

Evaluation de l'activité antidrèpanocytaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la République Démocratique du Congo et de Madagascar

Ngbolua K.N.^{1,2,3}, Mudogo V.^{2*}, Mpiana P.T.², Malekani M.J.¹, Rafatro H.³, Urverg Ratsimamanga S.³, Takoy L.¹, Rakotoarimana H.³, Tshibangu D.S.T.²

R
É
S
U
M
É

La présente étude a été réalisée dans le but d'identifier et de valider scientifiquement les taxons végétaux à propriétés antidrèpanocytaires et antipaludiques. A cet effet, des enquêtes ethnobotaniques ont été réalisées en République Démocratique du Congo et les plantes les plus citées ont été sélectionnées et soumises à un criblage pharmacologique (tests antidrèpanocytaires, test antiplasmodial *in vitro* et *in vivo*, test de toxicité *in vitro* et *in vivo*). Dans un deuxième temps, en se basant sur le principe de la chimio-taxonomie, les équivalences taxonomiques des plantes antipaludiques sélectionnées en RDC ont été récoltées à Madagascar puis soumises aux différents tests biologiques. Il ressort de cette étude que l'activité antidrèpanocytaire des plantes testées est due aux anthocyanes et aux acides organiques (acide lunularique). Les plantes récoltées en RDC sont plus actives *in vitro* alors que celles récoltées à Madagascar sont au contraire plus actives *in vivo*. Ces résultats indiquent que la grande activité antidrèpanocytaire des anthocyanes serait due d'une part à leur acylation aux acides organiques, et d'autre part, l'activité antiplasmodiale peut être utilisée comme marqueur phénotypique pour comprendre l'évolution biologique et la relation phylogénétique entre les plantes médicinales de l'Afrique et de Madagascar. En outre, le développement d'un phytomédicament à base des plantes bioactives sélectionnées par bio-guidage peut constituer une meilleure alternative dans la prise en charge de la drèpanocytose et du paludisme.

Mots clés : Drèpanocytose, paludisme, plantes afro-malgaches, marqueur phénotypique, phytomédicament.

INTRODUCTION

Le paludisme constitue un grave problème de santé publique en régions tropicales et en particulier en République Démocratique du Congo. Son aire de distribution coïncide avec celle de la drèpanocytose (Mpiana *et al.*, 2007a ; b). L'histoire naturelle du paludisme révèle que l'homme, vivant dans un même biotope que le vecteur du *Plasmodium falciparum*, aurait co-évolué aussi bien avec le vecteur que le parasite en développant une mutation ponctuelle faux sens au niveau du gène de la famille β globine situé sur le bras court du chromosome 11. Le gène β^S responsable de cette mutation lui aurait permis d'acquérir une immunité naturelle antipaludique à l'état hétérozygote AS. Cependant, à l'état homozygote SS, ce gène est à la base de la drèpanocytose. C'est ainsi que les fréquences élevées du gène β^S qui gouverne le caractère drèpanocytaire surviennent dans les régions du monde où le paludisme est (ou fut dans le passé) à l'état endémique justifiant son rôle protecteur (Ngbolua *et al.*, 2010 ; 2011). A l'heure actuelle, ces deux maladies sont devenues un problème international à cause du flux migratoire et du brassage des gènes au sein des populations.

La situation épidémiologique de ces deux maladies dans le monde aujourd'hui est caractérisée par plusieurs faits majeurs :

- ☛ l'émergence de la chimiorésistance du *Plasmodium falciparum* aux antipaludéens usuels
- ☛ l'absence d'une chimiothérapie antidrèpanocytaire efficace sur le plan clinique et de marqueur génétique ou clinique précoce prédictif de la gravité individuelle
- ☛ le coût élevé des produits antipaludiques disponibles et la prise en charge classique de drèpanocytaires reposant sur des

Contact

1. Département de Biologie,
2. Laboratoire des Substances Naturelles et Chimie Médicinale, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, B.P.190 Kinshasa XI, République Démocratique du Congo
3. Laboratoire de Criblage Pharmacologique des Plantes, Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA), Fondation Albert Rakoto-Ratsimamanga, B.P. 38 33 Avarabohitra Itaosy – 102 Antananarivo, Madagascar

* Correspondance : mudogov@yahoo.fr

Plantes antidrépanocytaires et antipaludiques

traitements lourds avec leurs risques propres (toxicité, incompatibilité érythrocytaire, réaction greffon contre hôte (Mpiana *et al.*, 2007 a ; c). D'où la nécessité d'une thérapeutique alternative. La meilleure solution consiste aujourd'hui à intégrer des médications à base des plantes dans les systèmes de santé d'Afrique comme alternative thérapeutique.

En Afrique, tout comme dans d'autres régions d'endémie drépanocytaire et palustre, la difficulté d'accéder aux soins de santé primaire, l'insuffisance et la mauvaise répartition du personnel médical de même que les comportements socioculturels font que plus de 80% de la population recourent à la médecine traditionnelle pour se prendre en charge (Ngbolua *et al.*, 2011 a ; b). C'est dans ce cadre que l'approche ethnopharmacologique est une voie très prometteuse en ce sens que la quinine et l'artémisinine (deux molécules têtes de série) ont été extraites de plantes utilisées en médecine traditionnelle contre le paludisme. Ainsi, il est intéressant d'orienter la recherche vers les ressources phytogénétiques car elles garantissent en outre le libre accès au traitement.

Madagascar et la République Démocratique du Congo (dont 62% du territoire sont couverts par la forêt, représentant 57,5% de superficie totale du bassin du Congo) constituent des zones de choix pour la recherche de nouvelles molécules. En effet, les forêts tropicales de ces deux pays sont de vastes réservoirs d'espèces végétales susceptibles de fournir des molécules bioactives têtes de série ou des molécules qui serviraient de matrice pour la synthèse des dérivés plus actifs «hits». Ou encore des plantes pouvant servir à la formulation de phytomédicaments. L'étude des plantes de ces deux pays est d'autant plus avantageuse qu'elle pourrait, par la localisation géographique, la composition des sols et les conditions climatiques, présenter une originalité pharmacognosique (Ngbolua *et al.*, 2011 a ; b).

L'objectif de ce travail est de recenser les savoirs thérapeutiques traditionnels et promouvoir le développement des médicaments traditionnels améliorés contre la drépanocytose et le paludisme.

Nous comptons pour cela :

- ☛ valider scientifiquement le bien-fondé de l'usage traditionnel de quelques plantes congolaises (efficacité clinique) dans le traitement de la drépanocytose et du paludisme (approche ethnopharmacologique)
- ☛ identifier le(s) principe(s) actifs antidrépanocytaires et en proposer le(s) mécanisme(s) d'action
- ☛ rechercher systématiquement l'activité antiplasmodiale dans les écotypes malgaches des plantes utilisées en République Démocratique du Congo contre le paludisme (approche chimio-taxonomique)
- ☛ évaluer la toxicité de ces plantes en vue de garantir leur sécurité d'utilisation (innocuité)
- ☛ tester l'efficacité des extraits de plantes sur quelques souches bactériennes en vue de vérifier la spécificité des taxons végétaux bioactifs vis-à-vis du *Plasmodium falciparum*.

L'intérêt de notre étude est évident, d'abord en cas de validation des propriétés antidrépanocytaires et/ou antipaludiques des

plantes, les connaissances traditionnelles et la technologie moderne de pharmacologie et de chimie seront intégrées en vue de développer des phytomédicaments efficaces et non toxiques pour lutter contre la drépanocytose et le paludisme, deux maladies qui aggravent la pauvreté en Afrique.

Ensuite, l'étude permettrait d'apporter un éclairage nouveau dans la compréhension de l'évolution biologique et la relation phylogénétique entre les plantes médicinales de l'Afrique et de Madagascar. Ceci, en utilisant l'activité antipaludique comme marqueur phénotypique pour la traçabilité de la filiation génétique.

MATERIEL ET METHODES

L'extractothèque des plantes antipaludiques a été évaluée *in vitro* par le micro test isotopique sur les souches de *Plasmodium falciparum* FcM29 en culture continue sur globule rouge en suspension dans le RPMI 1640 contenant du sérum humain. Le test antiplasmodial *in vivo* a été réalisé sur un modèle de paludisme de rongeur décrit par Peters en utilisant le *Plasmodium yoelii* N67 var *nigeriensis*. La cytotoxicité a été évaluée sur les lignées cellulaires P388. Les tests de toxicité *in vivo* et antibactérien ont été réalisés respectivement sur les souris albinos suisses et sur des souches de la collection ATCC (American type culture collection) (Ngbolua *et al.*, 2011a ; b). Par contre, l'extractothèque des plantes antidrépanocytaires a été évaluée en recourant aux tests de falciformation, de polymérisation de l'hémoglobine S, de fragilité osmotique, d'hémolyse, anti radicalaire en utilisant le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH°) et le rapport Fe^{++}/Fe^{+++} (Mpiana *et al.*, 2007a, c, d ; 2008-2010). La structure moléculaire de l'acide lunularique a été déterminée en combinant les méthodes chromatographiques, spectroscopiques et physicochimiques (point de fusion) (Rakotoarimanana *et al.*, 2008).

RESULTATS

1. La drépanocytose

1.1. Développement et validation d'un nouveau test de criblage de sang drépanocytaire

La technique de dénaturation thermique (Figure 1) mise au point dans cette étude contrairement à l'électrophorèse permet de mieux dépister la drépanocytose. En effet, le paramètre recherché (température de transition) est calculé de façon objective par un logiciel informatique (Ngbolua *et al.*, 2010 ; 2011).

1.2. Activités antidrépanocytaires *in vitro*

La figure 2 montre qu'il s'agit effectivement du sang SS. En effet, on peut y observer des nombreux érythrocytes falciformes. En considérant les cellules falciformes comme un ellipsoïde de

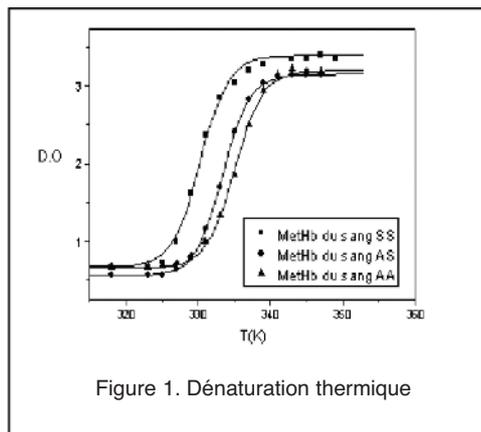


Figure 1. Dénaturation thermique



Figure 2. Sang SS non traité (témoin) (NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

révolution, on peut chiffrer le caractère plus ou moins allongé des drépanocytes grâce au paramètre que l'on appelle « ellipsoïdité ». Chez les sujets drépanocytaires où l'ellipsoïdité est fortement augmentée à cause de la falciformation des érythrocytes en conditions d'hypoxie, la viscosité sanguine peut devenir très élevée. Ceci aurait comme conséquence une augmentation parallèle de la résistance mécanique, un ralentissement de la vitesse circulatoire sanguine et une sous-alimentation des organes vitaux en oxygène. La polymérisation de la désoxy Hb S en tactoïde, est le processus responsable de la falciformation dont la conséquence est la réduction des flux glycolytique et ionique et la déshydratation cellulaire (Mpiana *et al.*, 2007).

Les figures 3 à 8 indiquent qu'en présence d'extraits des plantes (*Hypoxis angustifolia* Lam., *Annona reticulata* L., *Trema orientalis* (L.) Blume et *Noronhia divaricata* Scott-Elliot), les drépanocytes sont normalisés en conditions d'hypoxie (métabisulfite de sodium à 2%). Les extraits aqueux et hydro-alcooliques de plantes (Figures 3 - 8) ont montré une capacité à modifier la forme des globules rouges du sang SS *in vitro* en les transformant de la forme falciforme (anormale) à la forme biconcave (normale). Cette activité antidrépanocytaire serait due aux anthocyanes (Figures 4, 5, 6) et à l'acide

lunularique (Figure 8). Ce qui justifie l'utilisation de ces plantes dans le traitement de la drépanocytose en médecine traditionnelle.

Ces résultats indiquent que nos principes actifs réduisent l'ellipsoïdité des drépanocytes en conditions hypoxiques. Ainsi nos drogues préviendraient toutes les complications liées à la falciformation.

L'analyse des résultats de différents tests indique que les anthocyanes (AC) pourraient agir tant sur la polymérisation de l'hémoglobine S en condition d'hypoxie (Figures 9, 10) que sur la membrane érythrocytaire (Figures 11, 12). Les anthocyanes inhiberaient la polymérisation de l'hémoglobine S en s'engageant dans une réaction avec cette protéine qui serait compétitive avec la polymérisation. En outre, les propriétés anti-oxydantes de ces pigments et de l'acide lunularique (Figures 13, 14) leur permettraient d'empêcher la peroxydation des lipides membranaires et prévenir ainsi la lyse des érythrocytes.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que les anthocyanes et l'acide lunularique sont des piègeurs efficaces des radicaux libres et par conséquent de puissants inhibiteurs de la peroxydation lipidique. Un phytomédicament à base de ces composés pourrait assurer chez le drépanocytaire la protection de la membrane en complétant les systèmes enzymatiques de défense de l'érythrocyte qui est défaillant. Ils pourraient aussi stabiliser l'hémoglobine S en augmentant son affinité pour l'oxygène et favoriser un meilleur apport d'eau au niveau érythrocytaire (Mpiana *et al.*, 2007c ; d ; 2008-2010 ; 2012 ; 2013).

2. Le paludisme

Le tableau 1 donne les résultats de l'activité antiplasmodiale des plantes récoltées en République Démocratique du Congo comparée à celle des plantes récoltées à Madagascar.

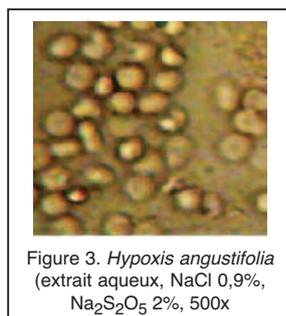


Figure 3. *Hypoxis angustifolia* (extrait aqueux, NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

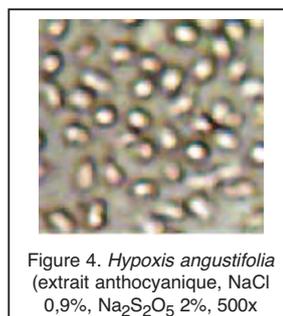


Figure 4. *Hypoxis angustifolia* (extrait anthocyanique, NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

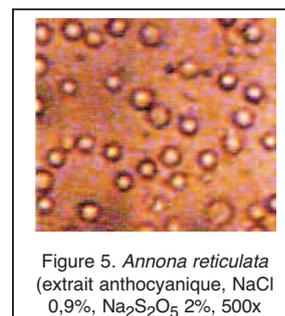


Figure 5. *Annona reticulata* (extrait anthocyanique, NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

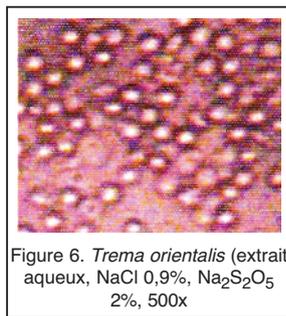


Figure 6. *Trema orientalis* (extrait aqueux, NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

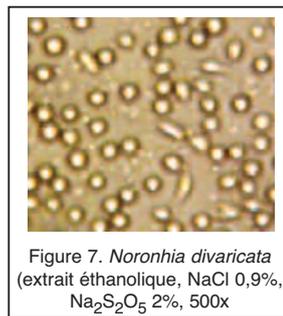


Figure 7. *Noronhia divaricata* (extrait éthanolique, NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

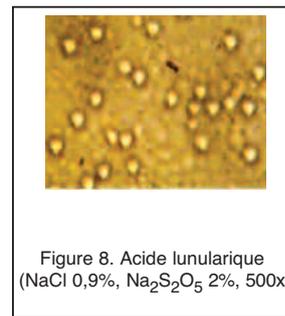


Figure 8. Acide lunularique (NaCl 0,9%, Na₂S₂O₅ 2%, 500x)

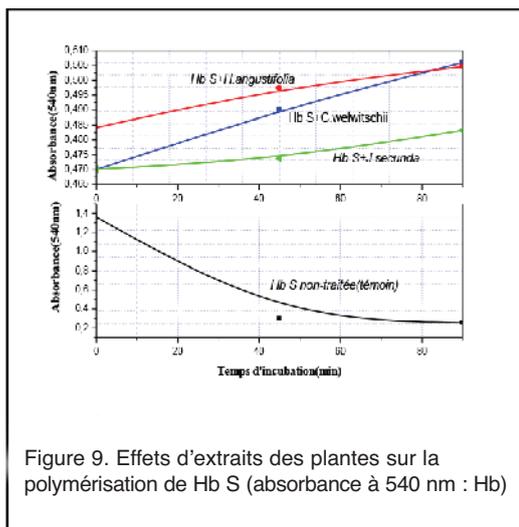


Figure 9. Effets d'extraits des plantes sur la polymérisation de Hb S (absorbance à 540 nm : Hb)

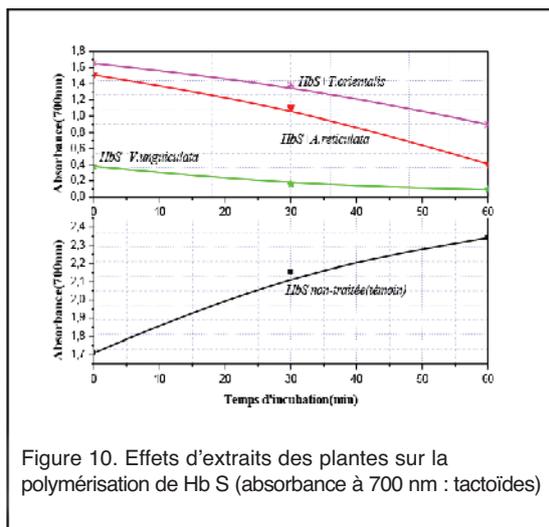


Figure 10. Effets d'extraits des plantes sur la polymérisation de Hb S (absorbance à 700 nm : tactoïdes)

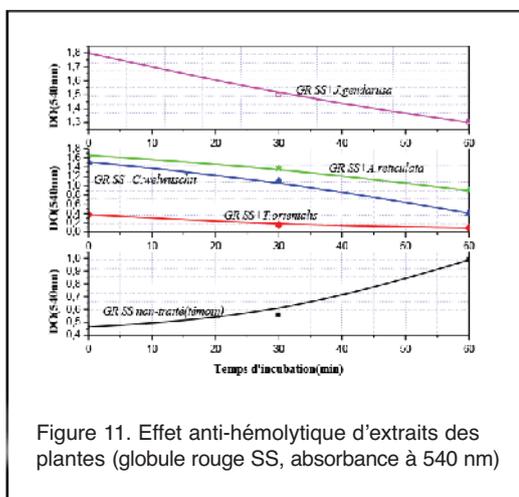


Figure 11. Effet anti-hémolytique d'extraits des plantes (globule rouge SS, absorbance à 540 nm)

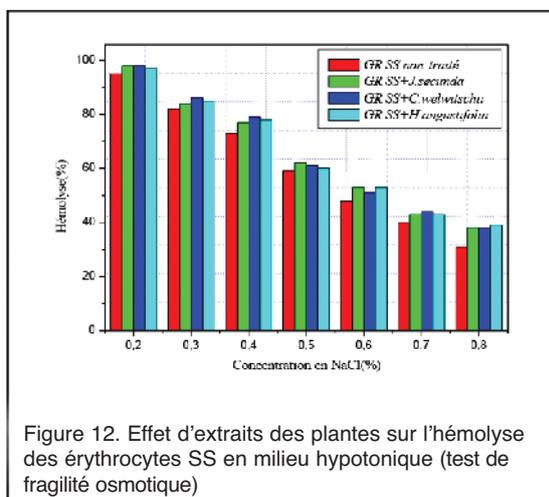


Figure 12. Effet d'extraits des plantes sur l'hémolyse des érythrocytes SS en milieu hypotonique (test de fragilité osmotique)

Les résultats du tableau I montrent globalement que pour les plantes que nous avons étudiées (*Annona senegalensis* Pers., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Annickia chlorantha* (Oliv.) Setten & Maas, *Entandrophragma palustre* Staner, *Garcinia punctata* Stapf, *Morinda morindoïdes* (Baker) Milne-Redh, *Phyllanthus niruri* L., *Rauvolfia vomitoria* Afzel., *Sarcocephalus latifolius* (Sm.) E.A. Bruce, *Senna occidentalis* (L.) Link., *Vernonia amygdalina* Del., *Polyalthia madagascariensis* Cavaco & Keraudren, *Uvaria* sp, *Tabernaemontana coffeoides* Bojer ex A.DC., *Vernonia cinerea* L. subsp *vialis* (D.C.) H. Humb., *Garcinia lorii* Benja, *Garcinia verrucosa* Jum. subsp *typica* H.Perr., *Paederia* sp), celles provenant de la République Démocratique du Congo sont biologiquement plus actives *in vitro* qu'*in vivo* alors que celles de Madagascar sont au contraire plus actives *in vivo* qu'*in vitro*.

En effet, 73% des plantes congolaises ont présenté une activité antiplasmodiale *in vitro* ($0,946 \leq CI_{50} < 50$) contre 50% des plantes de Madagascar ($6,186 \leq CI_{50} < 50$). Tandis que pour le test *in vivo*, 72% des plantes malgaches sont actives ($33 < \%I \leq 78,08$) contre 56% des plantes congolaises ($25 < \%I \leq 61,28$). En rapport avec l'activité antiplasmodiale aussi bien *in vitro*

qu'*in vivo*, 44% des plantes congolaises sont à la fois actives *in vitro* et *in vivo* contre 29% des plantes malgaches.

La différence ainsi observée dans l'activité biologique de ces plantes pourrait être due à la qualité et/ou la quantité d'extraits en métabolites secondaires bioactifs.

L'activité antiplasmodiale des plantes testées dépend étroitement de la zone géographique de récolte (effet de climat). En effet, il est bien connu que l'expression des gènes et en particulier le contenu en enzymes catalysant les voies biochimiques de synthèse des métabolites secondaires chez la plante est régulée par les facteurs abiotiques tels que le climat, l'environnement géologique du site de récolte et la période de récolte des échantillons de plantes. Ainsi, si l'on admet que les plantes peuvent s'adapter aux conditions environnementales du site de récolte en modifiant les voies métaboliques de synthèse de leurs composés chimiques, les différences observées entre celles régnant au sud de Madagascar dans des conditions éco-climatiques plus arides que celles de la République Démocratique du Congo peuvent être ainsi justifiées (Ngbolua *et al.*, 2011 a ; b).

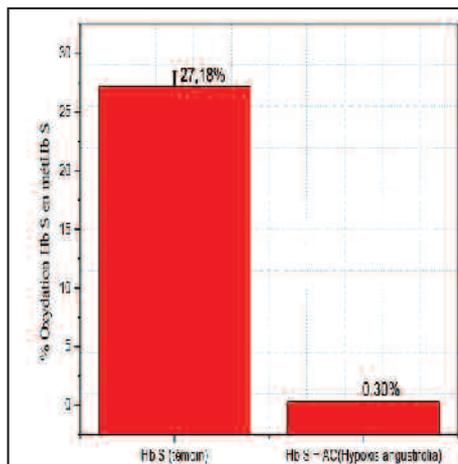


Figure 13. Effet d'*H. angustifolia* sur l'oxydation de Hb S en métHb S

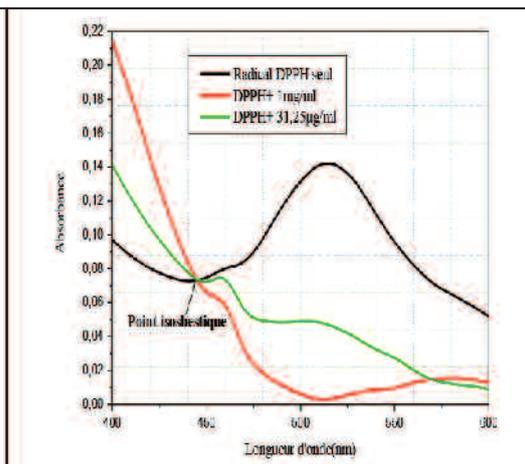


Figure 14. Influence d'extraits anthocyaniques sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•])

Tableau I. Résultats de l'activité antipaludique comparée des plantes afro-malgaches

Pays	Pourcentage de plantes actives		
	In vitro	In vivo (500 mg/kg ; po)	In vitro et in vivo
République Démocratique du Congo (nombre de plantes testées =11)	73,00 Grande activité (CI50 < 5) : 2 plantes Bonne activité (5 < CI50 < 10) : 3 plantes Activité modérée (10 < CI50 < 50) : 3 plantes	56,00 (25 < %I < 62)	44,00
Madagascar (nombre de plantes testées =10)	50,00 Bonne activité : 2 plantes Activité modérée : 3 plantes	71,00 (33 < %I < 80)	29,00

Légende : CI₅₀ : concentration inhibitrice 50 / %I : pourcentage d'inhibition des parasites (*Plasmodium yoelii*) / po : per os (voie orale)

Partir des plantes connues traditionnellement pour leurs propriétés pharmacologiques pour identifier des nouvelles espèces bioactives par chimio-taxonomie est une orientation très intéressante pour les pays en développement notamment pour ceux des régions tropicales possédant une grande biodiversité. Cette stratégie constituerait une solution adaptée pour la promotion de la recherche scientifique sur la médecine traditionnelle africaine.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'étude a permis d'élaborer une base de données d'utilité publique (54 espèces végétales utilisées contre la drépanocytose en R.D. Congo et 11 plantes antipaludiques). Considérant les liens de chimio-taxonomie éventuels avec des plantes de Madagascar, l'étude a mis en évidence pour la première fois d'une part, l'activité antiplasmodiale dans les 10 taxons malgaches permettant de démontrer le caractère antiplasmodial conservé chez les plantes de Madagascar malgré l'isolement, et d'utiliser d'autre part, l'activité pharmacologique pour la première fois comme marqueur

phénotypique pour étudier l'évolution des angiospermes sur un territoire isolé géographiquement par une barrière physique. Les taxons bioactifs n'ont pas montré d'activité vis-à-vis des souches bactériennes utilisées. En ce qui concerne l'activité antidrépanocytaire, une recherche phytochimique bio-guidée a permis de mettre en évidence pour la première fois les effets antidrépanocytaires des anthocyanes extraits des plantes congolaises et de l'acide lunularique isolé de *Noronhia divaricata* (plante endémique de Madagascar). Les anthocyanes agiraient par plusieurs mécanismes impliquant l'inhibition de la falciformation des érythrocytes SS en conditions d'hypoxie (effet antifalcémiant), l'inhibition de la polymérisation de la

désoxyhémoglobine S (effet anti-gélifiant), la stabilisation de la membrane érythrocytaire en facilitant une meilleure hydratation cellulaire (effet stabilisant), la protection des érythrocytes drépanocytaires contre l'hémolyse en milieu isotonique (effet anti-hémolytique), l'inhibition de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine et en sous-produits radicalaires (effet antioxydant / effet anti-radicalaire). En complément à cette étude, nous avons développé et validé un nouveau test pour le criblage de sangs drépanocytaires destinés aux essais pharmacodynamiques.

Il est donc souhaitable que les extraits bioactifs des différentes plantes séparées par une barrière géographique soient combinés en vue de formuler des phytomédicaments efficaces. A cet effet, un mélange à base des plantes actives et non toxiques scientifiquement validées dans cette étude telles que *Vernonia amygdalina* et *Vernonia cinerea* subsp *vialis* (pour la prise en charge du paludisme) ou *Hypoxis angustifolia* et *Noronhia divaricata* (pour la prise en charge de la drépanocytose). Les avantages d'un remède traditionnel amélioré sont nombreux par rapport à l'administration de molécules pures, notamment la possibilité d'acheter à moindre coût les extraits standardisés réalisés

Plantes antirépanocytaires et antipaludiques

localement. De plus, les extraits standardisés, contrairement aux médicaments issus des industries biopharmaceutiques, contiennent de très nombreux composés chimiques pouvant agir en synergie ou sur des multiples cibles à la fois.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons toute notre reconnaissance à la Coopération Technique Belge (CTB), et à travers elle au Gouvernement du Royaume de Belgique pour la bourse N° L09RDC/005 (UNI2009/01). Nos remerciements vont aussi à "the Third World Academy of Science "TWAS Research & Advanced Training Fellowship" (FR number: 3 2 40 22 41 21) et à la Fondation Internationale pour la Science (IFS Research Grant F/4921-2, Suède-Stockholm) pour leur soutien.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

I. Revues à comité de lecture

1. Ngbolua K.N., Rafatro H., Rakotoarimanana H., Ratsimamanga Urverg S., Mudogo V., Mpiana P.T., Tshibangu D.S.T. (2011a) Pharmacological screening of some traditionally-used antimalarial plants from the Democratic Republic of Congo compared to its ecological taxonomic equivalence in Madagascar, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5 (5):1997-1804.
2. Ngbolua K.N., Rakotoarimanana H., Rafatro H., Urverg-Ratsimamanga S., Mudogo V., Mpiana P.T., Tshibangu D.S.T. (2011b) Comparative antimalarial and cytotoxic activities of two *Vernonia* species: *V. amygdalina* from the Democratic Republic of Congo and *V. cinerea* subsp *vialis* endemic to Madagascar, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5 (1):345-353.
3. Ngbolua K.N., Bibelayi D.D., Mangwala P.K., Kilunga P.I., Mpiana P.T., Gushimana Z.Y. (2011c) Etude par spectrophotométrie UV-visible de la dénaturation thermique des hémoglobines A & S dans le sang total, *Journal de l'I.R.S.S.* 1 (5):28-33.
4. Ngbolua K.N., Gushimana Z.Y., Mpiana P.T., Bibelayi D.D., Mangwala P.K. (2010) Etude par spectroscopie UV-Visible de la dénaturation thermique de l'hémoglobine S : une nouvelle approche du dépistage rapide de la drépanocytose, *Ann. Afr. Med.* 3 (4):540-548.
5. Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Tshilanda D.D., Misengabu N.M. (2011) Antisickling erythrocytes haemolysis properties and inhibitory effect of anthocyanins extracts of *Trema orientalis* (ULMACEAE) on the aggregation of human deoxyhemoglobin S *in vitro*, *J. Med. Sci.* 11 (3):129-137.
6. Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Bokota M.T., Kasonga T.K., Atibu E.K. & Mudogo V. (2010) *In vitro* Effects of Anthocyanins Extracts From *Justicia secunda* VAHL on the Solubility of Hemoglobin S and Membrane Stability of Sickle Erythrocytes, *Blood Transfusion* 8:248-254.
7. Mpiana P.T., Makelele L.K., Oleko R.W., Bokota M.T., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Mbala M.B., Atibu E.K., Nshimba S.M. (2010) Antisickling activity of medicinal plants used in the management of Sickle cell Disease in Tshopo district, D.R. Congo, *Australian J. Med. Herbalism* 22 (4):132-137.
8. Mpiana P.T., Bokota M.T., Ndjele M.B.L., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Atibu E.K., Kwembe J.T.K., Makelele L.K. (2010) Antisickling activity of three species of *Justicia* from Kisangani (DR Congo): *Justicia tenella*, *J. gendarusa* and *J. insularis*, *Int. J. Biol & Chem. Sci.* 4 (6):1953-1961.
9. Mpiana P.T., Mudogo V., Nyamangombe L., Kakule M.K., Ngbolua K.N., Atibu E.K., Mbala M.B., Mbongo A.K., Ntumba J.N. (2009) Antisickling Activity and Photodegradation Effect of Anthocyanins Extracts from *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) and *Crotalaria retusa* L., *Ann. Afr. Med.* 2 (4): 240-245.
10. 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., Bokota M.T. (2009) Antisickling Activity and Thermostability of Anthocyanins Extract from a Congolese plant, *Hymenocardia acida* Tul. (Hymenocarpaceae), *Int. J. Pharmacol.* 5 (1): 65 – 70.

11. Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Atibu E.K., Kitwa E.K., Kanangila A.B., Makelele L.K. (2009) Activité antifalcémiant et thermodégradation d'une fraction d'anthocyanes extraits de *Zizyphus mucronata*, *Ann. Afr. Med.* 2 (2) : 91-97.

12. Mpiana P.T., Balangayi E.K., Kanangila A.B., Kalonda E.M., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Lumbu J.B.S. (2009) Activité anti-drépanocytaire et thermo dégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*, *Int. J. Biol. & Chem. Sci.* 3 (3): 551-560.

13. Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Kitwa E.K., Kanangila A.B., Lumbu J.B.S., Ngbolua K.N., Atibu E.K., Kakule M.K. (2008) Antisickling Activity of Anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis*, *Zizyphus mucronata*: Photodegradation effect, *J. Ethnopharmacol.* 120: 413-418.

14. Mpiana P.T., Tshibangu D.S.T., Shetonde O.M., Ngbolua K.N. (2007a) *In vitro* antirépanocytary activity (anti-sickle cell anaemia) of some Congolese plants, *Phytomedicine* 14: 192-195.

15. Mpiana P.T., Mavakala B.K., Yu Zhi-Wu (2007b) Interaction of Artemisinin Based Antimalarial Drugs With Haemin in Water-DMSO Mixture, *Int. J. Pharmacol.* 3 (4): 302-310.

16. Mpiana P.T., Mudogo V., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Shetonde O.M., Mbala B.M. (2007c) *In vitro* Antisickling Activity of Anthocyanins from *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Int. J. Pharmacol.* 3 (4): 371-374.

17. Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Shetonde O.M., Mangwala P.K., Mavakala B.K. (2007d) *In vitro* Antisickling Activity of Anthocyanins Extracts of a Congolese Plant: *Alchornea cordifolia* M.Arg., *J. Med. Sci.* 7 (7): 1182-1186.

18. Rakotoarimanana H., Rafatro H., Jeannoda V., Raelison G., Robijoana R.B., Ratsimamanga-Urveg S. (2008) Composé antiplasmodial isolé du *Tsilaitra* (*Noronhia divaricata* Perr., Oleaceae), *Ethnopharmacologia* 41: 71-73.

II. Chapitres de livres

Mpiana P.T., Bokota M.T., Mbula J.P., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Kwembe J.T.K., Kakule M.K. (2013) Effet of Anthocyanins Extracts from *Justicia matamensis* and *Justicia laxa* on Sickle cells, In: Noboru Motohashi (ed.) *Anthocyanins, Structure, Biosynthesis and Health benefits* (Series: Biochemistry Research Trends, Nutritional and Diet Research Progress), Nova publishers, pp. 111-124.

Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K. (2012) The potential effectiveness of medicinal plants used for the treatment of Sickle cell Disease in the Democratic Republic of Congo folk medicine: A review, In: *Progress in Traditional and Folk herbal medicine*, Daya Publishing House, New Delhi, Vol. I, pp 1-11.

Mpiana P.T., Mudogo V., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K. (2010) *In vitro* antisickling activity of anthocyanins extracts from *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae), In: V.K. Gupta, G.D. Singh, S. Singh, A. Kaul (Eds) *Medicinal Plants: Phytochemistry, Pharmacology and Therapeutics*, 1, Daya Publishing House, New Delhi, pp. 330-337.

Mpiana P.T., Mudogo V., Ngbolua K.N., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Kitwa E.K., Kanangila A.B. (2009) *In vitro* antisickling activity of anthocyanins extracts of *Vigna unguiculata* (L.) walp., In: J.N. Govil, V.K. Singh (Eds) Recent progress in Medicinal Plants: Chemistry and Medicinal Value, Vol.25, Daya Publishing House, New Delhi, pp. 91-98.

Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Mangwala P.K., Atibu E.K., Kakule M.K., Makelele L.K., Bokota M.T. (2010) Antisickling Activity and Thermodegradation of an Anthocyanin fraction from *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Comprehensive Bioactive Natural Products*, Vol. 3, Effects, Safety & Clinical (Pt II), pp. 278-287.

Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Tshilanda D.D., Atibu E.K. (2009) Antisickling activity of anthocyanins extract of *Jatropha curcas* L., In J.N. Govil, V.K. Singh (Eds) *Recent progress in Medicinal Plants: Chemistry and Medicinal Value*, Daya Publishing House, New Delhi, Vol.25, pp. 104-108.

III. Site internet

The Plant List (2013). Version 1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed on 21 May).