul. (Hymenocardiaceae). *International Journal of Pharmacology*, 5: 65-70.
- Mpiana P.T., Mudogo V., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Shetonde O.M. and Mbala B.M. (2007). *In vitro* Antisickling Activity of Anthocyanins from *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *International Journal of Pharmacology*, 3: 371-374.
- Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S., Kitwa E.K., Kanangila A.B., Lumbu J.B., Ngbolua K.N., Atibu E.K., and Kakule M.K. (2008). Antisickling activity of anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis* and *Ziziphus mucronata*: photodegradation effect. *Journal of Ethnopharmacology*, 120: 413-418.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Bokota M.T., Kasonga T.K., Atibu E.K., Tshibangu D.S. and 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., Ngbolua N.K., Sha T.D. & Tshibangu. (2016). Les alicaments et la drépanocytose: une mini revue. *Comptes Rendus Chimie*, Elsevier Masson SAS, CRAS2C, 884-889.

- Mpondo M.E., Dibong S.D., Ladoh Y.C.F., Priso R.J. & Ngoye A. (2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 15: 2083-2098.
- MSHP (2016). Enquête de prévalence parasitaire du paludisme et de l'anémie (EPPD- CI), 51 p.
- Mueller-Harvey I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 86 : 2010-2037.
- Mueller-Harvey I., Bee G., Dohme-Meier F., Hoste H., Karonen M., Kölliker R., Lüscher A. & Waghorn G.C. (2018). Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants : importance of structure, concentration and diet composition. *Invited review Crop Science*, 59 : 861-885.
- Mukinda J.T. & Syce J.A. (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 138 -144.
- Murayama M. (1966). Tertiary structure of sickle cell hemoglobin and its functional significance. *Journal of Cellular Physiology*, 67(3) 1: 21-32.
- Murray R.L. & Kaplan A. (1984). Creatinine, clinical chemistry the C.V. In Mosby Company. Saint Louis, Toronto Princeton, United States of America, 1261-1266.
- Musa A.H., Kumar Vata, P., Gebru G., Mekonnen Y., Debella A., Makonnen. (2016). Biochemical and hematological study on butanol fraction of leaves of *Moringa Stenopetala* in Experimental rats. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(5): 2319-4219.
- N'Guessan K. (2008). Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Département d'Agboville (Côte-ivoire). Thèse de Doctorat d'Etat Sciences Naturelles, UFR Biosciences, Spécialité Ethnobotanique, Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), *Laboratoire de Botanique*, 335: 28-52.
- Nagel R.L. (1991). Severity, pathobiology, epistatic effects, and genetic markers in sickle cell anemia. *Seminars in Hematology*, (3): 180-201.
- Naito H.K. & Kaplan A. (1984). - Cholesterol. Clinical Chemistry the C.V. In Mosby company, Saint Louis Toronto, Princeton, United states of America, 1194-1206.
- Nanfack P, Biapa N, Pieme C, Ama-Moor V, Moukette B. & Yonkeu J.N. (2013). The *in vitro* antisickling and antioxidant effects of aqueous extracts *Zanthoxylum heitzii* on sickle cell disorder. *Biology Molecular and Cellular of complementary and alternative medicine*, 13(162): 1-7.

- Nazifi A.B., Saidi O. & Ismail H.F. (2015). Evaluation of anticonvulsant effects of methanolic extract of *Olax subscorpioidea* Oliv. leaves in chicks and mice. *Journal of Pharmacy & Bioresources*, 12(2): 165-171.
- Nkhili E. (2004). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences des Aliments, Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier, France, 378 p.
- Noack M. & Kolopp-Sarda M.N. (2018). Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 3(489) : 28-37.
- Nsimba M., Lami N., Chika Y., Toshiyuki K., Matadi M. and Muhandisha L. (2012). *In vitro* reversal of deformity and inhibition of aggregation of sickle red blood cells by two Congolese herbal medicines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(31) : 4601-4608.
- OCDE. (2001). Toxicité orale aiguë-Méthode par classe de toxicité aiguë. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, OCDE, 423: 14 p.
- OCDE. (2008). Acute oral toxicity: Up and down procedure, Guideline for the Testing of Chemicals, 425 OCDE; 1-2.
- Odoma S. (2016). Analgesic, anti-inflammatory and other pharmacological activities of methanol leaf extract of *Olax subscorpioidea* Oliv (Olacaceae) in laboratory animals. Thèse de Doctorat, UFR Pharmacologie et Thérapeutique, Spécialité : sciences pharmaceutiques, Université Ahmadu Bello, Zaria, Nigeria, 147 p.
- Odoma S., Zezi A.U., Danjuma N.M. & Ahmed A. (2014). Analgesic and antiinflammatory properties of methanol leaf extract of *Olax suscorpioidea* Oliv (Olacaceae) in mice and rats. *Journal of Pharmacology and Tropical Therapeutics*, 4(1): 29-37.
- Odoma S., Zezi A.U., Danjuma N.M. & Ahmed A. (2015). Analgesic and antiinflammatory activities guided- fractionation of *Olax suscorpioidea* leaf extract in mice and rats. *Niger Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1):30-43.
- Odoma S., Zezi A.U., Danjuma N.M., Abubakar A. & Magaji M.G. (2020). Effects of aqueous and butanol leaf fractions of *Olax subscorpioidea* oliv. On inflammatory cytokines in wistar rats. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 4(9): 606-611.

- Odoma S., Zezi A.U., Danjuma N.M., Ahmed A. & Magaji M.G. (2016). Elucidation of the possible mechanism of analgesic actions of butanol leaf fraction of *Olox subscorpioidea* Oliv. *Journal of Ethnopharmacological*, 199: 323-327.
- Ogbe R.J. & Adoga G.I. (2010). Antianaemic potentials of some plant extracts on phenylhydrazine-induced anaemia in rabbits. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 680-684.
- Ohene-Frempong K., Weiner S.J., Sleeper L.A., Miller S.T., Embury S. & Moohr J.W. (1998). Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood*, 91(1): 288-294.
- Okoro OC. Alope C. Ibiam UA. Obasi NA. Orji OU. Ogonnia EC., Ogbu P.N., Emelike C.U., Ufebe G.O. and Ezeani N.N. (2021). Studies on Ethanol Extracts of *Olox subscorpioidea* Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24 (6): 724-732.
- Okwu D.E. (2007). NMAP. *Science and Biotechnology*, 1(1): 90- 96.
- Olson H., G., Betton D., Robinson K., Thomas A., Monro G., Kolaja P., Lilly J., Sanders G., Sipes W., Bracken M., Dorato K., Van Deun P., Smith B., Berger A. & Heller. (2000). Concordance of the Toxicity of Pharmaceuticals in Humans and in Animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32: 56-67
- OMS, AFRO (2010). Rapport du Directeur régional sur drépanocytose : une stratégie pour la région africaine de l’OMS, malabo, guinée équatoriale, 30 août – 3 septembre 2010 point 7.6 de l’ordre du jour provisoire AFR/RC60/8 22 juin 2010, 17 p.
- OMS. (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l’évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Genève (Suisse), 79 p.
- Orabueze I.C., Amudalat A.A. & Usman A.A. (2016). Antimicrobial value of *Olox subscorpioidea* and *Bridelia ferruginea* on microorganism isolates of dental infection. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(5): 398-406.
- Ouattara A. (1991). Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales : *Fagara zanthoxyloides* Lam. et *Calotropis procera* Ait. et d’un médicament usuel de référence: la dihydroergotoxine au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo. Thèse de Doctorat, Médecine, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 150 : 97 p.

- Oyedapo O.O. & Famurewa A.J. (1995). Antiprotease and membrane stabilizing activities of extracts of *Fagara zanthoxyloides*, *Olox subscorpioidea* and *Tetrapleura tetraptera*. *Pharmaceutical Biology*, 33(1): 65-69.
- Park H.H., Lee S., Son, H.Y., Park S.B., Kim M.S., Choi E.J., Singh T.S., Ha J.H., Lee M.G., Kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H. & Kim S.H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31(10): 1303-1311.
- Piel F.B., Patil A.P., Howes R.E., Nyangiri O.A., Gething P.W. & Williams T.N. (2010). Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *National of Community*, 2 (1) : 104 p.
- Pietta P. (2001). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63 (7) : 1035-1042.
- Platt O.S. (2000). The acute chest syndrome of sickle cell disease. *New England Journal of Medecine*, 342(25): 1904-1907.
- Platt O.S., Brambilla D.J., Rosse W.F., Milner P.F., Castro O. & Steinberg M.H., (1994). Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *New England Journal of Medecine*, 330(23): 1639-1644.
- Poillon W.N. & Kim B.C. (1990). 2,3-Diphosphoglycerate and intracellular pH as interdependent polymorphisms associated with priapism in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, (3): 262-267.
- Popoola T.D., Awodele O., Babawale F., Oguns O., Onabanjo O., Ibanga I., Godwin H., Oyeniyi T., Fatokun A.A. & Akinloye O. (2019). Antioxidative, antimitotic, and DNA-damaging activities of *Garcinia kola* stem bark, *Uvaria chamae* root, and *Olox subscorpioidea* root used in the ethnotherapy of cancers. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 31(1): 1-11.
- Popoola T.D., Awodele O., Omisanya A., Obi N., Umezina C. & Fatokun A.A. (2016). Three indigenous plants used in anticancer remedies, *Garcinia kola* Heckel (stem bark), *Uvaria chamae* P. Beauv. (root) and *Olox subscorpioidea* Oliv. (root) show analgesic and anti-inflammatory activities in animal models. *Journal of Ethnopharmacological*, 194: 440-449.
- Powars D., Weidman J.A., Odom-Maryon T., Niland J.C. & Johnson C. (1988). Sickle cell chronic lung disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. *Medicine (Baltimore)*, 67(1): 66-76.

- Praveen K. & Kumud U. (2012). Tannins are Astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1(3): 45-50.
- Railson H., Michel F.O., Aline E.F.F., Priscila H., Aguinaldo J.D.N. and Maria S.S.L. (2013). Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxyurea. *Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia*, 35(1): 52-55.
- Rasolofonirina T.N. (2019). Données actuelles sur la drépanocytose et comparaison de la prise en charge à Madagascar et en France. Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Faculté de Pharmacie de Lille, Université de Lille, France, 21 p.
- Rees D.C., Williams T.N. & Gladwin M.T. (2010). Sickle-cell disease. *Lancet London England*, 376 (9757) :2018–2031.
- Reichl F. X. (2004). Guide pratique de toxicologie. 2<sup>ème</sup> Edition. *DeBoeck & Larcier*, Bruxelles (Belgique), 4 – 16.
- Rhiouani H., El-hilaly J., Israili Z. H., & Lyoussi B. (2008). Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 118 : 378-386.
- Richelle M., Tavazzi I. & Offord E. (2001). Comparison of the antioxidant activity of commonly beverages (coffee, cacao, and tea) prepared per cup serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 3438-3442.
- Righetti A., Koua A. and Adiossan L. (2012). Etiology of anemia among infants, school-aged children, and young non-pregnant women in different settings of South-Central Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and Hygiène*, 87: 425-434
- Rosales-Mendoza S., Márquez-Escobar V.A., González-Ortega O., Nieto-Gómez R. et Arévalo-Villalobos J.I. (2020). What Does Plant-Based Vaccine Technology Offer to the Fight against COVID-19 ?. *Vaccines*, 8 : 183
- Ruggeri Z.M. & Mendolicchio G.L. (2007). Adhesion mechanisms in platelet function. *Circulation Research*, 100(12): 1673-1685.
- Saliu J.A. & Olabiyi A.A. (2016). Aqueous extract of *Securidaca longipendunculata* Oliv. and *Olox subscripioidea* inhibits key enzymes (acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase) linked with Alzheimer's disease *in vitro*. *Pharmaceutical Biology*, (1): 252-257.

- Sánchez-Mateo C.C., Bonkanka C.X., Hernández-Pérez M. & Rabanal R.M. (2006). Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *Journal of Ethnopharmacological*, 107(1):1-6.
- Sanogo I. (2020). Plaidoyer pour la construction d'un centre de prise en charge de la drépanocytose en Côte d'Ivoire. 4<sup>ème</sup> journée mondiale de lutte contre la drépanocytose. 19 juin 2020, Abidjan, Côte d'Ivoire, 1-5.
- Saravanan V.S. & Manokaran S. (2012). Anti- anaemic activity of some plants in Cucurbitaceae on phenylhydrazine-induced anaemic rats. *Thailand Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36: 150-154.
- Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287–306.
- Sedgewick A.E., Timofeev N., Sebastiani P., So J.C.C., Ma E.S.K. & Chan L.C. (2008). BCL11A is a major HbF quantitative trait locus in three different populations with ßhemoglobinopathies. *Blood Cells Molecules and Diseases*, 41(3): 255-2558.
- Segel G.B., Halterman M.W. & Lichtman M.A. (2011). The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *Journal of Leukocyte Biology*, 89(3): 359-372.
- Serjeant G.R., Singhal A. & Hambleton I.R. (2001). Sickle cell disease and age at menarche in Jamaican girls: observations from a cohort study. *Archives of Disease in Childhood*, 85(5): 375-378.
- Sharma V. & Sarkar I.N. (2013). Bioinformatics opportunities for identification and study of medicinal plants. *Briefings in Bioinformatics*, 14(2): 238-250.
- Sibinga E.M.S., Shindell D.L., Casella J.F., Duggan A.K. and Wilson M.H. (2006). Paediatric patients with sickle cell disease: use of complementary and alternative therapies. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 12: 291-298.
- Silva E.J.R., Gonçalves E.S., Aguiar F., Evencio L.B., Lyra M.M.A., Coelho M.C.O.C., Fraga M.C.C.A. & Wanderley A.G. (2007). Toxicological studies on hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. *Phytotherapy Research*, 21: 332-336.
- Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin– Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 : 152-178.

- Sofowora A. (1996). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. 2<sup>ème</sup> édition, Editions Karthala : Paris, France, 378 p.
- Sofowora E.A. (1985). Medicine plants and traditional medicine in Africa. *Spectrum books limited (Ibada) and John Wiley and Son, Liyodia*, 4261: 1-6.
- Sonibare M. & Gbile Z. (2008). Ethnobotanical survey of anti-asthmatic plants in south western nigeria. *African Journal of Traditional*, 5(4) : 340-345.
- Soro M., Akakpo-Akue J., Ackah J.A.A.B., Sibri J.F., Yapi Y.G. & Kple T.K.M. (2019). Effet des extraits de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioïdea* sur la réversion des drépanocytes dans la prise en charge de la drépanocytose dans la Région de Korhogo (Nord de la Côte d'Ivoire). Mémoire de Master en Biologie santé, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé Daloa, Côte d'Ivoire, 50 p
- Soro M., Akakpo-Akue J., Ackah J.A.A.B., Sibri J.F., Yapi Y.G. & Kple T.K.M. (2021). Effect of *Rhynchospora corymbosa* and *Olax subscorpioïdea* two plants used in the management of Korhogo sickle cell disease. *Journal of Phytopharmacology*, 10(1): 1-6.
- Souannavong D. (2017). Les médecines complémentaires chez les patients drépanocytaires. Mémoire de Thèse, Spécialité : Medecine et de Pharmacie, Université de Rouen, France, 157 p.
- Thiele C. (2010) Anatomie et physiopathologie humaines de poche. 1<sup>ère</sup> Edition, *De Boeck Supérieur*, 707 p.
- Timbrell J. (2000). Principles of biochemical toxicology. 3rd edition, *Taylor & Francis*, London, 1-390.
- Tohoubi A. (2015) La Drépanocytose : ce que nous devons faire avant de nous marier et d'avoir des enfants. Editions Publibook, *Transfusion clinique et biologique, journal officiel de la Société française de transfusion sanguine*, 15(1-2): 14-18.
- Tsakiris S., Giannoulia-Karantana A., Simintzi I. & Schulpis K. H. (2005). The effect of aspartame metabolites on human erythrocyte membrane acetylcholinesterase activity. *Pharmacological*, 53: 1-5.
- Turaaskar A., More S., Sheikh R., Gadhpayle J. & Bhongade S.L. (2013). Inhibitory potential of *Picrorrhiza kurroa royle ex.* extract on phenylhydrazine induced reticulocytosis in rats. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research.*, 6 (2): 215-216.

- UA (2010). Plan d'action de la décennie de la médecine traditionnelle (2001 - 2010). 164<sup>ème</sup> Conférence des chefs d'état et de gouvernement sur la médecine traditionnelle, 8-10 Décembre 2010, Lusaka, Zambie, 37 p.
- Uda M., Galanello R., Sanna S., Lettre G., Sankaran V.G. & Chen W. (2019). Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of  $\beta$ -thalassemia. *Proceedings of the National Academy Sciences of United States of America*, 105(5): 1620-1625.
- Vert C. (2019). Prise en charge de l'anémie par carence martiale chez des patients bénéficiant d'une chirurgie colorectale carcinologique. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier, Université Talouse, France, 168 p.
- Vichinsky E.P., Neumayr L.D., Earles A.N., Williams R., Lennette E.T. & Dean D. (2000). Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. National Acute Chest Syndrome Study Group. *New England Journal of Medicine*, 342(25): 1855-1865.
- Victoria U.C., Michael U.C. & Johnny M.U. (2010) Evaluation of the antiulcer activity of *Olax subscorpioidea* Oliv. roots in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1): 13-16.
- Wagner H. & Bladt S. (2001). Plant Drugs Analysis, a Thin Layer Chromatography. 2nd Edition, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg (Allemagne), 25 p.
- Wajcman H. (2004) Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. *La Revue du Praticien*, 54: 1543-1547 p.
- Wambebe C., Khamofu H., Momoh J.A., Ekpeyong M., Audu B.S., Njoku S.O., Nasipuri N.R., Kunle O.O., Okogun J.I., Enwerem N.M, Gamaniel S.K., Obodozie O.O Samuel B, Fojule G & Ogunyale P.O. (2001). Doubleblind, placebo-controlled, randomised cross-over clinical trial of NIPRISAN in patients with sickle cell disorder: *Phytomedicine*, 8(4): 252-261.
- Wassan K.M., Najati S., Wong J. & Kwong M. (2001). Assessing plasma lipid levels, body weight and renal toxicity following chronic oral administration of a water soluble phytostanol compound FM-VP4, to gerbits. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4 (3) (2001) 228-234.
- Weatherall D.J. (2001). Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nature Reviews Genetics*, 2: 245-255.
- Winter C.A., Risky E.A. & Nuss G.W. (1962). Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *SAGE journals*, 111(3): 544-547.

- Wisdom N., Bassey E., Jelani F., Ishaku G., Uwem U. & Joseph S. (2016). Biochemical studies of *Ocimum sanctum* and *Olox subscorpioidea* leaf extracts. *British Journal of Pharmaceutical*, 12(4): 1-9.
- Wladimir & Nancy H. (1952). Laboratoire de Pathologie exotique. Faculté de Médecine de Montpellier, France, 7 p.
- Womani H.M., Djikeng F.T., Tiencheu B. & Linder M. (2013). Antioxidant potential of methanolic extracts and powders of some Cameroonian spices during accelerated storage of soybean oil. *Advances Biological Chemistry*, 3(3): 304-313.
- Woungly M. P. (2016). Activité antifalcémiant et screening phytochimique de la fraction éthéro-méthanolique de BEAT-SS. Practice thesis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, University of Kinshasa, Democratic Republic of Congo, 176 p.
- Yamunadevi M., Wesely E.G. & Johnson M. (2011). Phytochemical studies on the terpenoids of medicinally important plant *Aerva lanata* L. using HPTLC. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S220-S225.
- Yenon A., Yapi H., Gnahoue G., Yapo A., Nguessan J. & Djaman A. (2015). Anti- anaemic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Entandrophragma angolense* bark on phenylhydrazine-induced anaemic rats. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 5(3): 12-21.
- Yessoufou A., Gbénuou J., Grissa O., Hichami A., Simonin A-M., Tabka Z., Moudachirou M., Moutairou K. & Khan N.A. (2013). Anti-hyperglycemic effects of three medicinal plants in diabetic pregnancy: modulation of T cell proliferation. *Biology Molecular and Cellular of complementary and alternative medicine*, 13-77.
- Yock P.G. & Popp R.L. (1984). Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation*, 70(4):657–659
- Yuet-Ping K., Darah I., Chen Y., Sreeramanan S. & Sasidharan S. (2013). Acute and subchronic toxicity study of *Euphorbia hirta* L. methanol extract in rats. *BioMed Research International*, 18: 2014-2064
- Yuldasheva L.N., Carvalho E.B., Catanhoand M.T.J.A. & Krasilnikov O.V. (2005). Cholesterol dependent hemolytic activity of *Passiflora quadrangularis* leaves. *Brazilian Journal of Medical and Biollogical*, 38: 1061-1070.

- Zandecki M., Genevieve F., Gerard J. & Godon A. (2007). Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *International Journal of Laboratoire Hematology*, 29: 21-41.
- Zenk M.H. & Jueng M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68 : 2757-2772.

# **ANNEXES**

## ANNEXE 1 : Fiche d'enquête ethnobotanique

**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'autorisation du conseil de l'éthique



MINISTÈRE DE LA SANTÉ  
ET DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

COMITÉ NATIONAL D'ÉTHIQUE  
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE  
LA SANTÉ (CNESVS)

US DPT OF HHS REGISTRATION #2 - IRB000111917

Le Président

N/Réf : 044-21/MSHP/CNESVS-km

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE



UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

Abidjan, le 07 AVR. 2021

**Mademoiselle KPLE Tatiana Kangah Mireille**  
**Investigatrice Protocole de Recherche / Doctorante**  
**IPCI – UFR Biosciences-UFHB**  
**ABIDJAN**

**OBJET** : Autorisation de mise en œuvre du protocole de recherche intitulé :  
« Recherche de composés antifalciforme à partir des plantes médicinales de la Côte d'Ivoire ».

**Mademoiselle,**

Le Comité National d'Éthique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS) a examiné votre demande d'autorisation de mise en œuvre du projet cité en objet.

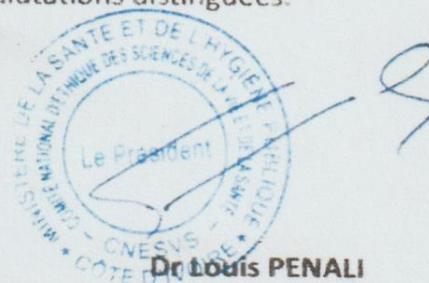
Le CNESVS tient à vous présenter ses compliments pour la conception de cette importante étude.

**Un avis favorable** a été émis pour l'utilisation de ce protocole.

En raison de la pandémie du Covid-19 nous vous recommandons très vivement de respecter les mesures de protection prise par le gouvernement ivoirien tout en assurant le maintien de la santé des participants à inclure.

Toutefois, il faut noter que la validité de cette autorisation est **d'un an (1) à compter de la date de signature**. Par ailleurs, je vous saurai gré de bien vouloir transmettre au CNESVS une copie du rapport de cette étude dès la fin de sa mise en œuvre.

Je vous prie d'agréer, **Mademoiselle**, l'expression de mes salutations distinguées.

  
**Dr Louis PENALI**

## ANNEXE 3 : Fiche d'autorisation d'accès au service Hématologie

MINISTERE DE LA SANTE ET  
DE L'HYGIENE PUBLIQUEREPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE  
Union - Discipline - TravailCENTRE HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE DE COCODY  
B.P. V 13 ABIDJAN - FAX: 22. 44.13.79  
TEL : 22. 48.10.00  
SERVICE: IMMUNOLOGIE ET HEMATOLOGIE

## AUTORISATION

Je soussigné Professeur **SANOGO IBRAHIMA**, responsable de l'unité d'hématologie clinique dans le service d'Immuno-hématologie du CHU de Cocody, donne autorisation à Monsieur SORO M'BEFEHE, doctorant à l'université LOROUGNON GUEDE de Daloa (Département Agro foresterie), conformément à l'autorisation de mise en œuvre du Comité National d'Ethique des Sciences de la vie et de la Santé (CNESVS ref ; 044-21/MSHP/CNESVS-Km) du 07 Avril 2021 à réaliser des activités s'inscrivant dans le cadre de son travail de (thèse dans ladite unité.

Ce travail a pour thème : « **recherche de composés antifalciformes à partir de plantes médicinales de la Côte d'Ivoire.** »

En foi de quoi, la présente autorisation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Abidjan, le 20 Décembre 2021

Le chef de l'unité d'hématologie clinique

Prof **SANOGO IBRAHIMA**  
Chef de Service  
Hématologie Clinique  
CHU de Cocody

Professeur **SANOGO IBRAHIMA**

## ANNEXE 4 : Fiche de questionnaire pour les personnes drépanocytaires

## 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 ?

1 .....2 :.....3 :.....4 ;.....

**Question 13**

Quelle est la forme de votre maladie ?

- SS
- SC
- S  $\beta$ -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

**Question 27**

Avez-vous faites 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 5 : Matériel technique et méthodes



Broyeur électrique  
(Retsch sk 100)



Etuve



Microscope  
HumaScope  
Advanced Vision



Spectrophotomètre UV-  
16



Spectrophotomètre Rato RT-  
9200



Centrifugeuse



PH-mètre



Agitateur magnétique

Matériel technique utilisé



A



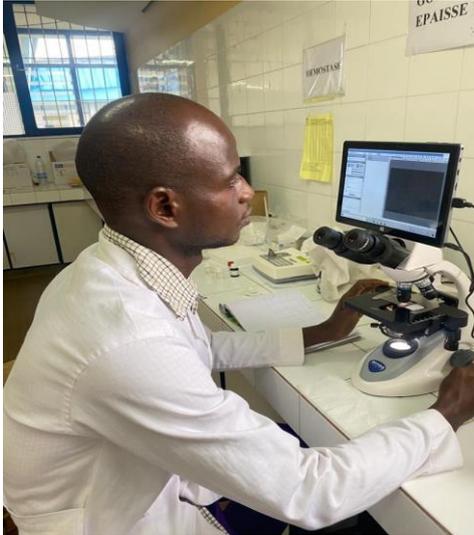
B



C

Etapes de la réalisation du test de la toxicité subaiguë avec les Rats wistar (*Ratus norvegicus*)

A : Elevage des rats    B : sacrifice et recueil du sang dans les tubes    C : Recueil des organes



Analyse morphologique des érythrocytes et détermination du taux des drépanocyte



Vue de face de la patte postérieure œdémateuse après l'injection de Carragénine



Vue de dos de la patte postérieure œdémateuse après l'injection de carragénine



Souris pendant les torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes).

**PUBLICATION**



## **Haematic Potentials of *Rhynchospora corymbosa* and *Olox subscorpioïdea* Extracti in Phenylhydrazine-induced Anaemic Rats**

***M'béfèhê Soro, PhD student***

Agro-valuation Laboratory and Agroforestry, UFR Agroforestrie, Jean Lorougnon Guédé University (UJLoG), Ivory Coast

***Joël Akakpo-Akue, Doctor***

Laboratory of Pharmacodynamic and Biochemistry, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), Abidjan, Côte d'Ivoire

***Jacques Auguste Alfred Bognan Ackah, Professor***

***Jean-François Sibri, PhD student***

***Yayé Guillaume Yapi, Professor***

Agro-valuation Laboratory and Agroforestry, UFR Agroforestrie, Jean Lorougnon Guédé University (UJLoG), Ivory Coast

***Tatiana Kangah Mireille Kple, Doctor***

Laboratory of Pharmacodynamic and Biochemistry, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), Abidjan, Côte d'Ivoire

***Sihî Ephrem Léangeovers Getheme Sanko, Master student***

Laboratory of biology, Agropastoral Management Institute, Péléforo Gbon Coulibaly University, Côte d'Ivoire

[Doi:10.19044/esj.2023.v19n6p208](https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n6p208)

Submitted: 13 December 2022

Accepted: 20 February 2023

Published: 28 February 2023

Copyright 2023 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

*Cite As:*

Soro M., Akakpo-Aku J., Ackah J.A.A.B., Sibri J., Yapi Y.G., Kple T.K.M. & Sanko S.E.L.G. (2023). *Haematic Potentials of Rhynchospora corymbosa and Olox subscorpioïdea Extracti in Phenylhydrazine-induced Anaemic Rats*. European Scientific Journal, ESJ, 19 (6), 208. <https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n6p208>

### **Abstract**

The decoction of the whole plant of *Rhynchospora corymbosa* and *Olox subscorpioïdea* leaves are used by the Local traditional healers in the department of Korhogo (Northern Côte d'Ivoire) to treat patients with sickle cell disease. This study was designed to assess, the antianemic potential of these plants extract. Anemia was induced with phenylhydrazine hydrochloride in rats. Animals were divided in normal (N), control (C), test (T), and reference

(R) groups. T group included ill-induced Animals treated with *R. corymbosa* and *O. subscorpioidea* extracts, and R group ill-induced animals treated with vitamin B9 for anemic animals. Dosing was made as 1-day single dose repeated dose. In anemic animals, the production rate of RBC was significantly ( $p < 0.001$ ) higher in T group as compared to C group. *R. corymbosa* whole plant and *O. subscorpioidea* leaves extracts have a haematic potential. The anti-anaemic effect may partly explain their use in patients with sickle cell disease who are affected by a deficiency of erythrocytes and its components

---

**Keywords:** Antianemic activity, *R. corymbosa*, *O. subscorpioidea*, sickle cell, decoction

## Introduction

Anemia is defined as a decrease in the concentration of circulating hemoglobin compared to the limit values set by the WHO (Levy *and al.*, 2016). There are three major types of anemia. According to the size of the red blood cells, there is microcytic anemia in which the red blood cells are smaller than normal. This type of anemia would be due to a low-level of iron or an inherited disorder of hemoglobin. The normocytic anemia is a kind of anemia following a chronic disease. Finally, there is macrocytic anemia related to alcoholism (Vert, 2019). Anemia affects physical growth, cognitive development, reproduction and physical work capacity, resulting in decreased human performance (FAO, 2013). The most vulnerable groups are children, adolescents and pregnant women. Anemia is also a factor in fetal growth retardation, a cause of postpartum hemorrhage thereby increasing maternal morbidity and mortality (Beucher *and al.*, 2011). About 50% of anemia cases are due to iron deficiency (Vert, 2019). Anemia is a public health problem that affects populations in both rich and poor countries (De Benoist *and al.*, 2008). The global prevalence of anemia is 24.8%. In developed countries the prevalence is 8% compared to 38% in developing countries (Dupont, 2017). In Côte d'Ivoire, 78% of a sample of 128 children aged from 6 months to 2 years are anemic. Seven (7%) of these 78% suffer from severe anemia (Righetti *and al.*, 2012). Forty-five percent (45%) of women are affected by the less severe form, 20% by the moderate form and 2% suffer from the severe form. The proportion of anemic children and women depends on the place of residence, 21% in rural areas against 9% in urban areas for children and 73% in rural areas against 60% in urban areas for women (MSHP, 2016).

Most often, blood transfusion remains an effective and rapid means in the management of anemia (Dupouy-Manescau, 2020). However, there are risks of infection during blood transfusion and taking the drugs could create

drug-induced immuno-allergic haemolysis which is linked to drug sensitivity (Bachir, 2020). In addition, the use of drugs would be expensive for low-income population (Inkoto *and al.*, 2018).

Facing this situation, the use of medicinal plants could culturally serve as an alternative treatment against anemia for remote populations. Indeed, medicinal plants contain a multitude of secondary metabolites with several biological activity and easy access (Coulibaly *and al.*, 2020).

Many studies have been conducted to scientifically assess the safety, efficacy and quality of certain plant species from traditional medicine. This is how *Rhynchospora corymbosa* and *Olox subscorpioidea* caught our attention after an ethnobotanical survey in the department of Korhogo. The bibliographic review revealed that *Rhynchospora corymbosa* could promote the reversion of sickle cells (Soro *and al.*, 2021). As for *Olox subscorpioidea*, indigenous healers would use it in the treatment of jaundice (Kerharo & Bouquet, 1950) and could promote the reversion of sickle cells (Soro *and al.*, 2020). These plants have displayed, an antioxidant and an anticytotoxic activities (Cantrell *and al.*, 2003; Okoro *and al.*, 2021). They have also demonstrated analgesic (Odoma *and al.*, 2016), anti-inflammatory (Popoola *and al.*, 2016), antimicrobial (Dzoyem *and al.*, 2014), anti-infectious diseases (Garandi *and al.*, 2018) activities.

The aim of the present study was to investigate the antianemic activity of these plants in wistar rats of the species *Rattus norvegicus*. As anemia is an aspect of the pathophysiology of sickle cell syndrome.

## **Material and methods**

### **Plant material**

The plant material consisted of the whole plant of *Rhynchospora corymbosa* and the aerial part of *Olox subscorpioidea*. These plants were collected in the departments of Korhogo (northern Côte d'Ivoire). They were harvested, washed, cut and then dried away from the sun rays at room temperature 25 to 30°C for three weeks, in a well-ventilated room. They were then reduced to powder using an electric grinder (Retsch sk 100). A decoction was made according to the method (Konkon *and al.*, 2006). One hundred grams (100g) of powder from each species of plant were separately put in one liter of distilled water and boiled (100°C) for 10 minutes. The obtained mixture was wrung out in a square of white cotton fabric, then filtered three times on absorbent cotton and once on Whatman paper (3mm). The filtrate was evaporated at 50°C using an oven. The powders obtained after evaporation were called DRC corresponding to *Rhynchospora corymbosa* and DOSA for *Olox subscorpioidea*. Distilled water was used for the decoction and physiological water (NaCl 0.9% buffer solution at pH 7. was used for the dilutions of the extracts during the experiment.

## **Animal material**

The animal material consisted of male and female rats of *Rattus norvegicus* (Muridae) of the Wistar strain. These animals came from the vivarium of the École Normale Supérieure (ENS) in Abidjan. They were fed daily with Ivorian Compound Food Manufacturing Company (FACI) pellets and water. There were 45 rats with a body weight between 150-230 g and aged 4 to 5 months. These rats were used to the antianemic test and to determinate some zootechnical parameters.

## **Antianemic test**

Anemia was induced by intraperitoneal administration of 40 mg/kg/bw of phenyl hydrazine (PHZ) for two days (D0 and D1). Animals with hemoglobin concentration <12 g/dL were considered anemic (Berger, 2007). Nine (9) groups of 5 rats were formed. the rats of the N or normal group (1) were given physiological water (NaCl 0.9%). The C or control group (2) received phenyl hydrazine and physiological water (NaCl 0.9%). The rats of R group or 3 received phenyl hydrazine and vitamin B9 syrup. The rats of groups 4, 5 and 6 received 200, 400 and 800 mg/Kg/bw of DRC respectively and the rats of groups 7, 8 and 9 received 200, 400 and 800 mg/Kg body weight of DOSA respectively.

The blood samples were collected on D0, D2, D7, D14 and D21 from the rats by incision of the tail before and after, the anemia was induced by intraperitoneal administration of 40 mg/kg/d of phenyl hydrazine for two days (D0 and D1). The method of (Leonard, 1986) was used. Physiological water, vitamin B9, DRC and DOSA were administered by gavage from D2 to D21. The collected blood of 1 mL was used for haematological tests: Red Blood Count (RBC), Hemoglobin (Hb) and packed cell volume or hematocrit (PCV). The hematological parameters were assayed on days D0, D2, D7, D14 and D21 in the nine groups of rats using an automatic blood cell counter (Sysmex KX 21) in the laboratory of the Pasteur Institute of Cocody. The rats of the nine groups were weighed before any sampling.

Zootechnical parameters values such as average weight (AW) and average daily gain (ADG) were determinate during this experiment (21 days). The effect of DRC and DOSA on these zootechnical parameters were studied.

### **Average Weight (AW)**

The Average Weight was determined by calculating the ratio of the sum of the weights of the individuals of the same batch by their number according to the following formula:

$$AW = \frac{\text{Sum of the weights of the individuals of the same group}}{\text{Total number of the group}}$$

### Average Daily Gain (ADG)

Using weights, we calculated the Average Daily Gain by calculating the ratio of the average gain during a period over the duration in days. The formula is as follows:

$$ADG = \frac{\text{Weight gain during a given period (g)}}{\text{Duration of period (Days)}}$$

### Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using GraphPad Prism software, version 9.3.1.471 (2021) (San Diego CA USA). Two-ways analysis of variance (ANOVA) was performed with this software. The hematological values were expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (M  $\pm$  SEM). The Analysis of variance and the Dunnet's test applicable to multiple comparisons of data were used for statistical analyses. The change in hematological parameters were considered significant at the threshold of  $P < 0.05$ .

For the significant difference the following notation is used:

- No significant ( ) :  $p > 0,05$  ;
- Low significant (\*) :  $p < 0,05$  ;
- Significant (\*\*) :  $p < 0,01$  ;
- Very significant (\*\*\*) :  $p < 0,001$  ;
- highly significant (\*\*\*\*) :  $p < 0,0001$ .

### Results and discussion

Effect of DRC on some zootechnical parameters:

**Table I.** Effect of DRC and DOSA on average weights of the rats (g)

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
G1 (Normal group)	162,67 $\pm$ 6,74	170,07 $\pm$ 4,19	177,77 $\pm$ 4,74	177,77 $\pm$ 7,65	179,33 $\pm$ 7,62
G2 (Control group)	149,73 $\pm$ 8,14	143,67 $\pm$ 13,86	152,20 $\pm$ 6,12	162,87 $\pm$ 11,77	165,67 $\pm$ 11,26
G3 (Refence group)	159,07 $\pm$ 10,91	154,53 $\pm$ 11,69	193,47 $\pm$ 4,65*	206,93 $\pm$ 4,19**	211,33 $\pm$ 2,96**
G4 (DRC 200)	154,67 $\pm$ 3,18	150,40 $\pm$ 5,18	160,50 $\pm$ 9,12	163,33 $\pm$ 8,66	169,67 $\pm$ 5,61
G5 (DRC 400)	156,67 $\pm$ 13,67	149,10 $\pm$ 15,21	160,13 $\pm$ 11,94	181,9 $\pm$ 4,22	185,67 $\pm$ 4,81
G6 (DRC 800)	153,00 $\pm$ 15,70	151,76 $\pm$ 14,68	164,60 $\pm$ 15,50	179,60 $\pm$ 8,33	189,67 $\pm$ 6,74
G7 (DOSA 200)	151,33 $\pm$ 7,80	145,46 $\pm$ 6,63	156,00 $\pm$ 3,05	161,00 $\pm$ 3,00	168,00 $\pm$ 7,00
G8 (DOSA 400)	150,25 $\pm$ 2,25	148,13 $\pm$ 1,88	162 $\pm$ 0,25	170,5 $\pm$ 5,75	182,5 $\pm$ 15,75
G9 (DOSA 800)	151,00 $\pm$ 3,00	141 $\pm$ 2,00	162 $\pm$ 2,00	175 $\pm$ 4,00	194,5 $\pm$ 0,50

**Table II.**Effect of DRC and DOSA on average daily gain (g)

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
G1 (Normal group)	0,00±5,86	4,55±5,04	9,28±5,38	13,38±4,98	18,44±4,96
G2 (Control group)	0,00±7,69	-4,05±10,63	1,65±6,87	8,77±9,84	10,64±6,63
G3 (Reference group)	0,00±9,70	-2,85±9,92	21,63±8,84	30,09±9,30	32,86±9,30
G4 (DRC 200)	0,00±2,91	-2,76±3,90	3,77±6,27	5,60±6,01	9,70±4,27
G5 (DRC 400)	0,00±12,34	-1,74±11,87	2,21±11,73	16,11±10,48	18,51±10,78
G6 (DRC 800)	0,00±14,51	-2,55±14,10	7,58±14,98	17,39±13,21	23,97±13,46
G7 (DOSA 200)	0,00±7,29	-3,88±6,62	3,08±5,68	6,39±5,83	11,01±7,36
G8 (DOSA 400)	0,00±2,12	-1,41±1,83	7,82±1,62	13,48±4,19	21,46±10,64
G9 (DOSA 800)	0,00±2,81	-6,62±2,28	7,28±2,51	15,89±3,51	28,81±2,58

Effect of DRC and DOSA on hematological parameters:

**Table III.** Effect of the DRC and DOSA on the red blood cell count ( $10^6/uL$ )

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
G1 (Normal group)	7.25±0.25	7.35±0.09	7.27±0.26	7.31±0.14	7.30±0.28
G2 (Control group)	7,75±0.20	3.12±0.7	4.70±0.09	5.20±0.39	5.95±0.27
G3 (Reference)	7,25±0.25	3.37±0.2	5.70±0.40	6.83±0.24	7.19±0.40
G4 (DRC 200)	7,75±0.25	3.4±0.46	4.85±0.69	6.71±0.46	7.15±0.02
G5 (DRC 400)	7,05±.015	3.11±0.06	4.30±0.32	6.02±0.20	7.03±0.18
G6 (DRC 800)	7.30±0.80	3.57 ± 0.32	5.04 ±0.45	6.61±0.12	7.12±0.06
G7 (DOSA 200)	7,85±0,35	3,44±0,22	4,42±0,55	6,23±0,50	7,20±0,10
G8 (DOSA 400)	7,17±0,17	3,21±1,32	3,97±0,29	6,110,82	7,25±0,25
G9 (DOSA 800)	7.00±0,50	3,46±1,05	4,22±0,20	6,08±0,11	7,23±0,48

**Table IV.**Effect of the DRC and DOSA on the hemoglobin rate (g/dL)

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
G1 (Normal group)	12.65±0.15	12.46±0.77	12.83±0.22	12.29±0.26	12.93±0.5
G2 (Control group)	13.10±0.90	6.73±0.62	9.6±0.06	10.4±0.33	11.96±0.31
G3 (Reference group)	12.90±0.10	6.9±0.13	10.50±0.46	14.06±0.28	14.96±0.57
G4 (DRC 200)	12.70±0.30	6.43±0.48	10.40±0.86	12.93±0.64	12.86±0.51
G5 (DRC 400)	12.70±0.30	6.03±0.31	10.23±0.44	13.13±0.45	13.41±0.24
G6 (DRC 800)	12.98±0.05	6.66±0.51	10.20±0.46	13.16±0.35	14.66±0.16
G7 (DOSA 200)	12,67±0,44	6,70±1,21	10,00±0,10	12,50±0,10	12,25±0,05
G8 (DOSA 400)	12,33±0,67	7,83±1,39	11,47±0,68	11,25±0,05	13,95±0,15
G9 (DOSA 800)	12,75±0,25	6,90±0,70	10,43±0,94	12,65±0,15	14,10±0,40

**Table V.** Effect of the DRC and DOSA on the hematocrit rate (%)

Lots	J0	J2	J7	J14	J21
G1 (Normal group)	43.00±0.00	42.93±1.08	43.66±1.02	43.03±1.31	43.96±1.35
G2 (Control group)	43.00±20.00	22.03±1.64	32.36±1.44	37.53±1.55	38.76±1.57
G3 (Reference group)	43.00±2.08	22.10±1.40	36.60±1.73	46.23±0.95	46.46±0.95
G4 (DRC 200)	41.00±40.00	22.23±1.28	36.10±1.60	42.63±0.95	43.73±1.15
G5 (DRC 400)	41,50±3.50	21.96±0.35	33.26±1.02	42.63±0.95	43.3±0.66
G6 (DRC 800)	41,50±6.50	22.03±0.95	34.86±0.95	42.76±1.08	43.23±0.84
G7 DOSA 200	44,50±0,50	21,75±2,54	40,07±2,40	48,71±1,15	46,96±3,70
G8 DOSA 400	40,50±0,50	32,66±4,75	33,04±8,01	42,17±0,12	49,87±5,93
G9 DOSA 800	44.00±1,00	26,25±8,62	33,97±13,45	50,35±0,24	45,54±12,44

The aim of this study was the assessment of the antianemic activity of two medicinal plants used in traditional medicine in northern Côte d'Ivoire. *Rhynchospora corymbosa* known under the vernacular names of "Lôwonne or Tchang and Kômourouni" in Sénoufo and Malinké respectively and *Olox subscorpioidea* known as "Nimbôchi or Korogbé" in Malinké. The decoction was chosen as the extraction mode because of its strong use in the preparation of herbal medicines. (Bla *and al.*, 2015) indicated that the decoction is the most requested mode of preparation (65.38%). Moreover, the results (Gnagne *and al.*, 2017) showed that the decoction is used at 88.2%. The phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, catechin tannins, polyterpenoid, sterols and saponins in DRC. Also, (Soro *and al.*, 2021) highlighted the presence of polyphenols, flavonoids, leuco-anthocyanins, alkaloids, saponins and steroids in DOSA. These chemical groups have been proved to exhibit biological activities. Indeed, phenolic compounds such as catechin tannins are known for their antioxidant properties (Ebrahimzadeh *and al.*, 2010). These antioxidant compounds could, activate the immune defense and protect erythrocytes against the oxidation of membrane proteins and lipid peroxidation (Mpondo *and al.*, 2012). According to (Létapin, 2016), the consumption of tannin-rich plants in small ruminants seems to represent an alternative in order, to anthelmintics to control gastrointestinal nematodes and make the skin resistant to internal parasites. Parasites such as ticks cause up to 37% anemia in cattle (Azokou *and al.*, 2016). As for saponins, they would have antifungal, antibacterial and antiviral properties. They would also present protective activities of veins and capillaries (Macheix *and al.*, 2005). In addition to these compounds, alkaloids have antibiotic, antiparasitic and analgesic activities (Koua *and al.*, 2018) and would also have an effect on the central nervous system (Bruneton *and al.*, 2009). Finally, terpenoids and steroids derived from terpenoids constitute the largest known set of secondary

plant metabolites (Yamunadevi *and al.*, 2011). Steroids are secondary metabolites known for their analgesic and cardiotoxic properties, regulate protein and carbohydrate metabolism, increase muscle and bone synthesis (Bruneton *and al.*, 2009). Note that polyphenols, flavonoids, leucoanthocyanins and quinones are absent in DRC. Quinones are also absent in DOSA. With regard to the effect of DRC and DOSA on the zootechnical parameters (average weight and average daily gain) of the rats, the results revealed that all the T-group showed a gradual increase in the weight of the rats throughout the experiment. The results in Table I shows the evolution of the average weight of the rats. The body weight of all animals, at the initial time, ranged from  $149.73 \pm 8.14$  to  $162.67 \pm 6.74$  grams. There is low significant difference ( $p < 0.05$ ) between the average weights of N-group compared to the other groups at D0 and D2. At week three (Day 21) the groups R and T recorded an increased average weight of  $32.86 \pm 9.30\%$  for R-group,  $9.70 \pm 4.27\%$  for DRC 200 ;  $18.51 \pm 10.78\%$  for DRC 400 ;  $23.97 \pm 13.46\%$  for DRC 800 ;  $11.01 \pm 7.36\%$  for DOSA 200 ;  $21.46 \pm 10.64\%$  for DOSA 400 ;  $28.81 \pm 2.58\%$  for the DOSA 800 compared to the C-group which was  $10.64 \pm 9.63\%$ . The increased average weight in T-groups was concentration dependant. This observation could attest that DRC and DOSA have a positive effect on the average weight growth of rats. This same trend was observed with the values of the average daily gain. The table II shows the evolution of the Average Daily Gain (ADG) of the weight of the rats in the T-groups compared to the C-groups during the 21<sup>th</sup> days of the experiment. On the first day (J0), the average daily gain were  $0.00 \pm 7.69$ ,  $0.00 \pm 9.70$ ,  $0.00 \pm 2.91$ ,  $0.00 \pm 12.34$ ,  $0.00 \pm 14.51$ ,  $0.00 \pm 7.29$ ,  $0.00 \pm 2.12$  and  $0.00 \pm 2.81\%$  respectively for C-group ; R-group, DRC 200, DRC 400, DRC 800, DOSA 200 ; DOSA 400 and DOSA 800 compare to that of N-group which was  $0.00 \pm 5.86\%$ . These values were almost zero in all groups. On day (J21), the average daily gain recorded were  $1.56 \pm 0.44$  ;  $0.46 \pm 0.20$  ;  $0.88 \pm 0.51$  ;  $1.14 \pm 0.64$  ;  $0.52 \pm 0.35$  ;  $1.02 \pm 0.51$  ;  $1.37 \pm 0.12\%$  for R-group, DRC 200, DRC 400, DRC800, DOSA 200, DOSA 400 and DOSA 800 compared to the C-group which was  $0.51 \pm 0.32\%$  (table II). DRC and DOSA acted in a dose-response manner because the more the dose increases the more average weight increases, the better growth was observed with the rats of R-group. DRC and DOSA are beneficial on the weight evolution. This could, also, confirm the safety of DRC and DOSA which could be a food supplement for rats. The chemical composition of *Rhynchospora corymbosa* plants could indicated these observed beneficial effects. Indeed, for Létapin (2016), plants rich in tannins have beneficial effects in terms of weight gain and contribute to better milk and wool production in animals.

The haematic potential effect of DRC and DOSA in comparison to control and reference groups is shown in Tables II, IV and V. Values are mean

for  $n=5$ . The baseline values in control animals were  $7.75 \pm 0.20$  T/L;  $13.10 \pm 0.90$  g/dL;  $43.00 \pm 2.00\%$  for RBC, Hb and hematocrit percentage respectively. The administration of PHZ caused a decrease in red blood cells count, hemoglobin and hematocrit percentages. Indeed, on Day 2 we had  $3.12 \pm 0.70$  T/L (59.74 % reduction),  $6.73 \pm 0.62$  g/dL (48.62 % reduction) and  $22.10 \pm 1.49$  (48.60 % reduction) for the red blood cells count, hemoglobin and hematocrit percentages respectively. Our results are in line with those of (Gbenou *and al.*, 2006). These authors observed a decrease in the number of red blood cells, hemoglobin and hematocrit percentages after the administration of PHZ. According to (Sheth *and al.*, 2021), PHZ causes hemolytic anemia in rats. Indeed, phenylhydrazine caused oxidative stress by production of free radicals. So lipid peroxidation is generated, which induces red blood cells lysis (Zangeneh *and al.*, 2019). However, it should be noted that the anemia induced by PHZ is reversible. Indeed, after treatment with DRC and DOSA at concentrations of 200, 400 and 800 mg/kg/BW, a restoration of the hemoglobin level, the red blood cells count and the hematocrit percentage to normal was observed compared to rats that did not receive phenyl hydrazine. In other words, PHZ does not destroy the stem cell producing blood cells (Berger, 1986).

Rats of T groups were given 200,400 and 800mg/kg bw of DRC and DOSA respectively after induction of anemia by phenylhydrazine. The administration of both extracts and vitamin B9 allowed a significant increase of the RBC count, hemoglobin (Hb) level and the hematocrit percentage from the 7th day of treatment up to D21 compare to the N and C groups. Indeed, from D2 to D21 the tables III, IV and V showed the following results :  $3.4 \pm 0.46$  to  $7.15 \pm 0.02$  T/L,  $6.43 \pm 0.48$  to  $12.86 \pm 0.51$ g/dL ,  $22.23 \pm 1.28$  to  $43.73 \pm 1.15\%$  for RBC count, hemoglobin (Hb) level and the hematocrit percentage respectively for DRC T-200.  $3.44 \pm 0.22$  to  $7.20 \pm 0.10$  T/L,  $6.70 \pm 1.21$  to  $12.25 \pm 0.05$ g/dL ,  $21.75 \pm 2.54$  to  $46.96 \pm 3.70\%$  for RBC count, hemoglobin (Hb) level and the hematocrit percentage respectively for DOSA T-200. The concentrations of 200, 400 and 800 mg/mL of both extracts have restored the anemia in rat by increasing RBC count, hemoglobin (Hb) level and the hematocrit percentage. (Soro *and al.*, 2021) about chemical analysis on DRC and DOSA revealed the presence of alkaloids and phenolic compounds which are known for their anti-anemic activity. II Indeed, alkaloids, flavonoids have antioxidant activity which prevent and repair the free radicals ations on the erythrocytes by enhancing the resistance of RBC to hemolysis (Itodo *and al.*, 2011); (Gui *and al.*, 2019). So according to Turaskar *and al.*, (2013) those compounds reverse anemic conditions. For example, alkaloids inhibit cyclic adenosine monophosphate (cAMP). However, the results of this treatment by DRC and DOSA was inversely proportional to the extracts concentrations. The more the concentrations increased, the more the RBC count and the

hematocrit percentage decreased and the more hemoglobin level decreased. Also, the phytochemical screening performed by Soro *and al.*, (2021) on DRC and DOSA revealed the presence of saponins. This compound is known to denature the membrane structure of erythrocytes, thus increasing the hemolysis of the RBC. The more DRC and DOSA concentrations increase, the higher saponins content and the slower the regeneration of RBC occurs and the hematocrit percentage increases. On D21, the RBC count were  $7.15\pm 0.02$ ,  $7.12\pm 0.06$ ,  $7.20\pm 0.02$  and  $7.23\pm 0.48$  for DRC-200, DRC-800, DOSA-200 and DOSA-800 respectively (Gui *and al.*, 2019) ( table III).

Despite the presence of saponins, others phytochemicals such as polyphenols and alkaloids presents in DRC and DOSA may have contributed to PHZ-induced hemolysis inhibition. (R-Tiendrebeogo *and al.*, 2019) showed in their study that the anti-hemolytic and anti-lipid peroxidation activity of *Ficus sycomorus* were due to the antioxidant activity of phenolic compounds. Also, Yenon *and al.*, (2015) showed that the anti-anemic activity of *E.angolense* bark was linked to the presence of these compounds.

The Literature alleged that one of the clinical signs of sickle cell disease is anemia and one of the therapeutic means sought is transfusion therapy (Lemonne *and al.*, 2013); (Stuart *and al.*, 2019). DRC and DOSA by increasing hemoglobin, hematocrit and red blood cell count could help sickle cell patients prevent anemia associated with sickle cell disease.

## Conclusion

The whole plant of *Rhynchospora corymbosa* and the aerial part of *Olax subscorpioidea* significantly increased the the RBC count, hemoglobin level and hematocrit percentage in phenyl hydrazine anemic-induced rats. This anti-anemic activity could be related to the antioxidant properties characterized by the presence of phenolic compounds. The use of *Rhynchospora corymbosa* and *Olax subscorpioidea* in traditional area to fight anemia related to sickle cell disease could be justified.

## References:

1. Azokou A., Achi Y. et Koné W. (2016). Impact des tiques sur les bovins métissés dans le nord de la Côte d'Ivoire. *Bulletin of animal heath production in africa*, , 60(2) : 109-118
2. Bachir N. (2020). Contribution à l'étude des propriétés des huiles essentielles extraites à partir des plantes médicinales utilisées contre l'anémie. Mémoire de Master, Université de Biskra (Algérie), p 138.
3. Berger J. (2007). Hématotoxicité de la phénylhydrazine *J. Appliqué. Biomed* , 5(2): 125-130.
4. Beucher G, Grossetti E, Simonet T, Leporrier M, Dreyfus M. (2011). Anémie par carence martiale et grossesse. Prévention et traitement. J

- Gynecol Obstet & Biol Reprod. 40(3):185-200.
5. Bla Kouakou et al.. (2015). J. Appl. Biosci. Étude ethnopharmacologique des plantes antipaludiques utilisées chez les Baoulé- N'Gban de Toumodi dans le Centre de la Côte d'Ivoire, *Journal of Applied Biosciences*, 85:7775– 7783 ;
  6. Bruneton J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, *Tec & DocÉditions médicales internationales*, 1288 p: ISBN 978-27430-1188-8.
  7. Cantrell CL, Berhow MA, Phillips BS, Duval SM, Weisleder D. (2003). Vaughn SF Bioactive crude plant seed extracts from the NCAUR oilseed repository. *Phytomedicine*, 10(4):325–333. <https://doi.org/10.1078/094471103322004820>
  8. Coulibaly A., Boua G., N'guessan O. et Nahounou B. (2020). Evaluation of *Moringa Oleifera* Lam Leaves (*Moringaceae*) Diets against Induced Anemia in Wistar Rats, *EAS journal of nutrition and food science*, 2 (3): 101- 106
  9. De Benoist B, McLean E, Egli I, Gogswell M. (2008). Worldwide prevalence of anemia 1993- 2005. WHO Global Database on Anaemia. WHO.
  10. Dupont C. (2017). Prévalence carence en fer. *Elsevier*, 24 : 45-48
  11. Dupouy-Manescau N. (2020). La transfusion sanguine chez les carnivores domestiques : étude rétrospective sur 162 chiens et 125 chats présents au CHUVAC ENVV entre 2013 et 2020. Thèse de Docteur, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse (France), 122 p.
  12. Dzoyem JP, Tchuenguem RT, Kuate JR, Teke GN, Kechia FA, Kuete V. (2014). In Vitro and In Vivo antifungal activities of selected Cameroonian dietary spices. *BMC Complement Altern Med*, , 14(1):58. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-58>
  13. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F., Bahramian, F. & Bekhradnia, A.R. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. Officinalis* L. Var *Angustifolius*, *V. Odorata*, *B. hyrcana* et *C. (2010). Speciosum*. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 23 (1): 29-34.
  14. Garandi B, Fankam AG, Nayim P, Wamba BEN, Mbaveng AT, Kuete V. (2018). Anti-staphylococcal activity and antibiotic-modulating effect of *Oxalis subscorpioidea*, *Piper guineense*, *Scorodophloeus zenkeri*, *Fagara lepreurii*, and *Monodora myristica* against resistant phenotypes. *Investig Med Chem Pharmacol*, 1(2):1–10. <https://doi.org/10.31183/imcp.2018.00017>
  15. Gbenou D., Richard T., Pierre D., Michael F. et Mansourou M. (2006). Etude des propriétés antianémiques de *justicia secunda* vahl (*acanthaceae*) chez des rats de souche wistar. *Pharm Méd Trad Afr*, (14) : 45-54.

16. Gnagne et al., (2017). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans le Département de Zouénoula (Côte d'Ivoire) *Journal of Applied Biosciences* , 113: 11257-11266
17. Gui, P. A., Bahi, C., Kamou, K. R., Tiekpa, W. J., Gnaléi, R. M., Djyh, N., & Coulibaly A. (2019). Study of antianemic properties of *Parquetina nigrescens* (Apocynaceae) in wistar rats. *The Journal of Phytopharmacology*, 8(5), 216-219.
18. Inkoto L, Bongo N, Kapepula M, Masengo A, Gbolo Z, Tshiana C, Ngombe K, Iteku B, Mbemba F, Mpiana P. et Ngbolua K. (2018). Microscopic features and chromatographic fingerprints of selected congolese medicinal plants: *Aframomum alboviolaceum* (Ridley) K. Schum, *Annona senegalensis* Pers. and *Mondia whitei* (Hook. f.) Skeels, *Emergent Life Sciences Research*, 4: 1-10.
19. Itodo AU, Gafar MK, Hassan LG Dangoggo SM. (2011). Amino acid estimation and phytochemical screening of *Indigofera astragolina* leaves. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2011, 2(5):277-285. I
20. Kerharo J. & Bouquet.A., (1950). plantes médicinales et toxiques.de la Côte d'Ivoire-Haut-Volta. *Vigot – Frères, Paris (France)*,; p. 138
21. Konkon N., Simaga D., Adjoungova A., N'guessan.,Zirihi G. et Kone B. (2006). Etude phytochimique de *mitragyna inermis* (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante à feuille antidiabetique, *Pharm Méd Trad Afr*, 14 : 73-80 p.
22. Koua K., Irié N., Effe K., Kouakou S., Ayoman T., Tetchi A. et Yapi H. (2018). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Crinum scillifolium* Extracts in Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry and Biophysics* , , 6(4): 77-82.
23. Lemonne, N., Lamarre, Y., Romana, M., Mukisi-Mukaza, M., Hardy-Dessources, M.-D., Tarer, V., et al. (2013). Does increased red blood cell deformability raise the risk for osteonecrosis in sickle cell anemia? *Blood* 121, 3054–6.
24. Leonard E. (1986). Is ethanol a neurotoxin ? The effects of ethanol on neuronal structure and function. *Alcoholism*; 21 : 325-38.
25. Létapin C. (2016). Méthodologie de quantification des tannins condensés dans les ressources tropicales. Rapport de stage, Université des Antilles (Antilles), 27 p.
26. Levy T., De la cruz gongora V. et Villalpando S. (2016). Anemia: Causes and Prevalence, *Encyclopedia of Food and Health*, 156-163 p.
27. Macheix, J.J., Fleuriet, A. & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économic. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR) : Lausanne, Suisse*.

28. Mpondo, M. E., Dibong, S.D., Ladoh, Y.C.F., Priso, R.J. & Ngoye, A. (2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 15: 2083-2098.
29. MSHP (2016), Enquête de prévalence parasitaire du paludisme et de l'anémie, (EPPD- CI) p51
30. Odoma S, Zezi AU, Danjuma NM, Ahmed A, Magaji MG. (2016). Elucidation of the possible mechanism of analgesic actions of butanol leaf fraction of *Olax subscorpioidea* Oliv. *J Ethnopharmacol*, 199:323–327. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.052>
31. Okoro OC, Alope C, Ibiam UA, Obasi NA, Orji OU, Ogonnia EC. And al., (2021) Studies on Ethanol Extracts of *Olax subscorpioidea* Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats., *Pakistan Journal of Biological Sciences: Volume 24 (6): 724-732*,
32. Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). (2013). La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture en 2013 : mettre les systèmes alimentaires au service d'une meilleure nutrition. Rome (Italie) :FAO. 114 p. [Visité le 14/1/2018]. En ligne : <http://www.fao.org/docrep/018/i3300e/i3300e.pdf>
33. Popoola TD, Awodele O, Omisanya A, Obi N, Umezina C, Fatokun AA. (2016). Three indigenous plants used in anticancer remedies, *Garcinia kola* Heckel (stem bark), *Uvaria chamae* P. Beauv. (root) and *Olax subscorpioidea* Oliv. (root) show analgesic and anti-inflammatory activities in animal models. *J Ethnopharmacol*, 194:440–449. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.046>
34. Righetti A., Koua A. et Adiossan L. (2012). Etiology of anemia among infants, school-aged children, and young non-pregnant women in different settings of South-Central Cote d'Ivoire, *Trop Med Hyg*, 87: 425–34
35. R-Tiendrebeogo et al., . (2019). Plantes sahéliennes adaptées dans la récupération des terres dégradées et leurs usages pour la santé : cas de la province du Soum au Nord du Burkina Faso . *Journal of Animal & Plant Sciences (J.Anim.Plant Sci. ISSN 2071-7024)*, Vol.41 (1): 6767-6783. <https://doi.org/10.35759/JAnmPISci.v41-1.4>
36. Sheth A., Pawar A., Mote C. et More C. . (2021). Antianemic activity of polyherbal, *Raktavardhak kadha*, against phenylhydrazine- induced anemia in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 12: 340-345 p.
37. Soro M, Akakpo-Akue J, Ackah JAAB, Sibiri JF, Yapi YG, Kple TKM. . (2021). Effect of *Rhynchospora corymbosa* and *Olax subscorpioidea* two plants used in the management of Korhogo sickle cell disease. *J Phytomedicine* 10(1):1-6

38. Stuart, M.J., and Nagel, R.L. (2004). Sickle-cell disease. *Lancet* 364: 1343–1360. Sugihara, K., Sugihara, T., Mohandas, N., and Hebbel, R.P. Thrombospondin mediates adherence of CD36+ sickle reticulocytes to endothelial cells. *Blood*, 80: 2634–42.
39. Turaskar A., More S., Sheikh R., Gadhpayle J., Bhongade S. L and Shende V. (2013). Inhibitory potential of picrorhiza kurroa royle ex. Benth extracts on phenylhydrazine induced reticulocytosis in rats., *Academic Sciences, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2013, Vol 6, Suppl 2,
40. Vert C. (2019). prise en charge de l’anemie par carence martiale chez des patients beneficant d’une chirurgie colorectale carcinologique, De la faculté des sciences pharmaceutiques de l’université paul sabatier. Université talouse
41. Yamunadevi, M., Wesely, E.G. & Johnson, M. (2011). Phytochemical studies on the terpenoids of medicinally important plant *Aerva lanata* L. using HPTLC. *A.Pacific J. of Trop.Biomedicine*. S220-S225.
42. Yenon A., Yapi H., Gnahoue G., Yapo A., Nguessan J. et Djaman A. (2015). Anti- anaemic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Entandrophragma angolense* bark on phenylhydrazine- induced anaemic rats. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 5(3): 12-21.
43. Zangeneh, M.M., Zangeneh, A., Salmani, S. *et al.*, (2019). Protection of phenylhydrazine-induced hematotoxicity by aqueous extract of *Ocimum basilicum* in Wistar male rats. *Comp Clin Pathol* 28, 331–338 <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2845-8>

## Résumé

Une étude prospective a été réalisée dans la région de Poro (Korhogo). Les recherches nous ont permis de déceler les plantes médicinales utilisées dans le traitement de la drépanocytose en milieu traditionnel. Les espèces végétales *Rhynchospora corymbosa* et *Olax subscorpioidea* ont été retenues pour cette étude. Pour apporter des preuves scientifiques, cette étude s'est fixée pour objectif de réaliser un triphytochimique, les tests de toxicités, l'activité sur l'inhibition de la polymérisation, l'inhibition de la falciformation des érythrocytes de génotypes SS, les activités antianémique, antiinflammatoire et analgésique. Le décocté de chacune des espèces a fait l'objet d'une évaluation. Une abondance d'alcaloïdes, de tanins, de saponines, de polyterpènes et des stérols a été trouvée dans le décocté de *Rhynchospora corymbosa* (DRC). Quant au décocté de *Olax subscorpioidea* (DOSA), les polyphénols, leuco-anthocyanes et les flavonoides ont été retrouvés en plus des alcaloïdes, des tanins cathéchiques, des saponines des polyterpènes et des stérols. Ces groupes chimiques seraient sollicités dans le traitement de la drépanocytose. Ces extraits inhibent la polymérisation et la falciformation des érythrocytes de génotype SS à 0,312 mg/mL. A 800 mg/kg p.c, DOSA et DRC présentent des activités antianémiques, antiinflammatoire et analgésique très importantes *in vivo*. A une concentration supérieure à 0,3125 mg/mL, ces extraits provoqueraient la lyse des cellules sanguines *in vitro*. Les études toxicologiques ont montré que les extraits (DRC et DOSA) ne sont pas toxiques *in vivo* à 1600 mg/kg p.c.

L'utilisation de *Rhynchospora corymbosa* et de *Olax subscorpioidea* pour la prise en charge de la drépanocytose dans le nord de la Côte d'Ivoire est justifiée.

**Mots clés :** falciformation, drépanocytose, inhibition, polymérisation, *Rhynchospora*, *Olax*

## SUMMARY

A prospective study was carried out in the Poro region (Korhogo). The research allowed us to identify medicinal plants used in the treatment of sickle cell disease in traditional settings. The plant species *Rhynchospora corymbosa* and *Olax subscorpioidea* were selected for this study. To provide scientific evidence, this study set itself the objective of performing a triphytochemical, toxicity tests, activity on polymerization inhibition, inhibition of sickling of erythrocytes of SS genotypes, antianemic, antiinflammatory and analgesic activities. The decocted of each species was assessed. An abundance of alkaloids, tannins, saponins, polyterpenes and sterols has been found in the decoctate of *Rhynchospora corymbosa* (DRC). As for the decoctate of *Olax subscorpioidea* (DOSA), polyphenols, leucoanthocyanins and flavonoids were found in addition to alkaloids, catechic tannins, saponins, polyterpenes and sterols. These chemical groups would be solicited in the treatment of sickle cell disease. These extracts inhibit the polymerization and sickling of SS genotype erythrocytes at 0.312 mg/mL. At 800 mg/kg bw, DOSA and DRC have very important antianemic, anti-inflammatory and analgesic activities *in vivo*. Toxicological studies have shown that the extracts (DRC and DOSA) are not toxic *in vivo* at 1600 mg/kg b.w. The use of *Rhynchospora corymbosa* and *Olax subscorpioidea* for the management of sickle cell disease in northern Côte d'Ivoire is justified.

**Keywords:** sickling, sickle cell disease, inhibition, polymerization, *Rhynchospora*, *Olax*