

Activité anti anémique d'un extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (Apiaceae)

[Anti-anemic activity of an aqueous extract of leaves of *Petroselinum crispum* (Apiaceae)]

Atto Virginie¹, Adépo Yapo Prosper², and Brou Konan André¹

¹Laboratory of Biology and Health, Félix Houphouët-Boigny, University, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratory of Biotechnology, Agriculture and Development of Biological Resources, Félix Houphouët-Boigny University, 22 BP 582 Abidjan Côte d'Ivoire

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: This study aims to enhance the African pharmacopoeia, for this purpose, we undertook to evaluate the therapeutic efficacy of the aqueous extract of leaves of *Petroselinum crispum* (Apiaceae), a plant used in the treatment of anemia. Qualitative phytochemical tests carried out with this extract have revealed the presence of sterols, polyterpenes, polyphenols, catechic tannins, flavonoids, alkaloids, quinones and saponosides. The study of acute toxicity by gavage in female mice, according to the guidelines of the OECD-423 revealed that the extract is not toxic. Anemia was induced in Wistar rats by oral administration of phenylhydrazine hydrochloride. Gavage of anemic rats with an aqueous extract of leaves of *Petroselinum crispum* (Apiaceae), at 500 or 1000 mg/kg body weight or Ranferon[®] reference substance corrected the anemia after 14 days. Red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin content and mean corpuscular hemoglobin concentration impaired by phenylhydrazine were restored. At a dose of 1000 mg/kg, the extract was more effective than Ranferon[®]. It appears from this study that this extract has anti-anaemic properties in accordance with the effectiveness recognized in traditional medicine. This activity is similar to that of Ranferon[®] and would be due to the presence of phytochemicals it contains.

KEYWORDS: *Petroselinum crispum*, phenylhydrazine, Anemia, Antianaemia, haematological parameters.

RESUME: Ce présent travail vise à valoriser la pharmacopée africaine, à cet effet, nous avons entrepris d'évaluer l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (Apiaceae), une plante utilisée dans le traitement de l'anémie. Les tests phytochimiques qualitatifs réalisés avec cet extrait ont permis de mettre en évidence la présence de stérols, de polyterpènes, de polyphénols, de tanins catéchiqes, de flavonoïdes, d'alcoïdes, de quinones et de saponosides. L'étude de la toxicité aiguë par gavage chez des souris femelles, selon les directives de l'OCDE-423 a révélé que l'extrait n'est pas toxique. L'anémie a été induite chez le rat Wistar par l'administration par voie orale de la phénylhydrazine hydrochloride. Le gavage des rats anémiés par l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (Apiaceae), à 500 ou 1000 mg/kg de PC ou du Ranferon[®] substance de référence a corrigé l'anémie au bout de 14 jours. Le nombre de globules rouges, les taux d'hémoglobine, d'hématocrite, le volume globulaire moyen, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine détériorés par la phénylhydrazine ont été restaurés. A la dose 1000 mg/kg de PC, l'extrait a été plus efficace que le Ranferon[®]. Il ressort de cette étude que cet extrait a des propriétés antianémiques en accord avec l'efficacité qui lui est reconnue dans la médecine traditionnelle. Cette activité est semblable à celle du Ranferon[®] et serait due à la présence de composés phytochimiques qu'il contient.

MOTS-CLEFS: *Petroselinum crispum*, phénylhydrazine, Anemia, Antianémique, paramètres hématologiques.

1 INTRODUCTION

L'anémie est la forme de carence en micronutriments la plus répandue dans le monde. En effet l'OMS rapporte qu'environ 50% des cas d'anémie sont dus à la carence en fer ainsi que les carences en certaines vitamines et minéraux (les vitamines B9, B12 et A, le cuivre)

[1]. 1, 62 milliards d'individus seraient anémiés dans le monde [2]. En Afrique et en Asie, l'anémie serait responsable de 3.7% à 12.8% des décès maternels au cours de la grossesse et de l'accouchement [3].

Malgré l'avènement de la médecine moderne, l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques demeure la principale source de santé primaire [4], [5]. L'OMS estime qu'en Afrique plus de 80% des populations ont recours aux plantes pour les soins de santé [6]. Des études menées dans plusieurs régions de la Côte d'Ivoire ont rapporté que plus 90% de la population ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs premiers soins de santé [5]. L'utilisation des plantes thérapeutiques connaît un essor grâce à son accessibilité aussi bien géographique, économique et culturelle [2]. Parmi ces plantes, les extraits des herbes culinaires de la famille des Apiacées. Cette famille comprend des plantes condimentaires et des plantes alimentaires [7]. Ceux-ci sont utilisés comme un complément important du régime alimentaire humain et source alternative dans le traitement de plusieurs pathologies.

Petroselinum crispum (Apiacées) communément appelé persil est l'une de ses herbes culinaires utilisées pour sa saveur dans la cuisine. De plus les feuilles de *Petroselinum crispum* sont utilisées pour le traitement des maladies de la peau, la dysménorrhée, des calculs rénaux, pour atténuer la mauvaise haleine et appliquées sur les blessures [8], [9]. Elles sont également utilisées contre le diabète, hypertension, comme diurétique, anti inflammatoire et contre l'anémie [10], [11], [12]. L'intérêt porté à cette plante est considérable, toutefois très peu d'études scientifiques ont été réalisées. C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont l'objectif général est d'évaluer les effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (Apiacées) sur l'anémie induite chez le rat Wistar.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 MATÉRIEL

2.1.1 MATÉRIEL ANIMAL

Des souris (mâles et femelles) de l'espèce *Mus Musculus* (Muridae) de souche Swiss, pesant entre 18 à 20 g, ont été utilisées pour le test de toxicité. Des rats de l'espèce *Ratus Norvegicus* (Muridae) de souche Wistar albinos de poids corporel compris entre 150 et 300 g ont été utilisés pour les études pharmacologiques sur l'anémie. Ces animaux provenaient de l'animalerie de l'Unité Pédagogique de Recherche Physiologie Animale du Laboratoire de Biologie et Santé. Ceux-ci avaient libre accès à la nourriture et à l'eau. Ils étaient nourris au granulé standard fabriqué par IVOGRAIN. La salle avait reçu un éclairage et l'obscurité d'un cycle de (12/12h) avec une température de $28^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Les protocoles expérimentaux ont été suivis conformément aux protocoles de protection des animaux d'expérimentation du Conseil Européen sur la Législation 2012/707 (EU, 2012) [13].

2.1.2 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les feuilles de *Petroselinum crispum* ont été récoltées dans la commune d'Adjamé (Abidjan, Côte d'Ivoire). Cette plante a été identifiée au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny en comparaison avec l'herbier UCJ 019001.

2.2 MÉTHODES

2.2.1 PRÉPARATION DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (APIACEAE)

Cent (100) grammes de feuilles fraîches de *Petroselinum crispum* ont été broyées au mixeur puis portées à ébullition pendant 15min dans 1,5 L d'eau distillée. Le décocté obtenu a été filtré sur du coton hydrophile puis sur du papier filtre Whatman n°2. Le filtrat recueilli a été séché à l'étuve (Thermo SCIENTIFIC VT 6060 M, Finland) à 50°C pendant 48 heures. Après séchage, l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* se présentait sous forme de poudre. Il a été utilisé pour les tests de toxicité et les études pharmacologiques sur l'anémie chez les rats.

2.2.2 SCREENING PHYTOCHIMIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (APIACEAE)

La mise en évidence des métabolites secondaires (alcaloïdes, composés phénoliques, terpenoïdes, stérols, coumarines, flavonoïdes, tanins et saponosides) a consisté en des essais de caractérisation des grands groupes de composés chimiques contenus dans l'extrait aqueux. La détection de ces composés est basée sur le principe qu'ils induisent des réactions chimiques en présence de réactifs appropriés [14]. Ces tests ont été réalisés par les techniques analytiques décrites dans [15], [16].

2.2.3 ÉTUDE TOXICOLOGIQUE

L'expérimentation a été conduite suivant la ligne directrice 423 de l'OCDE (Organisation pour la Coopération et le Développement Economique). Au total, 9 souris (femelles) de poids compris entre 18 et 22 g réparties en 3 lots de 3 souris avaient servi à l'expérience. Les animaux du lot 1 avaient reçu 1 ml d'eau distillée et ceux des deux autres lots (lot 2 et lot 3) 1 ml, respectivement des doses 2000 et 5000 mg/kg de PC de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum*. Une attention particulière était accordée pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de l'extrait.

2.2.4 ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE SUR L'ANÉMIE

2.2.4.1 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

L'anémie a été induite par l'administration par voie orale de la phénylhydrazine hydrochloride à la dose de 8 mg/Kg de P.C pendant 7 jours [17]. Cette étude a été réalisée sur 24 rats repartis en six (06) lots de quatre (04) rats dont cinq (05) ont été traités par la phénylhydrazine hydrochloride. Ces six (06) lots de rats avaient été gavés pendant 14 jours après l'induction de l'anémie avec un volume de 2ml de chaque substance test comme indiqué ci-dessous:

Lot 1: rats non anémiés qui avaient reçu uniquement de l'eau distillée.

Lot 2: rats anémiés qui avaient reçu uniquement de l'eau distillée.

Lot 3: rats anémiés traités avec le Ranferon (substance antianémique de référence) à la dose de 5 mg/Kg de PC

Lots 4; 5 et 6: rats anémiés traités avec respectivement les doses 100; 500 et 1000 mg/Kg de P.C. de l'extrait aqueux de feuilles fraîches de *Petroselinum crispum*.

2.2.4.2 PRÉLÈVEMENT SANGUIN ET DOSAGE DES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES

Les prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction veineuse au niveau du sinus rétro-orbital après anesthésie des rats avec une solution d'éther. Environ 2 ml de sang ont été prélevés dans des tubes contenant un anticoagulant l'éthyldiamine tétraacétique (EDTA), avant l'administration de la phénylhydrazine hydrochloride, puis aux jours J0 (à la fin de l'induction et début du gavage), J7 et J14 (après l'administration des substances tests). Les paramètres hématologiques ont été dosés à l'aide d'un compteur des cellules sanguines (URIT 3000 PLUS).

3 ANALYSE STATISTIQUE

La différence statistique entre les résultats a été réalisée grâce à l'analyse des variances (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Turkey-Kramer, avec un seuil de signification $P < 0,05$. Toutes les valeurs sont présentées sous la forme moyenne \pm ESM (Erreur Standard sur la moyenne). Le logiciel Graph Pad Prism 8.4 (San Diégo, Californie, USA) a été utilisé pour l'analyse des données.

4 RESULTATS

4.1 ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM

Ce test a révélé la présence de plusieurs composés chimiques notamment les stérols, les polyterpènes, les polyphénols, les tanins catéchiques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les quinones et les saponosides. Par contre, il a été noté l'absence de tanins galliques dans l'EAPc (Tableau 1).

Tableau 1. Résultats du tri phytochimique de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum*

Composés recherchés		Test ou réactifs	Résultat
Stérols et polyterpènes		Liebermann	+
Polyphénols		Chlorure ferrique	+
Flavonoïdes		Cyanidine	+
Saponosides		Agitation vigoureuse	+
Composés quinoniques		Borntraeger	+
Alcaloïdes		Dragendorff	+
		Bouchardat	+
Tanins	Catechiques	Stiasny	+
	Galliques	Acide chlorhydrique	-

(+): Présence du composé (-): Absence du composé

4.2 ETUDE DE LA TOXICITÉ AIGUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM

Le gavage de l'EAPc à une dose de 2000 mg/kg de poids corporel n'avait pas modifié leur comportement des souris. Cependant, la dose maximale de 5000 mg/kg de pc avait entraîné une diminution de la motricité, des regroupements dans les coins de la cage. Au cours de la période d'observation de 14 jours, ni les doses 2000 et 5000 mg/kg de pc n'avaient causé de mort de souris. La dose létale 50% (DL50) est supérieure à 5000 mg/kg de pc.

4.3 EFFET DE LA PHÉNYLHYDRAZINE HYDROCHLORIDE SUR LES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES

Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques à savoir le nombre de globules rouges (GR), des taux d'hémoglobine (Hb), d'hématocrite (Ht), du volume globulaire moyen (VGM), de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) des rats avant l'administration de la phénylhydrazine hydrochloride (PHZ) ont été respectivement de $6,90 \pm 0,32 \times 10^{12}/l$; $14,7 \pm 3,46g/l$; $45,9 \pm 3,46 \%$; $63,64 \pm 2,78 fl$; $21,3 \pm 1,04 pg$ et $32,1 \pm 1,21 g/dl$. L'administration pendant 7 jours de la phénylhydrazine à la dose 8 mg /Kg/Jour de PC a provoqué une diminution significative ($p < 0.05$) du nombre de GR, des taux Hb, d'hématocrite et de la CCMH chez l'ensemble des rats par rapport à ceux n'ayant pas reçu la phénylhydrazine. Cette diminution correspond à une baisse de 41,74 %; 29,93 %; 24,84 % et 7,16 % respectivement pour le nombre de GR, la concentration en Hb, le taux d'hématocrite et la CCMH. Par contre, il a été observé une augmentation significative ($p < 0,05$) du VGM et de la TCMH correspondant respectivement à 39,38 % et 25,82 % (Tableau 2).

Tableau 2. Effets de la phénylhydrazine hydrochloride sur quelques paramètres hématologiques de diagnostic de l'anémie

	Avant PHZ		Après PHZ		PV	
	RN	RT	RN	RT	RN	RT
GR $10^{12}/L$	$7,11 \pm 0,34$	$6,9 \pm 0,32$	$7,0 \pm 0,30$	$4,02 \pm 0,25$	-1,55%	-41,74%
Hb g/dL	$13,6 \pm 0,5$	$14,7 \pm 3,46$	$13,8 \pm 0,51$	$10,3 \pm 0,40$	+1,47%	-29,93%
Ht %	$39,8 \pm 2,1$	$45,9 \pm 3,46$	$40,3 \pm 1,58$	$34,5 \pm 1,48$	+1,26%	-24,84%
VGM fl	$56,1 \pm 1,3$	$63,6 \pm 2,78$	$59,9 \pm 1,34$	$88,7 \pm 1,92$	+6,96%	+39,38%
TCMH pg	$19,2 \pm 0,2$	$21,3 \pm 1,04$	$19,1 \pm 0,25$	$26,8 \pm 0,56$	-0,52%	+25,82%
CCMH g/dL	$34,3 \pm 0,6$	$32,1 \pm 1,21$	$34,1 \pm 0,25$	$29,8 \pm 0,86$	-0,58%	-7,16%

4.4 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM SUR LES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES

4.4.1 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (EAPC) SUR LE NOMBRE DE GLOBULES ROUGES

Au jour 0, le nombre de globules rouges (GR) des rats anémiés était de $3,8 \pm 0,30 \times 10^{12}/L$, avec une différence hautement significative ($p < 0,001$) par rapport à celui du lot témoin non anémié ($6,82 \times 10^{12}/L$) dont les paramètres hématologiques dosés n'avaient pas significativement varié ($p > 0,05$) pendant les 14 jours d'expérimentation.

L'administration par gavage de l'EAPc et du Ranferon® avait entraîné une augmentation du nombre de globules rouges des lots traités au 7^{ème} Jour. En effet, le nombre de GR était passé de $3,8 \pm 0,30 \times 10^{12}/L$ à $5,44 \times 10^{12}/L$; $6 \times 10^{12}/L$ et $5,77 \times 10^{12}/L$ respectivement pour

les lots traités avec les doses de 100, 500 et 1000 mg /Kg P.C de EAPc. Les valeurs des lots traités avec 100 et 1000 mg /Kg P.C de EAPc avaient présenté une différence très significative ($p < 0.01$) et celles du lot traité avec 500 mg /Kg P.C de EAPc ainsi que celles des rats traités avec le Ranferon® ($6,01 \times 10^{12}/L$) avaient présenté une différence significative ($p < 0,05$) comparativement au lot témoin non anémié. Au jour 14, une augmentation dose-dépendante du nombre de globules rouges avait été observée dans tous les lots traités avec EAPc. Ces valeurs tout comme celle obtenue chez les rats traités avec le Ranferon avaient présenté une différence non significative ($p > 0,05$) comparativement au lot témoin non anémié. Pour les rats anémiés non traités, le nombre de GR avait également augmenté mais avec une différence significative (Figure 1).

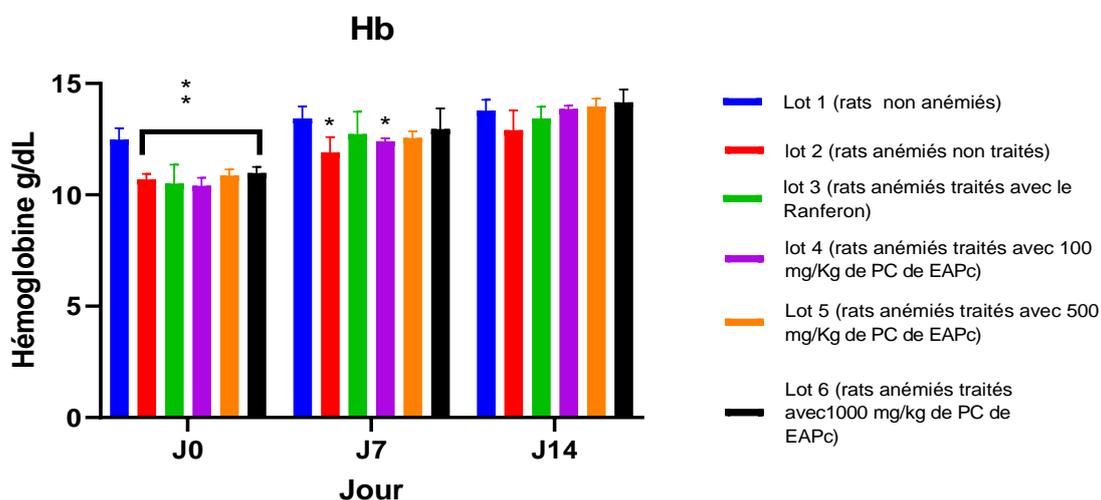


Fig. 1. Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur la concentration en hémoglobine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne de la concentration en hémoglobine (Hb); avec $n=4$ dans chaque groupe. $*P<0,05$; $**P<0,01$. L'EAPc entraîne une augmentation de la concentration en hémoglobine jusqu'à sa normalisation au bout de 7 jours pour les doses de 500 et 1000 mg / Kg de PC.

4.4.2 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (EAPC) SUR LA CONCENTRATION EN D'HÉMOGLOBINE

Au jour 0, le taux d'hémoglobine (Hb) des rats anémiés avait été de $10,3 \text{ g/dL} \pm 0,56 \text{ g/dl}$, avec une différence très significative ($p < 0,01$) par rapport à celui du lot témoin non anémié ($12,48 \text{ g/dL} \pm 0,5 \text{ g/dl}$).

Au jour 7, une augmentation de la concentration de Hb qui avait atteint la valeur normale avait été observée chez les rats traités avec Ranferon® et chez ceux ayant reçu l'EAPc par gavage. En effet la valeur de Hb chez les rats ayant reçu le Ranferon® et les doses 500 ou 1000 mg/kg de pc était passée respectivement à l'ordre de $12,73 \text{ g/dL}$; $12,55 \text{ g/dL}$; $12,96 \text{ g/dL}$ avec une différence non significative ($p > 0,05$) en comparaison avec le groupe témoin non anémié ($13,43 \text{ g/dL}$). Quant aux groupes de rats anémiés non traités ($11,90 \text{ g/dL}$) une différence significative avait été observée ($p < 0,05$). De plus au jour 14, une augmentation dose-dépendante non significative ($p > 0,05$) de ce taux avait été observée dans tous les groupes (Figure 2).

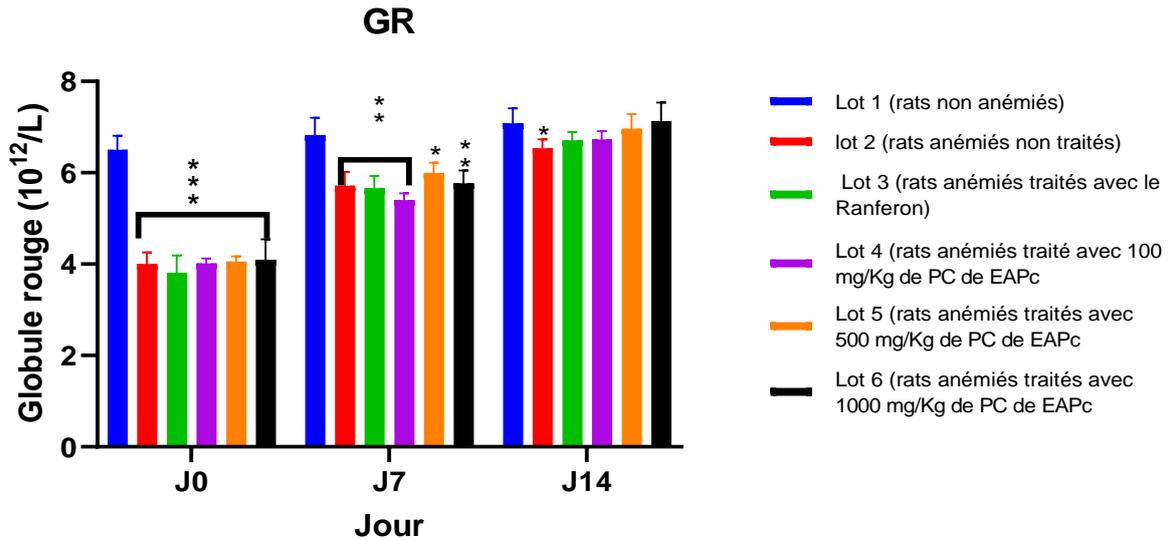


Fig. 2. Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur le nombre de globules rouges

Les valeurs exprimées représentent la moyenne du nombre de globules rouges (GR); avec $n=4$ dans chaque groupe. * $P<0,05$; ** $P<0,01$; **** $P < 0,0001$ par rapport aux rats témoins non anémiés. L'EAPc entraîne une augmentation dose dépendante du nombre de globules rouges jusqu'à sa normalisation au bout de 14 jours de traitement.

4.4.3 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (EAPc) SUR LE TAUX D'HÉMATOCRITE

Au jour 0 le taux d'hématocrite pour les groupes de rats anémiés de l'ordre de $34,5 \pm 0,88$ %, avait présenté une différence très significative ($p < 0,01$) par rapport à celui du lot non anémié ($40,75 \pm 0,21$ %).

L'administration par gavage de l'EAPc avait entraîné une augmentation du taux d'hématocrite dans tous les lots comparativement au lot témoin non anémié au 7^{ème} jour. Les valeurs obtenues ce jour pour ces différents lots n'avaient pas présenté de différence significative ($p > 0,05$) en comparaison avec le lot témoin non anémié ($38,78 \pm 0,38$ %). Au jour 14 seul le groupe des rats traités avec la dose 1000 mg/kg de pc de l'EAPc avait leur taux significativement différent ($p < 0,05$) par rapport au lot témoin non anémié (Figure 3).

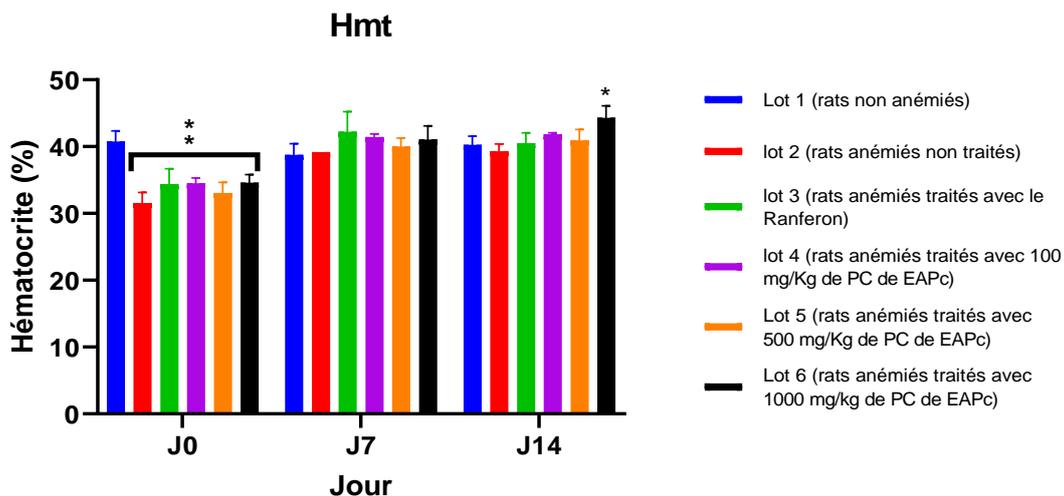


Fig. 3. Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur le taux d'hématocrite

Les valeurs exprimées représentent la moyenne du taux d'hématocrite (Hmt); avec $n=4$ dans chaque groupe. * $P<0,05$; ** $P<0,01$ par rapport aux rats témoins non anémiés. L'EAPc entraîne une augmentation du taux d'hématocrite jusqu'à sa normalisation au 7^{ème} jour. La dose de 1000 mg/kg de pc l'EAPc induit une augmentation plus efficace.

4.4.4 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (EAPC) SUR LA CONCENTRATION CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HÉMOGLOBINE

Au jour 0, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) des rats anémiés était de $29 \pm 0,60$ g/dl, avec une différence très significative ($p < 0,01$) par rapport à celle du lot témoin non anémié ($34,1 \pm 0,8$ g/dl).

Au jour 7, une augmentation de la CCMH avait été observée chez les rats ayant reçu l'EAPc par gavage. En effet cette valeur chez les groupes de rats traités avec les doses de 500, 1000 mg/kg de pc de l'extrait était passée respectivement de $29 \pm 0,60$ g/dl à $32,41 \pm 0,34$ g/dL et $31,53 \pm 0,50$ g /dL. Ces valeurs avaient présenté une différence statistiquement non significative en comparaison avec le groupe témoin non anémié ($34,03 \pm 0,58$ g/dL) traduisant un retour à la valeur normale à partir de 7^{ème} jour pour les doses de 500 et 100 mg/kg de P.C. Cependant pour les groupes de rats traité avec l'EAPc à la dose de 100 mg/kg ainsi que ceux des rats traités avec le Ranferon ($30,27 \pm 0,31$ g/dL) et ceux anémiés non traités ($29,85 \pm 0,19$ g/dL), cette différence était significative ($p < 0,05$). Au jour 14 les valeurs de la CCMH avaient augmenté jusqu'à la valeur normale dans tous les groupes (Figure 4).

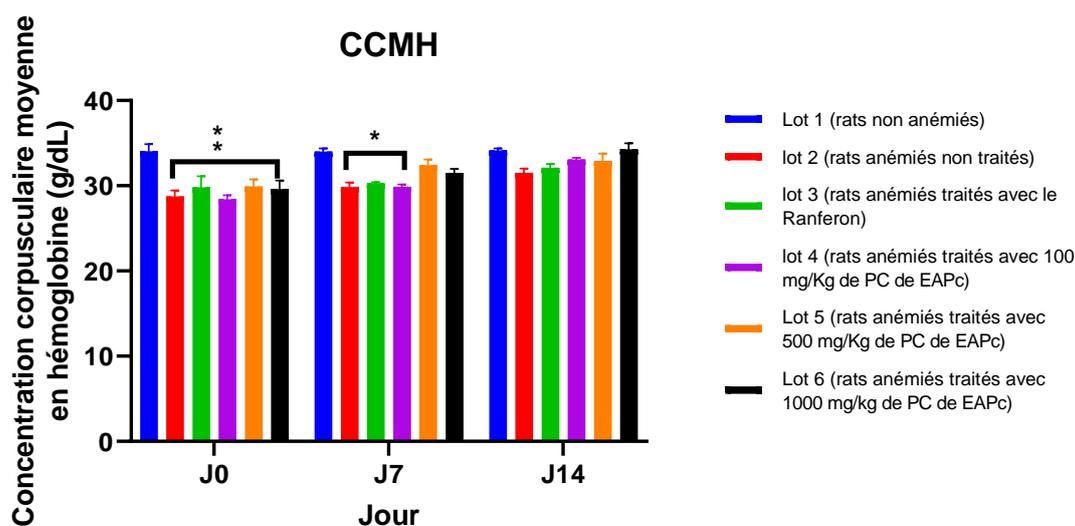


Fig. 4. Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne de la concentration corpusculaire en hémoglobine; avec $n=4$ dans chaque groupe. * $P<0,05$; ** $P<0,01$ par rapport aux rats témoins non anémiés. L'EAPc entraîne une augmentation de la CCMH jusqu'à sa normalisation au 7 jour pour les doses de 500 et 1000 mg/Kg de P.C.

4.4.5 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM (EAPC) SUR LE VOLUME GLOBULAIRE MOYEN

Au jour 0, le volume globulaire moyen (VGM) des rats anémiés était de $88,7 \pm 4,1$ fl, avec une différence hautement significative ($p < 0,0001$) par rapport à celui du lot témoin non anémié ($59,9 \pm 2,1$ fl).

L'administration par gavage de EAPc avait entraîné une diminution dose-dépendante du VGM des lots traités comparativement au lot témoin non anémiés au 7^{ème} jour. En effet, le VGM était passé de $88,7 \pm 4,1$ fl, à $76,57 \pm 1,32$ fl, $72,58 \pm 2,44$ fl et $70,90 \pm 0,67$ fl respectivement pour les lots traités avec les doses de 100; 500 et 1000 mg /Kg P.C de EAPc. Pour les rats traités avec le Ranferon et ceux anémiés non traités, le VGM a également diminué avec une différence hautement significative ($p < 0,001$) comparativement au lot témoin non anémié. Au jour 14, une diminution non significative ($P > 0,05$) du VGM par rapport à celui du lot témoin non anémié a été observée avec les doses 500 et 1000 mg/kg pc de l'EAPc. À ces doses un retour à la concentration normale de VGM ($59,9 \pm 2,1$ fl) a été observé. Par contre une différence significative ($p < 0,05$) a été observée chez les groupes de rats traités avec le Ranferon ($66,43 \pm 0,23$ À fl) et ceux des rats anémiés non traités ($68,68 \pm 0,05$ fl). Chez ces derniers le VGM n'était pas totalement restauré après 14 jours de traitement (Figure 5).

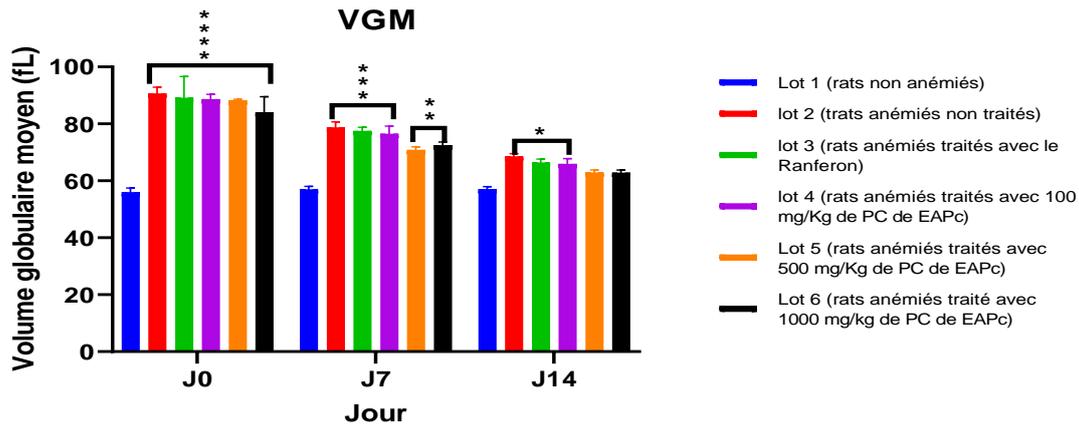


Fig. 5. Effet de l'extrait aqueux de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur le volume globulaire moyen

Les valeurs exprimées représentent la moyenne du VGM; avec $n=4$ dans chaque groupe. * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P < 0,001$; **** $P < 0,0001$ par rapport aux rats témoins non anémiés. L'EAPc entraîne une diminution plus prononcée du VGM.

4.4.6 EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE PETROSELINUM CRISPUM SUR LA TENEUR CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HÉMOGLOBINE

J0, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) des rats anémiés, était de $23,3 \pm 1,26$ pg, avec une différence hautement significative ($p < 0,0001$) en comparaison au lot témoin non anémié (19,1pg). Au Jour 7 comparativement à la valeur du lot témoin non anémié, une diminution significative de la TCMH a été observée suite à l'administration par gavage de l'EAPc aux doses de 500 (22,37pg) et 1000 (22,08pg) mg/Kg pc. Par contre chez les rats traités avec Ranferon® (23,70pg) et ceux anémiés non traités (22,58 pg), la différence était très significative ($p < 0,01$). L'EAPc à ces doses avait entraîné une diminution de la TCMH jusqu'à sa normalisation au 14ème jour. Par contre chez le groupe traité avec le Ranferon® et chez celui non traité la TCMH avait significativement ($p < 0,05$) diminué sans atteindre la valeur normale (Figure 6).

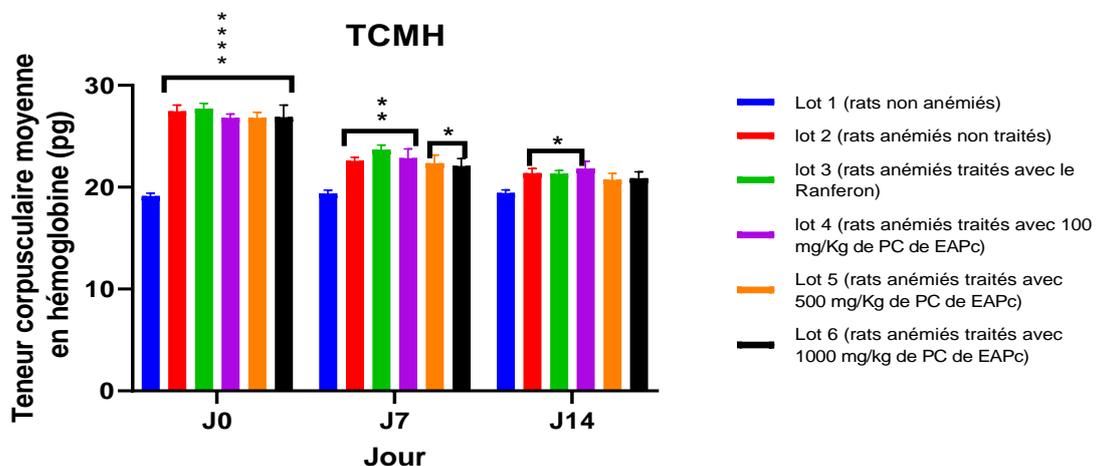


Fig. 6. Effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) sur la Teneur Corpusculaire moyenne en hémoglobine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine; avec $n=4$ dans chaque groupe. * $P<0,05$; ** $P<0,01$; **** $P < 0,0001$. L'EAPc induit les diminutions les plus significatives de la TCMH.

5 DISCUSSION

Les tests phytochimiques qualitatifs réalisés avec l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (Apiacées) (EAPc) ont permis de mettre en évidence la présence de stérols, de polyterpènes, de polyphénols, de tanins catéchiques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de

quinones et de saponosides. Par contre, il a été noté l'absence de tanins galliques dans cet extrait. Une étude effectuée sur l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Petroselinum crispum*, a révélé les mêmes composés observés dans l'EAPc, à l'exception des stérols et polyterpènes [18].

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* chez les souris femelles a permis de donner une estimation, selon les directives et recommandations de l'OCDE 423 [19] de la dose létale 50% (DL 50). Les résultats ont montré que l'administration de EAPc aux doses de 2000 puis 5000 mg/Kg de pc n'avait entraîné aucun signe de toxicité ou de comportement anormal et aucune mort d'animaux en 24 heures et pendant 14 jours d'observation. Cette absence de toxicité a été aussi observée avec d'autres plantes de la pharmacopée traditionnelle africaine telles que les feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae), de *Mitragyna inennis* (rubiacae) par cette même voie sur les souris [20], [21].

L'étude des effets anti anémiques de l'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* sur les paramètres hématologiques chez les rats *Wistar* a montré que, avant l'administration de la phénylhydrazine (PHZ), les valeurs des paramètres hématologiques chez les rats *Wistar* étaient pour le nombre de globules rouges, les taux d'hémoglobine, d'hématocrite, le VGM, la TCMH et la CCMH dans les limites des valeurs de références décrites par [22]. La phénylhydrazine (PHZ) a été reconnu comme ayant la capacité d'induire une anémie hémolytique chez les rats lorsqu'elle est administrée par voie parentérale et orale en diminuant les concentrations des paramètres sanguins tels que l'hémoglobine (Hb), globules rouges (GR) et d'hématocrite [17]. Ainsi dans notre expérimentation l'administration de la PHZ *per os* a provoquée d'une part une diminution significative de la concentration en Hb, du nombre de GR, du taux d'hématocrite et de la CCMH. Et d'autre part une augmentation significative du VGM et de la TCMH par rapports aux témoins non anémiques. Ces résultats confirment l'induction d'une anémie hémolytique chez les rats. Nos résultats sont proches de ceux de [23], [24]. Le traitement des rats anémiques avec l'EAPc a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) des valeurs moyennes de GR, d'hémoglobine et d'hématocrite en vu d'un retour aux valeurs normales. L'effet de l'EAPc est comparable à celui du Ranferon, un médicament anti-anémique utilisé tout au long du traitement. Un tel résultat a été obtenu avec les extraits aqueux de *Allium eriophyllum* Boiss, de fruit de *Solanum torvum* et l'extrait éthanolique de *Justicia carnea* Vahl respectivement par [25], [26], [27]. Selon les études de [28], la plante de *Petroselinum crispum* est riche en Fer, en vitamine B9 et C; ce qui justifierait le retour à la normale de ces paramètres par conséquent la correction de l'anémie. Le fer est en effet, un constituant essentiel de l'hémoglobine, il entre dans la constitution de l'hème et participe à l'érythropoïèse [29].

L'augmentation du VGM et de la TCMH, après l'administration de PHZ ainsi que la diminution de la CCMH, reflète une libération de globules rouges moins saturés en hémoglobine (hypochromie) et indique une anémie macrocytaire [30]. Ces différentes variations ont été corrigées dans les groupes de rats anémiques traités avec l'EAPc et Ranferon. Ces résultats corroborent ceux obtenus par [31] au Nigeria qui ont utilisé un extrait aqueux de feuilles de *Sorghum bicolor*.

L'Effet de EAPc sur l'anémie induite par PHZ pourrait être dû aux constituants phytochimiques contenus dans cet extrait et à la présence de minéraux et de vitamines. Ces constituants (saponines, flavonoïdes et alcaloïdes) sont des facteurs hématopoïétiques bien connus qui ont une influence directe sur la production de sang dans la moelle osseuse [32]. De même les flavonoïdes se sont révélés capables de stimuler directement l'hématopoïèse et probablement via l'érythropoïétine [33].

6 CONCLUSION

L'extrait aqueux de feuilles de *Petroselinum crispum* (EAPc) a été révélé non toxique par voie orale. Cette voie d'administration est donc préconisée pour l'usage pharmacologique de cet extrait. Les effets de l'EAPc sur l'anémie induite seraient liés à la composition vitaminique, minérale et chimique que posséderaient les feuilles de *Petroselinum crispum*. Cette plante a donc une activité antianémique en accord avec l'efficacité qui lui est reconnue dans la médecine traditionnelle. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour isoler et identifier les molécules responsables de ces effets.

REFERENCES

- [1] OMS, Suppléments alimentaires pour la prise en charge de la malnutrition aiguë modérée chez les nourrissons et les enfants âgés de 6 à 59 mois. Note technique, p 19, 2012.
- [2] OMS/UNICEF, Rapport Mondial sur le paludisme Genève-New York, Mai 2005, p 120, 2005.
- [3] K. S. Khan, D. Wojdyla, L. Say, A. M. Gulmezoglu, and P. F. Van Look, WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review, *Lancet*, vol. 367, no 9516, pp. 1066-1074, 2006.
- [4] E. A. Khalil, F. U. Afifi, and M. Al-Hussaini, Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*), *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 109, pp. 104-112, 2007.
- [5] P. Manda, O. Manda, M. O. Vangah-Manda, E. Kroa, and S. D. Dano, Étude des toxicités aiguë et subaiguë du remède nature utilisé dans le traitement du paludisme, *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, vol. 29, pp. 145-158, 2017.
- [6] OMS, Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002- 2005. WHO/EDM/TRM, p 65, 2002.

- [7] O. Naouel, Etude chimique et biologique des huiles de coriandre, fenouil et de persil. Thèse pour obtenir le grade de docteur en chimie organique. Université d'Oran 1 Maroc, 239 p, 2015.
- [8] G. Katzer and J. Fansa, Das Gewürzhandbuch Göttingen, Verlag Die Werkstatt Ed. Dia, Berlin, 359 p, 2007.
- [9] A. A. J. J. Aljanaby, Antibacterial activity of an aqueous extract of *Petroselinum crispum* leaves against pathogenic bacteria isolated from patients with burns infections in Al-najaf Governorate, *Iraq Reserch Chemistry. Intermedicines*, vol.39, no 8, pp. 3709-3714, 2013.
- [10] R. Tossou, J. O. Gbenou, P. Dansou, M. Fossou, and M. Moudachiro, Etude des propriétés antianémiques de *Justicia secundo* (Acanthaceae) chez des rats de souche Wistar. *Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique - Série A*, vol. 6, pp. 26-29, 2008.
- [11] G. Benítez, M. R. González-Tejero, and J. Molero-Mesa, Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.129, no 1, pp. 87-105, 2010.
- [12] K. Savikin, G. Zduric, N. Merkovic, J. Zivkovic, N. Cujic, M. Terescenko, and D. Bigovic, Ethnobotanical Study on traditional use of medicinal plants in south-west Serbia, Zlatibor district, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 146, no 3, pp. 803-810, 2013.
- [13] EU. Commission implementing decision of 14 november 2012 establishing a common format the submission of the information pursuant to Directive 2010/63/EU of the European parliament and the council on the protection of animals used for scientific purposes (notified under document C (2012) 8064) text with EEA relevance. *Special Education Croatian*, vol.15, no 28, pp. 163-180, 2012. http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2012/707/oj.
- [14] H. Wagner and S. Bladt, Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. Springer, 2001.
- [15] G. V. Lazureski, I. V. Terenteva, and A. A. Chamchurin, Pratiqueskii raboti po khimii soedinienii, Vischaya Chkola, (Moscou, Russie), 334 p, 2007.
- [16] K. J. C. Abo, De la plante à la molécule: toxicité, effets pharmacologiques et mécanisme d'action de *Justicia secunda* (Acanthaceae), plante antihypertensive, sur le système cardiovasculaire de mammifères. Thèse de doctorat d'état ès Sciences Naturelles, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), n° 752/2013, 351 p, 2013.
- [17] M. L. Benomar, Combinaison adaptative des informations texture et couleur pour la segmentation d'images médicales. Thèse pour obtenir le grade de docteur en informatique. Université ABOU-BEKR-TLEMENEN Algérie. 168 p, 2018.
- [18] T. A. Akhtar, Y. Matsuba, I. Schauvinhold, G. Yu, H. A. Lees, S. E. Klein, and E. Pichersky, The tomato cis-prenyl transferase gene family, *The plant journal*, vol. 73, pp. 640-652, 2013.
- [19] OCDE, Test guideline 423: OECD guideline for chemicals. Available [<http://www.oecd.org/document/htm>], 2001.
- [20] I. J. Asiedu-Gyekye, S. Frimpong-Manso, C. Awortwe, D.A. Antwi, and A. K. Nyarko, Micro- and macro elemental composition and safety evaluation of the nutraceutical *Moringa oleifera* leaves, *Journal Toxicology*, pp.786-979, 2014.
- [21] J-B. N. Oussou, I. J. Asiedu-Gyekye, A. F. Yapo, B. B. N'guessan, P. Amoateng, K. L. Kouakou, I. K. Asante and E. E. Ehile, In-vitro scavenging activity and acute toxicity study of methanol leaves extract and fraction of *Lophira lanceolata* Tiegh. Ex Keay (Ochnaceae) in rats, *International Journal of Phytomedicine*, vol. 8, pp. 411-421, 2016.
- [22] F. Descat, Hématologie du rat: hémogramme et myélogramme. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Toulouse, France, 91p, 2002.
- [23] P. A. Aka, C. E Okolo, T. C. Okoye, and N. V. Offiah, Aqueous extract and methanol fractions of leaves of *Brillantaisia nitens* Lindau reverses phenylhydrazine - induced anemia in rats, *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no 3, pp. 271-277, 2010.
- [24] S. P. G. Sédagbandé, J. S. Irié-Bi, S. A. Azonbakin, and K. J. C. Abo, Potentiel antianémique et effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de *Sorghum bicolor* (Poaceae) sur l'hématopoïèse chez des rats anémiés, *Journal of Chemical, Biological and physical Sciences*, vol. 11, no 2, pp. 354-363, 2021.
- [25] M. M. Zangeneh, A. Zangeneh, S. Salmani, R. Jamshidpour, and F. Kosari, Protection of phenylhydrazine-induced hematotoxicity by aqueous extract of *Ocimum basilicum* in Wistar male rats, *Comparative Clinical Pathology*, vol. 28, no 2, pp. 331-338, 2019.
- [26] P. O. Igbinaduwa, K. M. Kabari, and T. C. Chikwue, Phytochemical and Anti-Anaemic properties of Ethanol Leaf extract of *Justicia carnea* Vahl (Acantheaceae), *Nigerian Journal of Pharmaceutical and Applied Science Research*, vol. 8, no 2, pp. 55-61, 2019.
- [27] B. N. Gnanngoran, Y. S. Coulibaly, K. F. N'dia, and A. P. Yapo, Influence of an aqueous fruit extract of *Solanum torvum* Swartz on phenylhydrazine induced hemolytic anemia in wistar rats, *pharmacology online*, vol. 1, pp. 195-205, 2020.
- [28] S. Sarwar, M. A. Ayyub, M. Rezgui, S. Nisar, and M. I. Jilani, Parsley: A review of habitat, phytochemistry, ethnopharmacology and biological activities, *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, vol. 9, pp 49-55, 2016.
- [29] HAS, Choix des examens métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer. Haute Autorité Santé, mars, 2011, pp. 57-61, 2011.
- [30] J. Rossant-Lumbrosso and L. Rossant, Les anémies, Société française d'hématologie, Orientation diagnostique devant une anémie, *American Heart Journal*, vol.108, no1984, pp.188-193, 2017.
- [31] O. O. Ogwumike, Hemopoietic effect of aqueous extract of the leaf heath of *Sorghum bicolor* in albinos rats, *African Journal of Biomedical Research*, vol. 5, pp. 69-71, 2002.
- [32] K. Sembulingam and P. Sembulingam, Essentials of medical physiology. 5th édition, Jaypee Brothers Medical Limited, India, 2010.
- [33] L. Zhang, A. G.W. Gong, RiazKashif, and K. W. K Tsim, Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxyurea, *FEBS Journal*, vol. 7, no 3, pp. 318-323, 2017.