

Propriétés Antihémolytique et Antiperoxydation Lipidique des Extraits Totaux de Feuilles de *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) utilisées en Médecine Traditionnelle dans le Traitement de la Drépanocytose.

Ramdé-Tiendrébéogo A.^{1, 4*}, Belemnaba L.¹, Ouattara N.², Ouédraogo N.^{1, 4}, Guissou I. P.³

¹Département de Médecine et Pharmacopée Traditionnelles-Pharmacie/Institut de Recherche en Sciences de la Santé (MEPHATRA-PH/IRSS), Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Laboratoire de Biochimie et Chimie Appliquées (LABIOCA), Université de Dédougou S/C Université Ouaga I Pr Joseph Ki-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³Laboratoire de Développement de Médicaments /Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (UFR/SDS), Université Ouaga I Pr Joseph Ki-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

⁴Unité Mixte Internationale -Environnement, Santé, Sociétés (UMI 3189, ESS) - CNRS/UCAD/UGB/ USTTB/CNRST.

Date de réception : 06 juillet 2018 ; Date de révision : 04 septembre 2018 ; Date d'acceptation : 29 octobre 2018

Résumé :

Les feuilles de *Ficus sycomorus* sont utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso dans le traitement de la drépanocytose et de ses pathologies récidivantes. L'une des principales complications des syndromes drépanocytaires majeurs (SS, SC) est l'anémie liée à l'hémolyse chronique. Dans cette étude, nous avons testé l'effet protecteur du décocté aqueux des feuilles (DAF) et du macéré hydroéthanolique des feuilles (MHF) contre l'hémolyse des érythrocytes de patients drépanocytaires homozygotes (SS) et double hétérozygotes (SC), en présence de concentrations croissantes de NaCl. L'effet des extraits a été évalué *in vitro* sur la peroxydation lipidique induite par l'acide thiobarbiturique. Les résultats ont montré que le MHF (2 mg/mL) avait la meilleure activité antihémolytique sur des érythrocytes de sujets drépanocytaires SC avec une concentration inhibitrice à 50 % (CI₅₀) égale à 1,39 ± 0,02 mg/mL et significativement différente (p<0,05) de celle du DAF (4 mg/mL) qui était de 4,2 ± 0,08 mg/mL. Sur les érythrocytes SS, l'activité antihémolytique des extraits a diminué contrairement au cas précédent. Le MHF (2 mg/mL) a montré une inhibition de 31,02 ± 0,00 % tandis que celui du DAF (3 mg/mL) était de 22,5 ± 0,00 %. L'effet antihémolytique des extraits a été comparé à celui de l'Acfol® (0,1 mg/mL) pris comme témoin de référence. De plus, le MHF (1 mg/mL) a montré une activité antiperoxydation lipidique nettement supérieure (p<0,05) à celle du DAF (1 mg/mL) avec 43,22 ± 1,05 % contre 32,41 ± 1,16 % d'inhibition respectivement. La Quercétine (1 mg/mL) a été utilisée comme témoin de référence pour cette activité. Les propriétés antiperoxydation lipidique *in vitro* et antihémolytique des extraits de feuilles de *Ficus sycomorus* (MHF et DAF) pourraient expliquer en partie leur capacité à stabiliser la membrane des érythrocytes drépanocytaires.

Mots clés : Drépanocytose, Anémie, *Ficus sycomorus*, Antihémolytique, Peroxydation lipidique.

Antihemolytic and Antilipid Peroxidation Properties of Total Leaf Extracts of *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) used in Traditional Medicine in the Treatment of Sickle Cell Disease.

Abstract :

The leaves of *Ficus sycomorus* are used in traditional medicine in Burkina Faso, in the treatment of sickle cell disease and its recurrent pathologies. One of the important complications of major sickle cell disease (SS, SC) is anemia related to chronic hemolysis. In this study, we investigated the protective effect of aqueous decoction of leaves (DAF) and hydroethanol macerate of leaves (MHF) against the hemolysis of erythrocytes of sickle cell patients homozygous SS and double heterozygous SC, in the presence of increasing concentrations of NaCl. The effect of the extracts was evaluated *in vitro* on the lipid peroxidation induced by thiobarbituric acid. The results showed that MHF (2 mg/mL) had the best antihemolytic activity on erythrocytes of sickle cell SC patients with an inhibitory concentration 50% (CI₅₀) equal to 1.39 ± 0.02 mg/mL significantly different (p < 0.05) to that of DAF (4 mg/mL) which was 4.2 ± 0.08 mg/mL. On SS erythrocytes, the antihemolytic activity of the extracts decreased contrary to the previous case. MHF (2 mg/mL) showed an inhibition of 31.02 ± 0.00% while that of DAF (3 mg/mL) was 22.5 ± 0.00%. The antihemolytic effect of the extracts was compared to that of Acfol® (0.1 mg/mL) taken as reference control. In addition, the MHF (1 mg/mL) showed a significantly higher antilipid peroxidation activity (p < 0.05) than that of DAF (1 mg/mL) with 43.22 ± 1.05% against 32.41 ± 1.16% of inhibition respectively. Quercetin (1 mg/mL) has been used as reference for this activity. The *in vitro* antilipid peroxidation and the antihemolytic properties of leaf extracts of *Ficus sycomorus* (MHF and DAF) could partly explain their ability to stabilize the membrane of sickle cell erythrocyte.

Key words : Sickle Cell Disease, Anemia, *Ficus sycomorus*, Antihemolytic, Lipid peroxidation.

Introduction

La drépanocytose est une maladie génétique et héréditaire, caractérisée par une anomalie de la forme de l'hémoglobine. Elle représente la première maladie génétique au monde (Coppieters et al., 2011) et touche environ 4 % de

la population mondiale. Aux Etats Unis, la maladie touche plus de 70 000 Afro-Américains. Le gène βS constitue une menace pour les populations d'au moins 40 pays en Afrique, et dans environ 23 pays d'Afrique de

 (*) Correspondance : Ramdé-Tiendrébéogo Alphonsine ; e-mail : ramdalphonsine@gmail.com ; (+226) 70104438/74494355, Fax: 25 36 03 94.

l'Ouest et d'Afrique centrale, la prévalence du trait drépanocytaire varie entre 20 % et 30 %, et atteint même 45 % dans certaines régions isolées de l'ouest de l'Ouganda (OMS, 2012). Au Burkina Faso, les hémoglobinopathies représentaient 37,66 % de la population totale avec une fréquence d'environ 16,8 % pour la drépanocytose (Nikiema et al., 2010). Chaque année, près de 2 % des nouveau-nés sont touchés par la maladie et 50 à 80 % d'entre eux meurent avant l'âge de 5 ans, ceux qui survivent présentent une atteinte des organes cibles, qui réduit leur durée de vie (Douamba et al., 2017; OMS, 2012). La drépanocytose est donc un problème majeur de santé publique, et l'une des principales complications des syndromes drépanocytaires majeurs (SS, SC) très fréquents en Afrique subsaharienne est l'anémie liée à l'hémolyse chronique. En effet, les globules rouges anormaux en forme de faucille, sont détruits plus facilement et prématurément causant une anémie hémolytique, qui dans 80 % des cas fait partie des premiers motifs de consultation (Lambotte, 1962). Une élévation des valeurs de l'hémoglobine plasmatique a montré la présence d'un processus hémolytique sévère (Bensinger and Gillette, 1974). Le recours à la transfusion sanguine comme traitement dans l'aggravation aiguë de l'anémie du drépanocytaire pose souvent des problèmes et des complications, notamment une augmentation de la viscosité sanguine, une immunisation érythrocytaire, une transmission d'infections virales et une surcharge en fer (Couroucé and Pillionel, 1998). De plus, les produits modernes posent des problèmes de tolérance et même d'efficacité, ce qui nécessite de trouver des solutions palliatives notamment la recherche de nouveaux médicaments efficaces, tolérés, accessibles et avec peu d'effets indésirables.

Ainsi, on assiste à un regain assez croissant des populations africaines vers la médecine et la pharmacopée traditionnelle pour le traitement des pathologies chroniques dont la drépanocytose.

Des travaux antérieurs ont montré des propriétés biologiques de certaines plantes utilisées en Afrique pour prévenir ou traiter les crises de la drépanocytose. En effet, les extraits de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. &

Timler (Rutaceae), ou la poudre obtenue de l'association des écorces de racines de *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton (Apocynaceae) et de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, ou encore des extraits de feuilles de *Ficus sur* Forssk. (Moraceae) ont montré un effet antifalcémiant et une réversibilité de la falciformation (Guissou et al., 1995 ; Mpiana et al., 2008 ; Sofowora and Isaacs, 1971). D'autres études ont montré que des extraits de *Garcinia kola* Heckel (Clusiaceae), de *Terminalia catappa* L. (Combretaceae) ou de *Cajanus cajan* (L.) Huth (Fabaceae) ont un effet stabilisant de la membrane des érythrocytes de sujets drépanocytaires (Elekwa et al., 2003 ; Mgbemene and Ohiri, 1999 ; Ogoda Onah et al., 2002). En effet, certains composés phénoliques des plantes dont les anthocyanes sont d'excellents inhibiteurs de l'hémolyse des érythrocytes. Leur propriété stabilisante pourrait s'expliquer par le fait que les anthocyanes sont capables d'augmenter le volume du globule rouge drépanocytaire par une réversibilité de la falciformation, restaurant ainsi la forme biconcave de la cellule, et le maintien de l'intégrité de la membrane érythrocytaire (Mpiana et al., 2010 ; Nabavi et al., 2013).

L'espèce *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) est utilisée dans diverses recettes en médecine traditionnelle africaine et les études précédentes ont montré que cette plante possède de nombreuses propriétés pharmacologiques dont les effets antiplasmodial, myorelaxant, antibactérien, antifongique, antiviral, antioxydant, anesthésique et antidiabétique (Abdel-Hameed, 2009 ; Bekheet et al., 2011 ; Maregesi et al., 2008 ; Njagi et al., 2012 ; Sandabe et al., 2006 ; Sanon et al., 2003). Au Burkina Faso, *Ficus sycomorus* figure parmi les plantes utilisées par les tradipraticiens de santé pour le soulagement des crises de la drépanocytose. D'autres travaux ont montré la propriété antifalcémiant des extraits de l'écorce et des feuilles de cette plante qui contient des composés phénoliques en majorité (Nongonierma et al., 2005 ; Ramdé-Tiendrébéogo et al., 2014 ; Sandabe et al., 2006 ; Tuyen et al., 1999).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer, les activités antihémolytique et antiperoxydation lipidique des extraits totaux de feuilles de *Ficus sycomorus*.

Matériel et méthodes

Matériel végétal : Les feuilles de *Ficus sycomorus* ont été récoltées au bord du barrage N°2 de Tanghin à Ouagadougou (Burkina Faso) en juillet 2009 (coordonnées GPS : 12°23'29.57"N,

01°31'46.72"W). Après identification par l'équipe de botanique de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-ZERBO, un spécimen a été déposé dans l'herbier de l'Unité de Formation et de Recherche

en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT) sous le code 01/2009. Le matériel végétal a été bien lavé et séché dans une salle aérée, à l'abri de la lumière solaire pendant deux semaines, puis finement broyé par un broyeur mécanique.

Matériel biologique et mode de prélèvement : Il était constitué par du sang veineux de patients drépanocytaires volontaires (ou avec assentiment pour les mineurs) suivis par un pédiatre à la « Clinique *Les Tisserins* » de Ouagadougou, Burkina Faso. Les patients étaient des homozygotes SS (âge compris entre 32 mois et 16 ans) et double hétérozygote SC (âge compris entre 8 ans et 26 ans). Le prélèvement sanguin a été réalisé par une ponction veineuse dans des tubes EDTA (Ethyl Diamine Tri Acétate) de 5 mL. Un (01) mL de la solution de conservation du sang (Dextrose Adénine Solution USP) a été ajouté. L'addition de cette solution permet la conservation du sang pendant au moins trois (03) semaines au réfrigérateur.

Matériel animal : Des rats mâles de souche WISTAR pesant entre 150 et 370 g ont été utilisés. Les animaux proviennent de l'animalerie de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST) à Ouagadougou (Burkina Faso) où ils sont nourris de tourteaux de blé (29 % de protéines). L'eau courante faisait office d'eau de boisson et était en accès libre. Ils sont élevés dans une animalerie sous climatisation (23-25 °C) avec un éclairage alterné nuit/jour (12h/12h) et 75 % d'humidité.

Réactifs chimiques : Les médicaments et les produits chimiques utilisés dans cette étude étaient constitués de : Citrate Phosphate Dextrose Adénine USP (Poly Medicure, Faridabad, India), Chlorure de sodium (NaCl Sigma Grenoble, France); Acofol® (Acide folique, Laboratoires Fournier S.A., France) acheté en pharmacie (Ouagadougou, Burkina Faso), Quercétine, Acide trichloracétique, Acide 2-thiobarbiturique (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim Germany), Dichlorure de fer (FeCl₂ Prolabo, Paris France).

Préparation des extraits à tester : Le décocté aqueux des feuilles (DAF) de *Ficus sycomorus* a été préparé en introduisant 25 g de poudre des feuilles dans un ballon de 500 mL contenant 250 mL d'eau distillée. Le mélange a ensuite été porté à ébullition pendant 30 min à reflux. Après refroidissement, l'extrait a été filtré et centrifugé à 2000 rpm pendant 10 min. Le filtrat obtenu a été congelé puis lyophilisé à partir d'un lyophilisateur (Telstar cryodos 50). La lyophilisation est utilisée pour le séchage des extraits aqueux sans détruire les différents

composés phytochimiques. En effet, cette technique permet à l'aide d'un poussé 10⁻³ à 10⁻⁵ mm Hg de capter les moindres traces d'eau solides contenues dans un corps congelé par un piège thermique -30 à -50°. Une poudre hygroscopique et poreuse a été obtenue, et conservée dans un flacon hermétique afin d'éviter qu'elle ne prenne l'humidité. Le macéré hydroéthanolique des feuilles (MHF) a été réalisé en ajoutant 250 mL d'éthanol 95 % à 50 g de drogue végétale. Le mélange est laissé à macération pendant 24 h à la température ambiante. Après filtration, la solution obtenue a été concentrée presque à sec à l'évaporateur rotatif (RE 111) puis congelée et lyophilisée. La poudre obtenue a été conservée dans les mêmes conditions que précédemment.

Test antihémolytique : Le test a été réalisé selon la méthode initialement décrite par Elekwa et al. (2003) et utilisée par Avaligbe et al. (2012) avec de légères modifications. Dans deux (02) séries (S₁ et S₂) de 9 tubes, ont été mélangés successivement 450 µL de NaCl (à 9 ; 7 ; 6 ; 5 ; 4 ; 3 ; 2 ; 1 et 0 g/L), et 50 µL de sang SS pour la série S₁ et 50 µL de sang SC pour la série S₂. Ces séries S₁ et S₂ ont été utilisées comme témoins. Dans deux (02) autres séries (S₃ et S₄) de 9 tubes chacune, ont été mélangés 400 µL de NaCl (à 9 ; 7 ; 6 ; 5 ; 4 ; 3 ; 2 ; 1 et 0 g/L), plus 50 µL de l'extrait (1 ; 2 ; 3 ; 4 ; et 5 mg/mL) à tester et 50 µL de sang SS ou SC. Chaque mélange a été vortexé puis centrifugé à 1500 rpm pendant 5 min à température ambiante (28°C). L'absorbance du surnageant des différentes séries (S₁ à S₄) a été lue à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (BIO-RAD Model 680) en utilisant la solution de NaCl 0,9 g/L comme blanc. La procédure a été répétée en triplicata pour chaque concentration d'extrait et la moyenne a été calculée. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été déterminé comme suit :

Inhibition de l'hémolyse (%) = $(DO_T - DO_i / DO_T) \times 100$

Avec DO_T = Absorbance du témoin ;

DO_i = Absorbance de l'échantillon.

La concentration inhibitrice de l'hémolyse à 50 % (CI₅₀) a été déterminée pour chaque extrait. L'Acofol® (0,1 mg/mL) a été utilisé comme substance de référence.

Test d'inhibition de la peroxydation lipidique : Le test de la peroxydation lipidique (LPO) par l'acide thiobarbiturique (TBA) a été réalisé selon la méthode décrite par Ohkawa et al. (1979) et utilisée par Sombie et al. (2011), avec de légères modifications. Le principe est que les produits de la peroxydation des lipides réagissent avec l'acide thiobarbiturique et sont mesurables par

spectrophotométrie. Le foie de chaque animal a été perfusé et isolé, puis découpé et homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur à 0-4°C dans 0,15 M de KCl. L'homogénat a été centrifugé à 800 rpm pendant 15 min et le surnageant (limpide et sans cellule) a été récupéré et utilisé pour le test de la peroxydation lipidique *in vitro*. Pour ce faire, 1 mL du surnageant a été pris dans 1% de tampon Tris-HCl (50 mM, pH 7,4), auquel on a ajouté 0,2 mL d'extrait (décocté ou macéré hydroéthanolique à 1,5 mg/mL), 50 µL de FeCl₂ (0,5 mM) et 50 µL de H₂O₂ (0,5 mM). Le mélange a été incubé à 37°C pendant 60 minutes, puis 1 mL d'acide trichloracétique (15 %) et 1 mL d'acide 2-thiobarbiturique (0,67 %) ont été ajoutés puis l'ensemble du mélange a été chauffé dans de l'eau bouillante pendant 15 minutes. Les absorbances ont été lues à 532 nm en utilisant le spectrophotomètre (Epoch 251465, Biotek Instruments, U.S.A.). Le pourcentage d'inhibition

de la lipoperoxydation a été calculé selon la formule :

$$\text{Inhibition de la LPO (\%)} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

Avec A₀ = absorbance du témoin négatif ;

A₁ = absorbance de l'échantillon.

La quercétine a été utilisée comme témoin positif. Les mesures ont été effectuées en triplicata par extrait.

Analyse et expression des résultats : Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=3). Les données ont été analysées en utilisant l'analyse de variance à un facteur (One Way ANOVA) suivi du post-test de Bonferroni pour les comparaisons multiples (Graph Pad Prism version 5.0 for Windows, Graph Pad Software, San Diego California USA). Les différences sont considérées comme statistiquement significatives pour une valeur de « p inférieure à 0,05 ».

Résultats et discussions

Résultats

Détermination de la concentration inhibitrice de l'hémolyse à 50 % (CI₅₀)

- *Effets des extraits sur les érythrocytes du sujet SC :* Les figures 1a et 1b représentent les effets des extraits de *F. sycomorus* sur les érythrocytes de sujets SC. Les résultats montrent que le DAF inhibe l'hémolyse des érythrocytes SC induite par le NaCl de manière concentration-

dépendante de 1 mg/mL à 4 mg/mL avec un effet maximal E_{max} = 57,33 ± 0,0 % obtenu avec DAF à 4 mg/mL (Figure 1a). Le DAF à 5 mg/mL a un effet inhibiteur totalement faible et significativement différent, comparativement aux autres concentrations testées avec un E_{max} = 19,45 ± 0,2 % obtenu en présence de 3 g/L de NaCl.

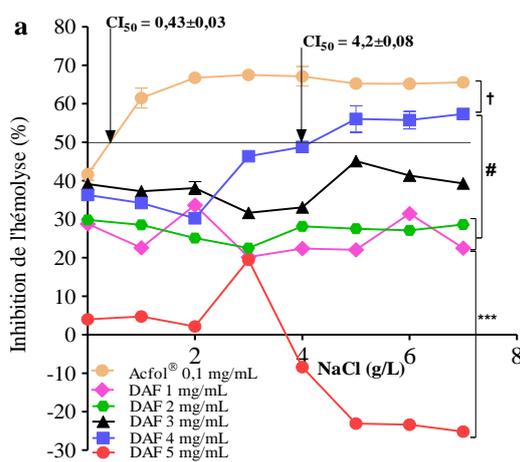


Figure 1a

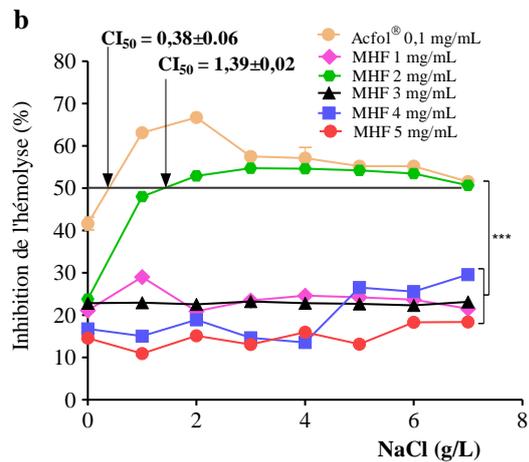


Figure 1b

Figure 1. Courbes d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes SC par les extraits de *F. sycomorus* et l'Acfol® en présence de concentrations croissantes de NaCl.

"a" : Effet du DAF sur l'hémolyse des érythrocytes SC ; "b" : Effet du MHF sur l'hémolyse des érythrocytes SC. (n =3 triplicata ; *p<0,05 versus DAF 5 mg/mL ; #p<0,05 versus DAF 1 mg/mL et †p<0,05 versus DAF 4 mg/mL).

Au-delà de cette concentration en NaCl, une inhibition négative (-25,19 ± 0,25 %) a été

observée jusqu'à 7 g/L de NaCl. Les concentrations du DAF et de l'Acfol® qui

inhibent 50 % de l'hémolyse (CI₅₀) induite par le NaCl sont significativement différentes avec 0,43± 0,03 g/L et 4,2 ± 0,08 g/L respectivement pour l'Acfol® (0,1 mg/mL) pris comme témoin et le DAF à 4 mg/mL.

Les effets du MHF et de l'Acfol® sur les érythrocytes SC sont présentés sur la figure 1b. Seule la concentration de 2 mg/mL de MHF donne un effet inhibiteur conséquent supérieur à 50 % avec une CI₅₀ = 1,39±0,02 g/L en présence de NaCl. Toutes les autres concentrations ont également un effet inhibiteur positif sur l'hémolyse des érythrocytes SC mais qui reste inférieur à 30 %. L'Acfol® (0,1 mg/mL) pris comme témoin a inhibé significativement l'effet hémolytique du NaCl de manière remarquable avec une CI₅₀ = 0,38±0,06 g/L comparativement au MHF (1, 3, 4 et 5 mg/mL).

- **Effets des extraits sur les érythrocytes du sujet SS** : Les figures 2a et 2b représentent les effets des

extraits de *F. sycomorus* sur les érythrocytes de sujets SS.

Les résultats de cette étude montrent que le DAF a une activité inhibitrice de l'hémolyse induite par le NaCl relativement faible, comparativement à celle de l'Acfol® (Figure 2a). L'effet maximal (Emax) est de 22,5 ± 0,00 % pour le DAF à 3 mg/mL et celui de l'Acfol® (0,1 mg/mL) est de 30,86 ± 0,77 %. On note également que l'effet inhibiteur de cet extrait a brutalement baissé pour les concentrations de 1 et de 2 mg/mL passant de 20,15 ± 0,15 à -19,6 ± 0,17 % et de 16,93 ± 0,06 % à -17,47 ± 0,31 % pour le DAF à 1 et 2 mg/mL respectivement.

Sur les érythrocytes SS, les différentes concentrations du MHF (1, 2, 3, 4 et 5 mg/mL) ont produit une inhibition positive (supérieure à 10%) de l'hémolyse de ces hématies même à la plus faible concentration en NaCl (Figure 2b).

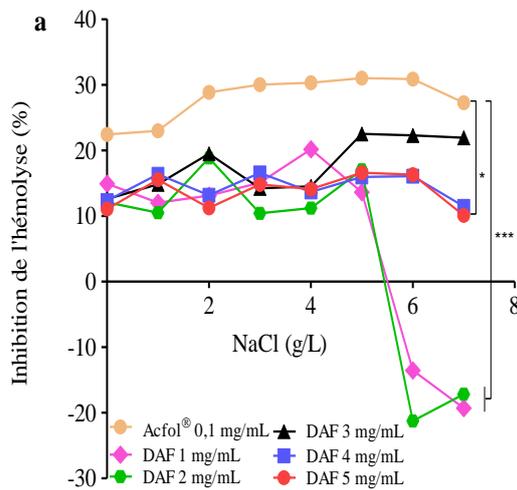


Figure 2a

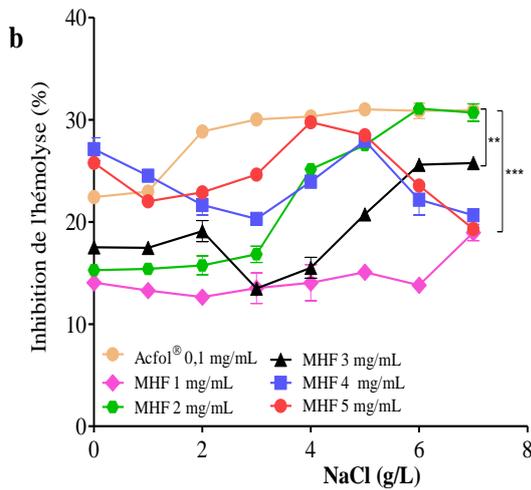


Figure 2b

Figure 2. Courbes d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes SS par les extraits de *F. sycomorus* et l'Acfol® en présence de concentrations croissantes de NaCl.

"a" : Effet du DAF sur l'hémolyse des érythrocytes SS ; "b" : Effet du MHF sur l'hémolyse des érythrocytes SS. (n=3 triplicata ; *p<0,05 versus Acfol® 0,1 mg/mL).

Les résultats montrent également que le MHF à 2 mg/mL tout comme l'Acfol® (0,1 mg/mL) pris comme témoin ont un effet inhibiteur maximal de 31,02 ± 0,00 % et de 31,09 ± 0,42 % aux concentrations de 5 et de 6 g/L de NaCl respectivement pour Acfol® (0,1 mg/mL) et le MHF à 2 mg/mL. De plus, le MHF à 5 mg/mL a entraîné une protection de l'hémolyse due au NaCl à hauteur de 29,76 ± 0,06 %. Les effets inhibiteurs des concentrations de MHF (1, 3, 4 mg/mL) sur l'hémolyse des érythrocytes SS sont restés dans la fourchette de 18,96 ± 0,79 % et de 27,96 ± 0,05 % pour MHF à 1 mg/mL et MHF à 4

mg/mL respectivement. En plus, une différence significative a été obtenue entre l'effet de Acfol® (0,1 mg/mL) et les effets du MHF (1 et 4 mg/mL).

- **Effets inhibiteurs des extraits sur la peroxydation lipidique (LPO)** : L'effet inhibiteur du DAF, du MHF et de la Quercétine sur la peroxydation lipidique est présenté sur l'histogramme (Figure 3).

Les résultats montrent que le MHF à 1 mg/mL a induit une inhibition de la peroxydation lipidique significativement différente de celle du DAF à 1 mg/mL avec 43,22 ± 1,05 %

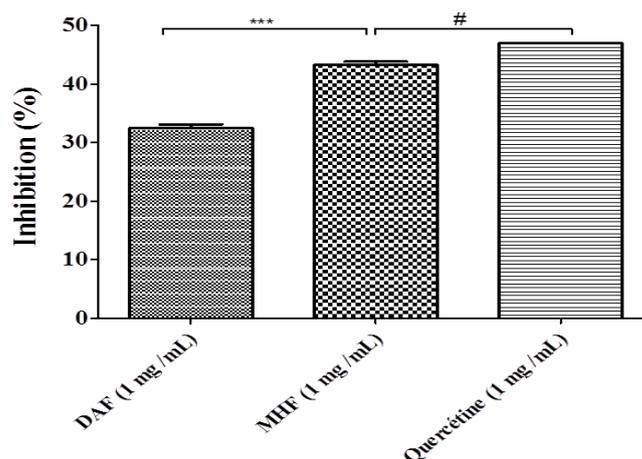


Figure 3. Effets inhibiteurs des extraits (DAF, MHF) et de la Quercétine à 1 mg/mL sur la peroxydation lipidique. (* $p < 0,05$; # $p < 0,01$; $n = 3$).

contre $32,41 \pm 1,16$ % respectivement pour le MHF et le DAF. La Quercétine (1 mg/mL) prise comme témoin a donné le meilleur effet inhibiteur sur la peroxydation lipidique

(inhibition égale à $46,93 \pm 0,03$ %) comparativement au DAF et au MHF avec une différence significative.

Discussion

De nombreuses études ont montré que les membranes plasmiques des érythrocytes humains AA, AS et SS ont des stabilités variables en fonction de leur milieu ambiant (Ibeh et al., 1992). Dans le cadre du traitement de patients souffrant de drépanocytose, la recherche de molécules ou de substances actives capables de protéger l'intégrité membranaire des hématies devient de plus en plus importante. En milieu hypotonique, les hématies prennent l'eau osmotique qui se traduit par une turgescence jusqu'à un seuil critique avant la lyse de celles-ci. En effet, des études ont déjà montré que la capacité de l'érythrocyte normal humain (génotype HbAA) à résister à l'hypotonie résulte de sa forme biconcave qui lui permet d'augmenter son volume d'environ 70 % avant un retrait de la membrane superficielle (Parpart et al., 1947).

Dans cette étude, nous avons testé l'effet protecteur des extraits de *F. sycomorus* (DAF et MHF) sur la lyse cellulaire des érythrocytes de patients SS et SC en présence de concentrations croissantes de NaCl (0 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 et 9 g/L). Les résultats ont montré que sur les érythrocytes SC, le DAF assure une inhibition positive de l'hémolyse de ces hématies de manière concentration-dépendante de 1 mg/mL à 4 mg/mL (Figure 1a). Cela pourrait s'expliquer par le fait que le DAF a une potentialité à

protéger la membrane des érythrocytes SC en assurant une meilleure flexibilité de celle-ci. Les résultats ont aussi montré que le MHF à la concentration de 2 mg/mL assure une meilleure protection contre l'hémolyse des érythrocytes SC comparativement aux concentrations plus élevées (MHF 3, 4 et 5 mg/mL) qui ont induit une faible mais positive inhibition (E_{max} inférieur à 30%) de l'effet du NaCl (Figure 1b). Ce résultat suggère que le MHF est à utiliser à faible dose dans la mesure où les fortes concentrations ne potentialisent pas l'effet antihémolytique de cet extrait sur les érythrocytes SC.

Sur les érythrocytes du sujet SS par contre, l'effet antihémolytique des extraits (DAF et MHF) a diminué pour toutes les concentrations testées comparativement à celui obtenu sur les hématies SC pour les mêmes concentrations. Les pourcentages d'inhibition étaient en deçà de 35 %. L'effet du DAF à 3 mg/mL était remarquable ($E_{max} = 22,5 \pm 0,00$ %) comparativement aux autres concentrations qu'elles soient inférieures (DAF 1 et 2 mg/mL) ou supérieures (DAF 4 et 5 mg/mL) (figure 2a). Quant au MHF, seule la concentration de 2 mg/mL a induit un effet antihémolytique remarquable sur les hématies SS pour une concentration en NaCl égale à 6 g/L (figure 2b) comparativement au cas précédent sur les hématies SC où l'effet antihémolytique de

cet extrait à la même concentration de 2 mg/mL était très significatif dans un milieu où la concentration en NaCl était strictement inférieure à 2 g/L. Ce résultat suggère que le MHF protège mieux les hématies SC que celles SS en milieu hypotonique. Ce constat est en phase avec ceux d'autres auteurs qui avaient déjà montré que même en absence de crise, le processus hémolytique est plus sévère dans la drépanocytose SS que dans la forme SC (Boutchi, 2015 ; Palek, 1977). De plus, les résultats étaient comparables à ceux de l'Acfol® (0,1 mg/mL) pris comme témoin positif, qui a aussi montré une action antihémolytique plus marquée sur les hématies SC que sur celles SS. L'hémolyse constatée avec le DAF (5 mg/mL) et (1 mg/mL ou 2 mg/mL) respectivement sur les hématies SC et SS serait due à l'effet de certains saponosides présents dans l'extrait. En effet, des études antérieures ont montré que certaines catégories de saponosides présents dans les extraits de plantes altèrent souvent les membranes cellulaires, favorisant les passages transmembranaires, et causant la lyse cellulaire (Bruneton, 2009 ; Francis et al., 2002 ; Podolak et al., 2010).

La physiopathologie complexe de la drépanocytose est basée sur l'instabilité et la polymérisation de l'hémoglobine anormale (HbS). Ce qui induit des altérations structurales de la membrane du globule rouge provoquant une lipoperoxydation avec des réactions radicalaires importantes, dont la conséquence est l'accélération du processus d'hémolyse des érythrocytes (Deby and Pincemail, 1986 ; Hebbel et al., 1982 ; Rice-Evans et al., 1986). Les résultats ont montré que les extraits ont une action inhibitrice de la lipoperoxydation *in vitro* avec un effet du MHF significativement supérieur à celui

du DAF (Figure 3). La présente étude tend donc à montrer qu'un solvant éthanolique 95% extrait davantage de principes actifs contre l'hémolyse et la peroxydation lipidique que l'eau par décoction aqueuse. Cependant, dans le contexte du Burkina Faso, le décocté comme forme d'extrait garde tout son intérêt. En effet, l'eau est le solvant le plus à la portée des populations. En outre, il est actif sur la forme hétérozygote SC qui est la forme prédominante au Burkina Faso, du fait que la fréquence de l'allèle C est près de 4,5 fois plus élevée que celle de l'allèle S (0,11 contre 0,025) (Modiano et al., 2001).

Les propriétés antihémolytique et antiperoxydation lipidique montrées dans cette étude pourraient donc s'expliquer par l'action des composés phénoliques présents dans la plante tels que les tanins et les flavonoïdes, et qui sont reconnus pour leurs potentialités à protéger contre la lyse membranaire et contre la peroxydation lipidique. En effet, des études antérieures ont montré les propriétés antiradicalaires de *F. sycomorus* qui seraient due à la présence d'une forte proportion en tanins dans les feuilles de cette plante (Abdel-Hameed, 2009 ; Ramdé-Tiendrébéogo et al., 2012 ; Sandabe et al., 2006). Ainsi, par leur action comme donneurs de proton et accepteurs de radicaux libres, les tanins sont capables de stopper le mécanisme d'oxydation radicalaire et de ce fait inhiber la peroxydation lipidique voire le processus hémolytique des érythrocytes (Bouchet et al., 1998 ; Sombie et al., 2011). De plus, les anthocyanes présentes dans les extraits de feuilles de *Ficus sycomorus* pourraient, par leur effet antifalcémiant, empêcher la lyse cellulaire et assurer la protection de l'intégrité des membranes des érythrocytes drépanocytaires (SS et SC) (Jean-Paul, 2011 ; Mpiana et al., 2008).

Conclusion

Cette étude a montré que les extraits de feuilles (DAF et MHF) de *Ficus sycomorus* ont une activité antihémolytique sur les érythrocytes drépanocytaires SS et SC. De plus, ils ont une action inhibitrice de la peroxydation lipidique *in vitro*. Ces résultats renforcent ceux déjà obtenus

et montrent l'intérêt des feuilles de *Ficus sycomorus* dans la prise en charge de la drépanocytose. Des études ultérieures bio-guidées sur les fractions actives devraient permettre d'isoler et d'identifier des molécules potentiellement antidrépanocytaires.

References

Abdel-Hameed E.-S., 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chemistry*, 114(4): 1271-1277.
Avaligbe C. T., Gbenou J. D., Kpoviessi D., Accrombessi G. C., Moudachirou M., & Gbeassor M., 2012. Antihemolytic Properties of Extracts of Six Plants Used in the Traditional

Treatment of Sickle Cell Disease in Benin. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(3): 8-13.

Bekheet S. H., Abdel-Motaal F. F., & Mahalel U. A., 2011. Antifungal effects of *Ficus sycomorus* and *Pergularia tomentosa* aqueous extracts on some organs in *Bufo regularis* treated with *Aspergillus niger*. *Tissue Cell*, 43(6): 398-404.

- Bensinger T. A., & Gillette P. N., 1974.** Hemolysis in sickle cell disease. *Archives of internal medicine*, 133(4): 624-631.
- Bouchet N., Barrier L., & Fauconneau B., 1998.** Radical scavenging activity and antioxidant properties of tannins from *Guiera senegalensis* (Combretaceae). *Phytotherapy Research*, 12(3): 159-162.
- Boutchi M., 2015.** Hémolyse chronique des sujets drépanocytaires SS et SC en phase stationnaire : étude comparative au centre national de référence de la drépanocytose à Niamey. *Revue du CAMES: Science de la santé*, 3(1).
- Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc-Éditions médicales internationales, 2009, 1288 p: ISBN 978-2-7430-1188-8.
- Coppieters M., Godin I., Coppieters Y., & Gulbis B., 2011.** Analyse qualitative de l'offre pour la prévention et la prise en charge de la drépanocytose à Bruxelles. *Revue Médicale de Bruxelles-Nouvelle Serie*, 32(3): 139.
- Couroucé A.-M., & Pillonel J., 1998.** Risque de transmission d'infections virales par transfusion de dérivés sanguins labiles. *Médecine thérapeutique*, 3(10): 858-862.
- Deby C., & Pincemail J., 1986.** [Toxicity of oxygen, free radicals and defense mechanisms]. *Presse Médicale*, 15(31): 1468-1474.
- Douamba S., Nagalo K., Tamini L., Traoré I., Kam M., & Yé D., 2017.** Syndromes drépanocytaires majeurs et infections associées chez l'enfant au Burkina Faso. *The Pan African Medical Journal*, 26.
- Elekwa I., Monanu M., & Anosike E., 2003.** Effects of aqueous extracts of *Garcinia kola* seeds on membrane stability of HbAA, HbAS and HbSS human erythrocytes. *Global Journal of Medical Sciences*, 2(2): 97-101.
- Francis G., Kerem Z., Makkar H. P., & Becker K., 2002.** The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition*, 88(6): 587-605.
- Guissou I. P., Sawadogo M., Sawadogo A., & Ouattara A., 1995.** Etude de l'activité antirépanocyttaire de gélules FACA chez les enfants en milieu hospitalier de Ouagadougou (CHNYO). *Pharmacie et Médecine Traditionnelle*, 1: 29-38.
- Hebbel R. P., Eaton J., Balasingam M., & Steinberg M. H., 1982.** Spontaneous oxygen radical generation by sickle erythrocytes. *Journal of Clinical Investigation*, 70(6): 1253.
- Ibeh G., Anosike E., & Ekeke G., 1992.** Effects of age on erythrocyte membrane ATPases in normal and sickle cells. *Nig. J. Biochem*, 7: 38-46.
- Jean-Paul N. K. T.-N., 2011.** *Evaluation de l'activité anti-drépanocyttaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la RD Congo et de Madagascar.* Université de Kinshasa.
- Lambotte C., 1962.** Hand-foot syndrome in sickle-cell disease. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 104(2): 200.
- Maregesi S. M., Pieters L., Ngassapa O. D., Apers S., Vingerhoets R., Cos P., Berghe D. A., & Vlietinck A. J., 2008.** Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1): 58-66.
- Mgbemene C., & Ohiri F., 1999.** Anti-sickling potential of *Terminalia catappa* leaf extract. *Pharmaceutical biology*, 37(2): 152-154.
- Modiano D., Luoni G., Sirima B. S., Lanfrancotti A., Petrarca V., Cruciani F., Simporte J., Ciminelli, B. M., Foglietta E., Grisanti P., Bianco I., Modiano G., & Coluzzi M., 2001.** The lower susceptibility to *Plasmodium falciparum* malaria of Fulani of Burkina Faso (west Africa) is associated with low frequencies of classic malaria-resistance genes. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 95(2): 149-152.
- Mpiana P. T., Mudogo V., Tshibangu D. S., Kitwa E. K., Kanangila A. B., Lumbu J. B., Ngbolua K. N., Atibu E. K., & Kakule M. K., 2008.** Antisickling activity of anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis* and *Ziziphus mucronata*: photodegradation effect. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3): 413-418.
- Mpiana P. T., Ngbolua K. N., Bokota M. T., Kasonga T. K., Atibu E. K., Tshibangu D. S., & Mudogo V., 2010.** In vitro effects of anthocyanin extracts from *Justicia secunda* Vahl on the solubility of haemoglobin S and membrane stability of sickle erythrocytes. *Blood Transfus*, 8(4): 248-254.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Ebrahimzadeh, M. A., Eslami, B., & Jafari, N., 2013.** In vitro antioxidant and antihemolytic activities of hydroalcoholic extracts of *Allium scabriscapum* Boiss. & Ky. aerial parts and bulbs. *International journal of food properties*, 16(4): 713-722.
- Nikiema J. B., Ouattara B., Semde R., Djierro K., Compaore M., Guissou I. P., & Kasilo O. M., 2010.** Promotion de la médecine traditionnelle au Burkina Faso: Essai de développement d'un médicament antirépanocyttaire, le FACA. *The African Health Monitor (WHO Publication)*.
- Njagi J., Piero M., Ngeranwa J., Njagi E., Kibiti C., Njue W., Maina D., & Gathumbi P., 2012.** Assessment of Antidiabetic Potential of *Ficus Sycomorus* on Alloxan-induced Diabetic Mice. *International Journal of Diabetes Research*, 1(4): 47-51.
- Nongonierma R. B., Sy G. Y., Ndiaye L., Thiam D., Samb I., & Samb A., 2005.** Activité antirépanocyttaire de la fraction F3 de l'extrait acétonique des écorces de tiges de *Ficus gnaphalocarpa*. *Le Pharmacien d'Afrique*, 187: 3-6.
- Ogoda Onah, J., Akubue, P. I., & Okide, G. B., 2002.** The kinetics of reversal of pre-sickled erythrocytes by the aqueous extract of *Cajanus cajan* seeds. *Phytotherapy Research*, 16(8): 748-750.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K., 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2): 351-358.
- OMS., 2012.** Compendium des stratégies de santé publique, Vol. 1. Brazzaville: Bureau Régionale de l'Afrique.
- Palek, J., 1977.** Red cell membrane injury in sickle cell anaemia. *Br J Haematol*, 35(1): 1-9.
- Parpart, A. K., Lorenz, P. B., Parpart, E. R., Gregg, J. R., & Chase, A. M., 1947.** The Osmotic Resistance (Fragility) of Human Red Cells. *J Clin Invest*, 26(4): 636-640.
- Podolak I., Galanty A., & Sobolewska D., 2010.** Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*, 9(3): 425-474.
- Ramdé-Tiendrébéogo A., Tibiri A., Hilou A., Lompo M., Millogo-Kone H., Nacoulma O., & Guissou I., 2012.** Antioxydative and antibacterial activities of phenolic compounds from *Ficus sur* Forssk. and *Ficus sycomorus* L.(Moraceae): potential for sickle cell disease treatment in Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(1): 328-336.
- Ramdé-Tiendrébéogo A., Tibiri A., Ouedraogo M., Ouedraogo S., Nacoulma O. G., & Guissou I. P., 2014.** Study of Antisickling and Vasorelaxant Activities and Acute Toxicity Assessment of Crude Extracts of Leaves of *Ficus sycomorus* L.(Moraceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17(6): 829.
- Rice-Evans C., Omorphos S. C., & Baysal E., 1986.** Sickle cell membranes and oxidative damage. *Biochem. J*, 237: 265-269.
- Sandabe U. K., Onyeyili P. A., & Chibuzo G. A., 2006.** Phytochemical screening and effect of aqueous extract of *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) stem bark on muscular activity in laboratory animals. *J Ethnopharmacol*, 103(3): 481-483.
- Sanon S., Ollivier E., Azas N., Mahiou V., Gasquet M., Ouattara C. T., Nebie I., Traore A. S., Esposito F., Balansard G., Timon-David P., & Fumoux F., 2003.** Ethnobotanical survey and in vitro antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *J Ethnopharmacol*, 86(2-3): 143-147.
- Sofowora E. A., & Isaacs W. A., 1971.** Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of *Fagara zanthoxyloides*. *Lloydia*, 34(4): 383-385.

Sombie P. A. E. D., Hilou A., Coulibaly A. Y., Tibiri A., Kiendrebeogo M., & and Nacoulma O. G., 2011. Brain protective and erythrocytes hemolysis inhibition potentials from galls of *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Journal of pharmacology and toxicology*, 6(4): 361-370.

Tuyen N. v., Kim D. S. H. L., Fong H. S., Soejarto D. D., Khanh T. C., Tri M. V., & Xuan L. T, 1999. Structure elucidation of two triterpenoids from *Ficus fistulosa*. *Phytochemistry*, 50(3): 467-469.