



## Étude de l'activité antifalcémiant et de la thermo- et photo-dégradation des anthocyanes de *Centella asiatica*, *Thomandersia hensii* et *Maesopsis eminii*

P.M. YUMA<sup>1</sup>, P.T. MPIANA<sup>2\*</sup>, M.T. BOKOTA<sup>3</sup>, I.B. WAKENGE<sup>1</sup>,  
C.L. MUANISHAY<sup>2</sup>, B.Z. GBOLO<sup>2</sup>, G. Mathina Di MATHINA<sup>1</sup>,  
D.S.T. TSHIBANGU<sup>2</sup> et K.N. NGBOLUA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculté des Sciences, Université de Lubumbashi, Lubumbashi, R.D. Congo.

<sup>2</sup> Faculté des Sciences B.P. 190, Université de Kinshasa, Kinshasa XI, R. D. Congo.

<sup>3</sup> Faculté des Sciences, Université de Kisangani, R.D.Congo.

\*Auteur correspondant ; E-mail: [ptmpiana@yahoo.fr](mailto:ptmpiana@yahoo.fr) ; Tél : +243 81 811 60 19.

### RESUME

L'activité antifalcémiant des feuilles de *Centella asiatica* (L.) Urb. et *Thomandersia hensii* De Wild. & T. Durand et des écorces de la tige de *Maesopsis eminii* Engl. ; trois plantes utilisées en médecine traditionnelle contre la drépanocytose dans la ville de Kisangani (RD Congo), a été testée en utilisant le test d'Emmel. Les résultats obtenus ont montré une activité antifalcémiant importante *in vitro* pour les trois plantes. Cette activité serait due aux anthocyanes. Les concentrations minimales de normalisation des drépanocytes obtenus sont de l'ordre de 8µg/ml pour les anthocyanes de ces trois plantes. Les spectres des anthocyanes ont montré une sensibilité à lumière UV et à la chaleur indiquant que ces pigments sont instables vis-à-vis de ces deux paramètres.

© 2013 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés** : Drépanocytose, Test d'Emmel, Concentration Minimale de Normalisation, Taux de normalisation.

### INTRODUCTION

La drépanocytose, appelée aussi anémie falciforme, est comptée parmi les maladies des régions tropicales. Elle est causée par une hémoglobine anormale appelée hémoglobine S, dont l'acide glutamique est remplacé par un autre acide aminé, la valine en position 6 dans la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine. Cette hémoglobinopathie est une maladie génétique, héréditaire, autosomale et récessive. L'anémie falciforme est actuellement répandue dans les cinq continents à cause du flux migratoire (Voet et Voet, 1998 ; Mpiana et al., 2007a ; Ibrahim,

2007 ; Mpiana et al., 2008a ; Mpiana et al., 2012).

Les pertes en vies humaines dans le monde dues à la drépanocytose sont estimées à environ 5 millions de personnes par an. Dans certaines régions d'Afrique, les porteurs du trait drépanocytaire représentent jusqu'à 20% de la population avec une prévalence en Afrique Centrale de 25 à 30% (Egunyomi et al., 2009 ; Iyamu et al., 2002 ; Moody et al., 2003 ; Ogunyemi et al., 2008 ; Voet et Voet, 1998). Deux pourcents de la population en République Démocratique du Congo (RDC)

sont touchés par cette maladie, soit plus d'un million de personnes (Mpiana et al., 2012).

Plusieurs options thérapeutiques ont été mises au point pour lutter contre la drépanocytose mais n'apportent pas de succès. Toutes ces approches thérapeutiques sont soit onéreuses, soit toxiques et ne sont pas accessibles aux populations à faibles revenus (Mehanna, 2001 ; Mpiana et al., 2010a; 2010b ; Mpiana et al., 2012). L'utilisation des plantes médicinales semble pourtant ces dernières années donner un peu plus d'espoir. En effet, plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelles africaine contre cette maladie génétique ont montré *in vivo* l'activité antifalcémiant (Akjje and Fung, 1992 ; Elekwa et al., 2005 ; Iyamu et al., 2002 ; Ibrahim, 2007 ; Egunyomi et al., 2009 ; Ogunyemi et al., 2008).

En RDC, notre équipe de recherche effectue des recherches depuis quelques années sur cette maladie et a pu expérimentalement mettre en évidence l'activité anti drépanocytaire de plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle contre cette hémoglobinopathie (Mpiana et al., 2007a , 2007b , 2007c ; Mpiana et al., 2012). Cette équipe a montré que l'activité biologique de ces plantes serait due aux anthocyanes (Mpiana et al., 2008a, 2008b ; Mpiana et al., 2009a , 2009b, 2009c , 2009d , 2009e , 2009f ; Mpiana et al., 2010a , 2010b , 2010c , 2010d).

Ces pigments sont connus pour leur instabilité vis-à-vis de certains paramètres physico-chimiques tels que la lumière, la chaleur et le pH (Mpiana et al., 2008a ; Mpiana et al., 2010b ; Mpiana et al., 2009a, 2009b, 2009c, 2009d, 2009e, 2009f). Pourtant, les tradipraticiens exposent ces plantes au soleil et les font généralement bouillir pour en faire des décoctions.

Le but de cette étude est :

- De vérifier l'activité antidrèpanocytaire *in vitro* de trois plantes utilisées en médecine traditionnelle contre la drépanocytose à Kisangani. Il s'agit de *Centella asiatica* (L.) Urb., *Thomandersia*

*hensii* De Wild. & T.Durand et *Maesopsis eminii* Engl.;

- D'en extraire les anthocyanes et tester leur activité antidrèpanocytaire ;
- De déterminer la concentration minimale de normalisation (CMN), des extraits des anthocyanes ;
- D'étudier l'effet de la lumière et la chaleur sur la stabilité de ces pigments.

## MATERIELS ET METHODES

### Matériels

#### Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles de *Centella asiatica* (L.) Urb. (Famille : Apiaceae ; Herbier N0 H. Breyne 4586) et de celles de *Thomandersia hensii* De Wild. & T. Durand (Famille : Thomandersiaceae ; Herbier N0 D. Bolema 110), ainsi que des écorces de la tige de *Maesopsis eminii* Engl.(Famille : Rhamnaceae ; Herbier N0 A. Schmitz 7601), récoltées dans la ville de Kisangani et de ses environs. L'identification botanique a été confirmée par des conservateurs botanistes de l'Herbarium de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani.

#### Le sang

Les échantillons de sang SS ont été obtenus au centre de Gracia Fondation, une ONG qui prend en charge les enfants drépanocytaires, dans la commune de Makiso, Ville de Kisangani.

### Méthodes

#### Prélèvement du matériel végétal

La récolte des feuilles et des écorces de nos plantes s'est effectuée le matin de 6 heures à 8 heures pendant la période du 21 au 28 mars 2011.

Les échantillons séchés ont été broyés dans un mortier, puis tamisés à l'aide d'un tamis de fabrication locale. Les poudres obtenues ont été conservées dans des récipients hermétiquement fermés et à l'abri de la lumière.

#### Préparation des extraits totaux

Dix gramme de poudre ont été pesés puis transvasés dans un erlenmeyer et un

volume approprié de solvant, prélevé à l'aide d'une éprouvette graduée y été ajouté.

Ils ont été ensuite macérés dans 200 ml d'eau distillée ou 100 ml d'éthanol suivant le cas, pendant 48 heures à la température ordinaire. Les macérés obtenus ont été filtrés à l'aide du papier filtre puis séchés à la température ambiante pour les extraits éthanoliques, et à l'étuve (45 °C) pour les extraits totaux aqueux, comme précédemment décrits (Mpiana et al., 2008a).

#### **Evaluation de l'activité antidiabétique**

L'activité antifalcémiant des extraits totaux ainsi que celle des extraits d'anthocyanes ont été mises en évidence selon le test d'Emmel (Joppa et al., 2008 ; Ibrahim et al., 2007 ; Mpiana et al., 2007a).

Les solutions de travail ont été obtenues en préparant des concentrations par dissolution d'un poids connu en mg d'extraits totaux éthanoliques ou d'anthocyanes dans une solution physiologique (0,9% NaCl). L'activité anti drépanocytaire *in vitro* des préparations médicamenteuses sur les drépanocytes a été évaluée en incubant à la température du laboratoire pendant 24h le sang des sujets homozytes SS avec, soit les deux extraits totaux secs, séparément d'une part, soit avec des concentrations croissantes des préparations. Après incubation, les différentes préparations microscopiques ont été examinées au microscope optique de marque MOTIC AE 21.

Le nombre d'érythrocytes normalisés par rapport au témoin SS a été déterminé en utilisant un compteur à main. La concentration minimale de normalisation (CMN), c'est-à-dire la plus petite concentration de la drogue qui donne le taux de normalisation maximal est déterminée pour chaque préparation médicamenteuse.

#### **Extraction des anthocyanes**

Les anthocyanes sont isolés grâce à leur propriété d'insolubilité dans les solvants organiques apolaires. 50 gr de poudre sont macérés dans 500 mL d'eau distillée pendant 48 heures à la température ordinaire. Les macérés obtenus sont filtrés à l'aide du papier filtre. Les anthocyanes sont ensuite précipités

par l'addition d'un volume égal d'éther diéthylique. Le précipité est séparé par décantation puis séché à l'air libre jusqu'à poids constant et pesé. La quantité du résidu représente le poids des extraits totaux d'anthocyanes. Un test de confirmation est réalisé avec HCl 20% (Bruneton, 2009).

#### **Mesures spectrophotométriques**

Les mesures spectrométriques sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de marque Perkin Elmer utilisant des cuvettes de mesure de 1cm d'épaisseur en quartz. Les solutions de mesure sont préparées de manière à avoir une densité optique maximale située entre 1 et 2 à la bande d'absorption maximale.

## **RESULTATS**

### **Activité antifalcémiant des extraits totaux des plantes**

Les Figures 1 et 2 suivantes donnent respectivement les micrographies du sang SS seul et du sang SS en présence des extraits aqueux de *Centella asiatica*.

Le Tableau 1 ci-dessous donne les résultats du test d'Emmel réalisé sur six extraits aqueux et alcooliques de trois plantes médicinales utilisées pour vérifier le pouvoir antifalcémiant sur le sang SS.

### **Rendement des anthocyanes**

La Figure 3 donne le taux de rendement en anthocyanes pour les trois plantes.

Cette figure montre que *Centella asiatica* donne un rendement en anthocyanes élevé par rapport aux autres tandis que *Maesopsis eminii* présente le rendement le plus faible.

### **Activité antifalcémiant des extraits d'anthocyanes**

Le Tableau 2 suivant donne les résultats de l'activité antidiabétique des anthocyanes extraits de trois plantes à la concentration de 8 µg/mL.

Il ressort de ce tableau que tous les extraits d'anthocyanes sont actifs et permettent la normalisation des drépanocytes.

La Figure 4 donne l'évolution du taux de normalisation des drépanocytes ou taux

d'inhibition de la falciformation en fonction de la concentration en anthocyanes de *Centella asiatica*.

#### **Thermo-dégradation des extraits d'anthocyanes**

La Figure 5 donne les spectres de la solution aqueuse des extraits d'anthocyanes de concentration égale à 2 µg/mL exposée à 30 °C, 80 °C et 120 °C pendant 5 heures.

Il ressort de cette figure que le spectre de l'extrait en anthocyanes est modifié par la chaleur. Elle montre la disparition progressive de la bande d'absorption observée dans la figure et l'apparition des nouvelles bandes dont les intensités augmentent avec la température. Ce qui indique la dégradation d'anthocyanes vis-à-vis de la chaleur.

Il est en effet, intéressant de voir l'évolution de la densité optique (D.O.) des extraits d'anthocyanes en fonction de la température en gardant le temps d'exposition constant. Pour cela nous avons travaillé à une longueur d'onde fixe de  $\lambda = 330nm$  (Figure 6).

Cette figure montre qu'il y a une décroissance de la D.O. au fur et à mesure que la température augmente.

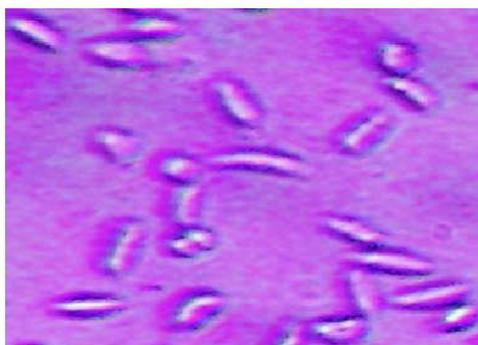
#### **Photo-dégradation des extraits d'anthocyanes**

La Figure 7 donne les spectres de la solution des extraits d'anthocyanes exposée aux rayonnements U.V à 254 nm et 366 nm pendant 2 h.

Cette figure montre que le spectre des anthocyanes est modifié par les rayonnements UV. Il y a disparition des anciennes bandes et apparition des nouvelles. Ce qui montre que les rayonnements U.V entraînent la dégradation des anthocyanes.

La Figure 8 donne les densités optiques de la solution d'anthocyanes exposée à la lampe UV à 254 et 366 nm pendant 1h et 2h.

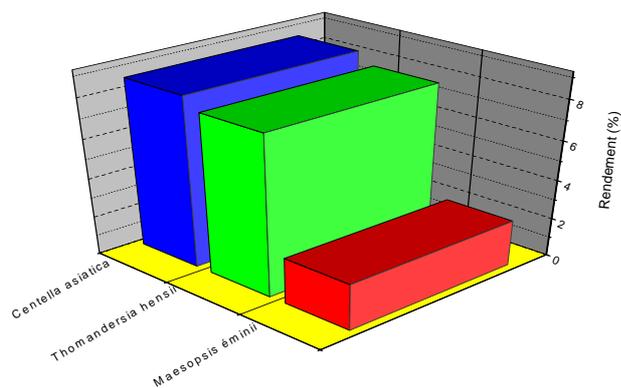
Il ressort de cette figure que la densité optique varie avec le temps d'exposition et la longueur d'onde d'émission maximale de la lampe.



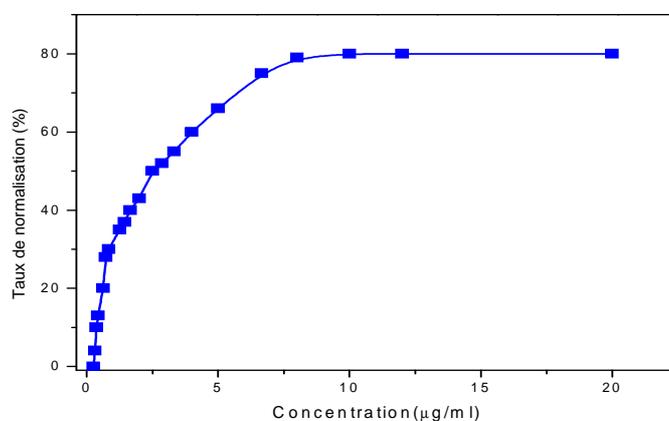
**Figure 1** : Micrographie optique des drépanocytes non traités (témoin) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X500).



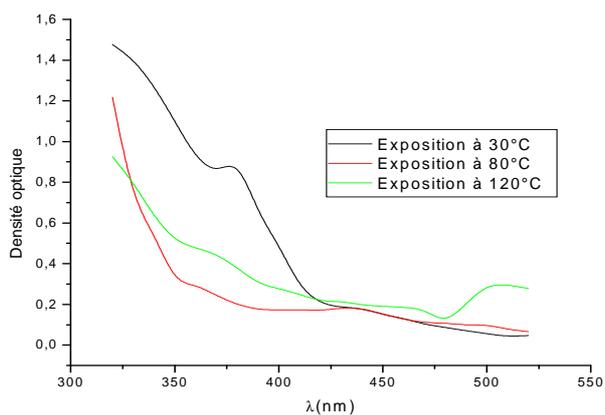
**Figure 2** : Micrographie optique des drépanocytes traités aux extraits aqueux de *Centella asiatica* (8 µg/mL) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X500).



**Figure 3 :** Rendement en anthocyanes pour les trois plantes.



**Figure 4 :** Taux de normalisation des drépanocytes en fonction de la concentration en extraits d'anthocyanes de *Centella asiatica*.



**Figure 5 :** Spectres des extraits d'anthocyanes à différentes températures (Temps d'exposition : 5 heures).

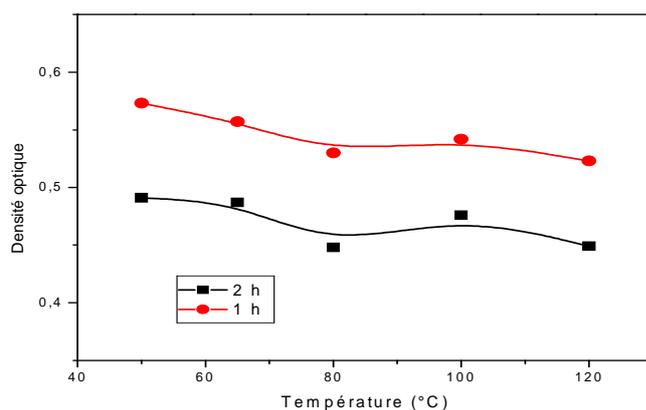


Figure 6 : Variation de la D.O. des extraits d'anthocyanes en fonction de la température.

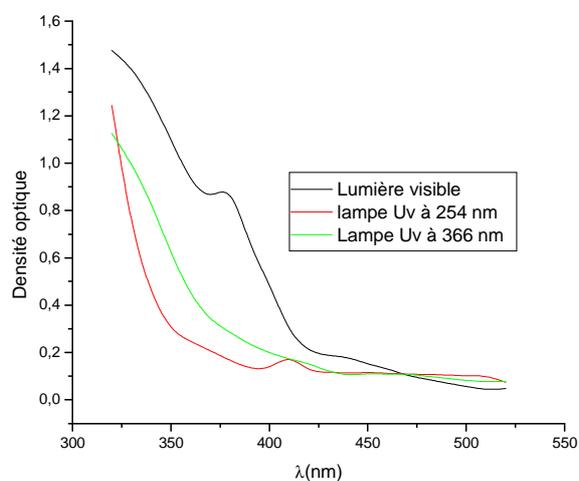


Figure 7 : Spectres non dégradé et dégradé des extraits d'anthocyanes.

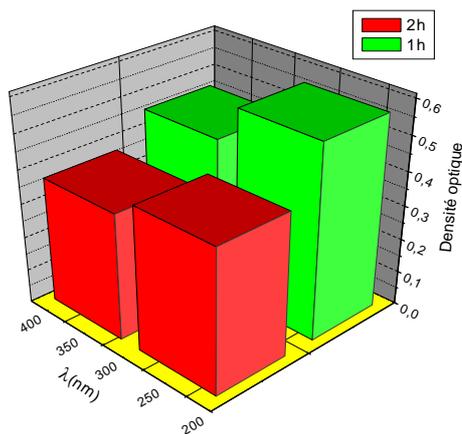


Figure 8 : Variation de la D.O. des extraits d'anthocyanes en fonction des rayonnements UV.

**Tableau 1 :** Résultats préliminaires de l'activité antifalcémiant des plantes médicinales utilisées.

Espèces végétales	Partie utilisée	Extrait aqueux	Extrait alcoolique
<i>Centella asiatica</i>	Feuilles	+++	+
<i>Thomandersia hensii</i>	Feuilles	++	+
<i>Maesopsis eminii</i>	Ecorces de tige	++	-

Légende : +++: Taux de normalisation très élevé ; ++: Taux de normalisation élevé ; + : Taux de normalisation faible,

**Tableau 2 :** Activité antirépanocytaire des extraits d'anthocyanes de trois plantes.

Espèces végétales	Test
<i>Centellaasiatica</i>	+++
<i>Thomandersiahensii</i>	+++
<i>Maesopsiséminii</i>	+++

Légende : +++: Taux de normalisation très élevé

## DISCUSSION

La Figure 1 montre qu'en grande partie, les érythrocytes sont falciformes. Ce qui confirme que notre échantillon de sang est bel et bien le sang SS. Mais en présence des extraits aqueux de *Centella asiatica* (Figure 2), les globules rouges du sang drépanocytaire reprennent leur forme normale bien qu'on soit en conditions hypoxiques. Ceci prouve que les extraits de cette plante possèdent une activité antifalcémiant *in vitro*. Ce type d'image a été observé pour les autres plantes. En effet, le Tableau 1 montre que toutes les trois plantes ont donné un résultat positif pour les extraits aqueux tandis que pour les extraits alcooliques, seule *Maesopsis eminii* a donné un résultat négatif.

Ce résultat corrobore ceux de Mpiana et ses collaborateurs (Mpiana et al., 2007a; 2007b; Mpiana et al., 2008a; 2008b; Mpiana et al., 2010b) pour un bon nombre des plantes utilisées en médecine traditionnelle congolaise contre la drépanocytose. Le fait que les extraits aqueux ou alcooliques soient actifs indique que le groupe chimique à la base de cette activité est soluble dans ces solvants. Selon cette même équipe, cette activité serait due notamment aux anthocyanes (Mpiana et al., 2008a, b; Mpiana et al., 2009a; 2009b; 2009c; 2009d; 2009e; 2009f; Mpiana et al., 2010a; 2010b; 2010c; 2010d). C'est qui nous

a conduit à extraire ces pigments et à tester leur activité antirépanocytaire.

La Figure 3 donne les teneurs en anthocyanes dans les plantes analysées. Si on tient compte du fait que ces teneurs sont déterminées sur les matières sèches, on peut dire que nos résultats sont en accord avec des teneurs en anthocyanes rapportées par Bruneton (1999).

Le test d'Emmel réalisé avec les extraits d'anthocyanes des trois plantes a montré que ces polyphénols ont une activité antirépanocytaire élevée (Tableau 2). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus pour les anthocyanes extraits d'autres plantes médicinales congolaises (Mpiana et al., 2008a, 2008b; Mpiana et al., 2009a, 2009b, 2009c, 2009d, 2009e, 2009f; Mpiana et al., 2010a, 2010b, 2010c, 2010d; Mpiana et al., 2012).

La Figure 4 montre une augmentation du taux de normalisation avec la concentration en anthocyanes. Ce taux atteint 80% et reste constant quelle que soit l'augmentation de la concentration en anthocyanes. Ce taux maximal est atteint à partir de la concentration de 8 µg/ml en anthocyanes. C'est la concentration minimale de normalisation (CMN) (Mpiana et al., 2008a ; Mpiana et al., 2009b).

Les anthocyanes sont malheureusement sensibles aux paramètres physico-chimiques tels que la chaleur, le pH et la lumière (Francis, 1989). Or ces plantes sont généralement exposées au soleil et la décoction est préconisée comme moyen de préparation par les tradipraticiens. Les spectres UV-visibles en absence et en présence de la lumière UV ou de la chaleur ont été enregistrés (Figures 5 et 7). Les bandes observées dans le visible sont dues aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  de l'ion flavylum (Mpiana et al., 2009b).

Ces figures montrent l'instabilité des anthocyanes suite à la température et au rayonnement U.V. Ces modifications spectrales en fonction de la température et du rayonnement U.V sont des preuves de thermo-dégradation et photo-dégradation des anthocyanes. Il en est de même pour la décroissance de la D.O des anthocyanes au fur et à mesure que la température augmente (Figure 6). Les rayonnements U.V. utilisés pour simuler une dégradation accélérée des anthocyanes indiquent que cette dégradation dépend non seulement de l'énergie du rayonnement (longueur d'onde) mais aussi du temps d'exposition. Ces résultats sont en accord avec ceux de nos prédécesseurs (Mpiana et al., 2008a; Mpiana et al., 2009a,c,e).

### Conclusion

Il ressort donc de cette étude que les extraits en anthocyanes de trois plantes utilisées, *Centella asiatica*, *Thomandersia hensii* et *Maesopsis eminii*, ont présenté une efficacité sur la normalisation des érythrocytes falciformes. Cette activité serait due aux anthocyanes dont le rendement varie selon les espèces. Le taux de normalisation maximum atteint 80% pour les extraits d'anthocyanes et la concentration minimum de normalisation est de l'ordre de 8 $\mu$ g/ml. Les extraits d'anthocyanes présentent une absorption caractéristique dans l'U.V. et se dégradent en fonction de la température et de l'exposition au rayonnement U.V.

Ces résultats confirment l'activité biologique de ces plantes déjà utilisées en médecine traditionnelle. Mais l'instabilité des anthocyanes responsables de cette activité nous pousse à conseiller aux tradipraticiens de sécher à l'ombre et de ne pas les bouillir longtemps.

Les travaux à venir devront s'atteler à la détermination des structures des composés isolés sur les extraits totaux d'anthocyanes, responsables de cette activité et la toxicologie de ces plantes en vue de la formulation des phytomédicaments.

### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient "The International Foundation for Science (IFS)" et "The Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW)" pour la bourse de recherche N° F/4921-2 octroyée à NGBOLUA KN pour ses recherches postdoctorales sur la drépanocytose.

### REFERENCES

- Akjee FO, Fung LW. 1992. Antisickling activity of hydroxybenzoic acids in *Cajanus cajan*. *Plant. Med.*, **58**(4): 317-320.
- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie : *Phytochimie des Plantes Médicinales* (4<sup>ème</sup> edn). Lavoisier : Paris.
- Cisse M, Vaillant F, Acosta O, Dhuique-Mayer C, Dornier M. 2009. Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins from Blood Orange, Blackberry, and Roselle Using the Arrhenius, Eyring, and Ball Models. *J. Agric. Food Chem.*, **57**: 6285-6291.
- Egunyomi A, Moody JO, Eletu OM. 2009. Antisickling activities of two ethnomedicinal plant recipes used for management of sickle cell anemia in Ibadan, Nigeria. *Af. J. Biotechn.*, **8**: 20-25.
- Elekwa I, Monanu MO, Anosike EO. 2005. Effects of aqueous extracts of *Zathoxylum macrophylla* roots on membrane stability of human

- erythrocytes of different genotypes. *Biochemistry*, **17**: 7-12.
- Francis FJ. 1989. Food colorants: anthocyanins. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, **28**: 273-314.
- Ibrahim H, Sani FS, Danladi BH, Ahmadu AA. 2007. Phytochemical and antisickling studies of the leaves of *Hymenocardia acida* Tul (Ehphorbiaceae) *Pak. J. Biol. Sci.*, **10**(5): 788-791.
- Iyamu EW, Tunner EA, Asakura T. 2002. In vitro effects of NIPRISAN (Nix-0699): a naturally occurring potent antisickling agent. *Br J. Haematol.*, **118**: 337-343.
- Joppa KM, Vovor A, Eklu-Gadegbeku K, Agbonon A, Aklidikou K, Gbeasor M. 2008. Effet de *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae) et de *Newbouldia leavis* P.Beauv.(Bignoniaceae) sur la falciformation. *Médecine Tropicale*, **68**(3): 251-256.
- Mehanna AS. 2001. Sickle cell anaemia and antisickling agents then and now. *Cur. Med. Chem.*, **8**: 79-88.
- Moody JO, Ojo OO, Omotade OO, Adeyemo AA, Olumese PE and Ogundipe OO, 2003. Anti-sickling potential of a Nigerian herbal formula (Ajawaron HF) and the Major plant component (*Cissus populnea* L. CPK). *Phytother. Res.*, **17**: 1173-1176.
- Mpiana PT, Ngbolua KN, Mudogo V, Kabangu YF, Tshibangu DST, Atibu E K, Mbala MB, Kahumba B, Bokota M., Makelele LT. 2012. The potential effectiveness of medicinal plants used for treatment of sickle cell disease in the Democratic Republic of Congo folk medicine: A review. In *Traditional and Folk Herbal Medicine* (vol. 1), Gupta VK (ed). Daya Publishing House: New Delhi; 1-11.
- Mpiana PT, Makelele LK, Oleko RW, Bokota MT, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Mbala MB, Atibu EK, Nsimba SM. 2010. Antisickling activity of medicinal plants used in the management of Sickle cell Disease in Tshopo district, D.R. Congo. *Australian Journal of Medical Herbalism*, **22**(4):132-137.
- Mpiana PT, Ngbolua KN, Atibu EK, Kasonga TM, Bokota MT, 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.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Mangwala PK, Atibu EK, Kakule MK, Makelele LK, Bokota MT. 2010. Antisickling Activity and Thermodegradation of an Anthocyanin fraction from *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), In *Comp. Bio. Nat. Prod. Effects, safety & clinical Evaluation* (part II), Gupta VK (ed). Studium Press LLC: USA; 279-287.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Atibu EK. 2010. *In vitro* Antisickling Activity of Anthocyanins Extracts from *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae), In *Medicinal Plants: Phytochemistry, Pharmacology and Therapeutics*, Gupta VK, Singh GD (eds). Daya Publishing House: Delhi ; 330-337.
- Mpiana PT, Mudogo V, Kabangu YF, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Mangwala KP, Mbala MB, Makelele LK, Bokota MT. 2009. Antisickling Activity and Thermostability of Anthocyanins extract From a Congolese Plant, *Hymenocardia acida* Tul. (Hymenocardiaceae). *Int. J. Pharmacol.* **5**(1):65-70.
- Mpiana PT, Balanganayi EK, Kanangila AB, Kalonda EM, Ngbolua KN, Tshibangu DST, Atibu EK, Lumbu JBS. 2009. Activité antidrépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **3**(3): 551-560.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Atibu EK, Kitwa EK, Kanangila AB. 2009. Antisickling activity of anthocyanins extracts of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In *Recent Progress in Medicinal Plants - Chemistry*

- and Medicinal Value, Govil JN, Singh VK (eds). Daya Publishing House: Delhi; 25: 91-98.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Tshilanda DD, Atibu EK. 2009. Antisickling activity of anthocyanins of *Jatropha curcas* L. In *Recent Progress in Medicinal Plants - Chemistry and Medicinal Value*. Govil JN, Singh VK (eds). Daya Publishing House: Delhi; 101-108.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Atibu EK, Kitwa EK, Kanangila B, Makelele LK. 2009. Activité antifalcémiant et thermodégradation d'une fraction d'anthocyanes extraits de *Zizyphus mucronata*. *Ann. Afr. Med.*, 2(2): 91-97.
- Mpiana PT, Mudogo V, Nyamangombe L, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Atibu EK, Kangolongo JN, Mbongo AK. 2009. Antisickling activity and photodegradation effect of anthocyanins extracts from *Alchornea cordifolia* (SCHUMACH & Thonn.) and *Crotalaria retusa* L. *Ann. Afr. Med.*, 2(4): 240-245.
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Kitwa EK, Kanangila AB, Lumbu JBS, Ngbolua KN, Atibu EK, Kakule MK. 2008. Antisickling activity of anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis* and *Zizyphus mucronata*: photodegradation effect, *Journal of Ethnopharmacology*, 120: 413-418.
- Mpiana PT; Mudogo V; Tshibangu DST; Tshilanda DD; Atibu EK. 2008. Antisickling activity of anthocyanins of *Jatropha curcas* L. *Recent Progress in Medicinal Plants - Chemistry and Medicinal Value*, 25: 101-108.
- Mpiana PT, Tshibangu DST, Shetonde OM, Ngbolua KN. 2007. *In vitro* antidrepanocytary activity (anti-sickle cell anaemia) of some Congolese plants. *Phytomedicine*, 14: 192-195.
- Mpiana PT; Mudogo V; Tshibangu DST.; Shetonde OM; Ngbolua KN; Mbala MB. 2007. *In vitro* antisickling activity of anthocyanins extract of a Congolese plant: *Alchornea cordifolia*. *M. Arg. J. Med. Sci.*, 7(7): 1182-1186.
- Mpiana PT; Mudogo V; Tshibangu DST; Shetonde OM; Ngbolua KN; Mbala MB. 2007. *In vitro* antisickling activity of anthocyanins from *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Int. J. Pharmacol.*, 3(4): 371-374.
- Ogunyemi CM, Elujoba AA, Durosinmi MA. 2008. Antisickling properties of *Carica papaya* Linn. *J. Nat. Prod.*, 1: 56-66.
- Voet D, Voet JG. 2005. *Biochimie* (2è éd.). Ed De Boeck Université : Bruxelles.