

Etude de l'activité antirépanocytaire et de la thermodégradation des extraits bruts aqueux, méthanoliques et éthanoliques de *Ipomoea batatas*, une plante comestible à vertu thérapeutique

[Survey of antirepanocytary activity and thermodegradation of aqueous, methanolic and ethanolic crude extracts extracted from *Ipomoea batatas*, an edible plant with therapeutic virtues]

N. Deogratias Mulungulungu¹, T. Pius Mpiana², K. Marsi Mbayo¹, T. Patrick Tshisand¹, and M. Liévain Badibanga¹

¹Département de chimie, Faculté des sciences, B.P. 1825, Lubumbashi, RD Congo

²Département de chimie, Faculté des sciences, B.P. 190, Kinshasa XI, RD Congo

Copyright © 2015 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: Antirepanocytary activity of *Ipomoea batatas*, an edible and therapeutic plant used in traditional medicine of Katanga for burns and sickle cell disease was evaluated using the Emmel test. Crude extracts extracted by water, methanol and ethanol, have shown activity antirepanocytary activity in vitro.

The chemical screening showed that the leaves of *Ipomoea batatas* mainly contain alkaloids, flavonoids, tannins, quinones, leucoanthocyanes, saponins and steroids.

The evaluation of the effect of heat, studied by UV-Visible spectrophotometry at 262nm for the aqueous extracts and at 268nm for the methanolic and ethanolic extracts by exposing extracts obtained in the oven at various times and temperatures, have shown that crude substances extracted from *Ipomoea batatas* are heat sensitive.

KEYWORDS: *Ipomoea batatas*, Antisickling activity, thermodegradation, Emmel test.

RESUME: L'activité antirépanocytaire de *Ipomoea batatas*, une plante comestible à vertu thérapeutique utilisée dans l'alimentation, et en médecine traditionnelle Katangaise pour les brûlures et l'anémie SS, a été évaluée en utilisant le test d'Emmel. Les substances brutes extraites par l'eau, le méthanol et l'éthanol, ont montré in vitro une activité antifalcémiant. Le criblage chimique a montré que les feuilles de *Ipomoea batatas* contiennent principalement les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les quinones, les leucoanthocyanes, les saponines et les stéroïdes.

L'évaluation de l'effet de la chaleur, étudiée par spectrophotométrie UV-Visible à 262nm pour les extraits aqueux et à 268 nm pour les extraits méthanoliques et éthanoliques en exposant les différents extraits obtenus à l'étuve à différents temps et températures, a montré que substances extraits de *Ipomoea batatas* sont thermosensibles.

MOTS-CLEFS: *Ipomoea batatas*, activité antifalcémiant, thermodégradation, Test d'Emmel.

1 INTRODUCTION

La drépanocytose, appelée aussi anémie falciforme, qui jadis était considérée comme une maladie des régions tropicales seulement, est actuellement répandue partout dans le monde à cause de la migration des populations [1]. C'est une maladie

génétique, héréditaire, autosomale et récessive [2]. Elle est caractérisée par l'hémoglobine S due à la substitution de l'acide glutamique par la valine dans la chaîne β de l'hémoglobine.

A causes des pertes en vies humaines élevées dans le monde dues à la drépanocytose [3-5] dont la couche la plus vulnérable est constituée des enfants de moins de 5 ans [6-7], plusieurs modes de traitements ont été envisagés, en vue de soulager les patients, entre autre le greffe de la moelle osseuse, les thérapies géniques, les transfusions sanguines et la prise de l'hydroxy-urée. Il s'avère que ces traitements sont non seulement inefficaces et très coûteux pour les populations pauvres d'Afrique, mais peuvent constituer également un risque de contamination par le VIH/SIDA[8-9].

En RDC, la phytothérapie se présente actuellement comme une alternative pouvant offrir un soulagement aux anémiques. En effet, les substances naturelles constituent une source d'éventuels nouveaux types de médicaments pouvant lutter contre plusieurs maladies en général et contre l'anémie falciforme en particulier. Neuwinger [11] a 13 plantes parmi lesquelles *Bombax pentadrum*, *Bougainvillea sp*, *Byarsocarpus orientalis*, *Euphorbia heterophylla* et *Ficus capensis* et *Ipomoea batatas* qui sont utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi contre la drépanocytose.

C'est dans cette optique que cette étude a été initiée pour s'occuper de l'extraction des extraits bruts de *Ipomoea batatas* par trois solvants (l'eau, le méthanol et l'éthanol). Les extraits ainsi obtenus ont été soumis à l'évaluation de l'activité antifalcémiant et à l'évaluation de la thermostabilité des constituants des différents extraits.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATERIEL VEGETAL

Cette espèce a été récoltée à 15 km de la ville de Lubumbashi sur la route Kipushi à la ferme Mimbulu. Les jeunes feuilles de *Ipomoea batatas* récoltées ont été gardées au laboratoire de chimie de la faculté des sciences à l'abri de la lumière jusqu'à ce qu'elles furent sèches. Les échantillons secs, ont été broyés et pulvérisés dans un mortier en agathe.



Figure 1. *Ipomoea batatas*

2.2 MATERIEL BIOLOGIQUE

L'échantillon de sang utilisé pour évaluer l'activité antifalcémiant des extraits bruts a été obtenu du Centre de Dépistage et de Prise en Charge des Drépanocytaires (CDPCD) de l'hôpital général de référence Jason Sendwe de Lubumbashi (RD Congo). Ce sang a, au préalable, été soumis au test d'électrophorèse afin de confirmer sa nature SS. Ce test est essentiel car le test d'Emmel seul, a une sensibilité et une spécificité limitées ; il ne laisse pas distinguer les hétérozygotes des homozygotes, et la présence de certaines hémoglobines pathologiques (S, D, P, G.) est aussi sujet à une pseudofalciformation [12].

2.3 OBTENTION DES EXTRAITS BRUTS

100g du matériel végétal séché et pulvérisé, ont été macérées 4 fois dans le solvant d'extraction (l'eau, le méthanol et l'éthanol) pendant 48 heures. Les extraits obtenus ont été séchés à 35°C sous une pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif [13,14].

2.4 CRIBLAGE CHIMIQUE

La mise en évidence de divers groupes de substances est basée sur les tests de coloration et de précipitation en solution. Les tests de précipitation nous ont permis de mettre en évidence successivement les tanins et les alcaloïdes tandis que les tests de coloration en solution ont permis de mettre en évidence les flavonoïdes, les stéroïdes, les terpénoïdes et les quinones. Les hétérosides cyanogènes ont été mis en évidence par le changement de la coloration du papier picrosodé mis en contact avec la vapeur des extraits végétaux. Enfin les saponines ont été mis en évidence par la méthode de l'indice de mousse [15,16,17].

2.5 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFALCEMIANTE

La solution mère d'extraits totaux est obtenue en dissolvant 5 mg d'extraits dans 10 ml d'eau physiologique (0,9% NaCl). Le sang SS est mélangé avec une solution tampon (NaH₂PO₄ 30mM, Na₂HPO₄ 120mM, NaCl 150mM) et mélangé avec un volume équivalent de métabisulfite de sodium 2%.

L'évaluation de l'activité antifalcemiante a consisté à évaluer l'effet du produit sur la falciformation des globules rouges : Une goutte de la solution physiologique est déposée sur une lame porte-objet, puis le sang SS (témoin) ou mélangé aux extraits en fin, le tout est mélangé à une goutte de solution de métabisulfite de sodium à 2% et la bougie est appliquée pour sceller les préparations microscopiques. Après l'incubation, les différentes préparations microscopiques ont été examinées au microscope optique MOTIC Olympus CKX41 avec agrandissement de grossissement 40X. Le microscope est muni d'un appareil photographique CANON Power Shot A570 IS de 7,1 mega pixels. Les micrographies ont été utilisées dans les conditions hypoxiques.

2.6 EVALUATION DE L'EFFET DE LA CHALEUR SUR LES EXTRAITS

Les solutions des extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques ont été exposées à des températures variant entre 40 et 95°C pendant 0 à 300 minutes à l'étuve de marque Memmert. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 262nm pour les solutions des extraits aqueux et à 268nm pour les solutions des extraits méthanoliques et éthanoliques à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Drell 4000 [17].

3 RESULTATS

3.1 CRIBLAGE CHIMIQUE

Le criblage chimique réalisé sur les feuilles de *Ipomea batatas* a permis de mettre en évidence quelques métabolites secondaires dont les résultats sont repris dans le tableau I ci-dessous.

Tableau I. Résultats de groupes des substances chimiques identifiées

Espèce végétale	Alc	Flavonoïdes					Leu	Tanins totaux		Qun	Sap	Ste	Ter	Hcn
		Ant	Fnes	Foles	Fones	Iso		Tanc	Tang					
Feuilles	+	++	++	-	-	+	++	+	-	+	++	+	-	-

Légende : Alcaloïdes (**Alc**), Anthocyanes (**Ant**), Flavones (**Fnes**), Flavonones (**Fones**), Flavonols (**Foles**), isoflavones (**Iso**), Leucoanthocyanes (**Leu**), Tanins galliques (**Tang**), Tanins catéchiques (**Tanc**), Saponines (**Sap**), Stéroïdes (**Ste**), Terpénoïdes (**Ter**), Hétérosides cyanogènes (**Hcn**).

Résultats : ++ : Substances abondantes ; + : Présence du groupe des substances ; - : Absence du groupe des substances chimiques

Le screening chimique réalisé a permis de mettre en évidence dans les feuilles de *Ipomea batatas* les groupes de substances ci-après : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, quinones, leucoanthocyanes, saponines et stéroïdes. Les sous-groupes des flavonoïdes identifiés sont les anthocyanes, les flavones et les flavonols. Par ailleurs, pour les tanins, seuls les tanins catéchiques ont été mis en évidence dans les feuilles étudiées.

3.2 OBTENTION DES EXTRAITS BRUTS

Le rendement d'obtention des extraits bruts de *Ipomoea batatas* est repris dans le tableau II ci-dessous

Tableau II. Rendement de l'extraction

Types d'extraits	Matière végétale (g)	Extrait (g)	Rendement (%)
Extraits aqueux	100	0,1422	14,22
Extraits éthanoliques	100	0,0798	7,98
Extraits méthanoliques	100	0,1099	10,99

L'eau, avec un rendement de 14.22%, a permis de récupérer une grande partie des substances. Elle est suivie du méthanol (10,99%) et de l'éthanol (7,98%).

3.3 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFALCEMIANTE DES EXTRAITS

Les figures 2,3,4 et 5 illustrent respectivement les micrographies du sang SS non traité, du sang SS traité avec les extraits bruts des feuilles de *Ipomoea batatas*.



Figure 2. Morphologie des drépanocytes du sang SS non traité

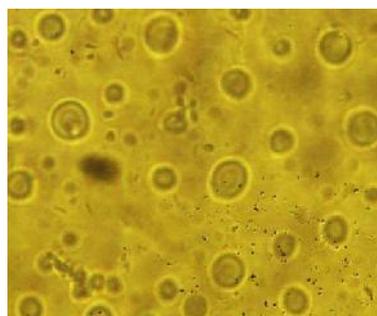


Figure 4. Morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits éthanoliques de *Ipomoea batatas*

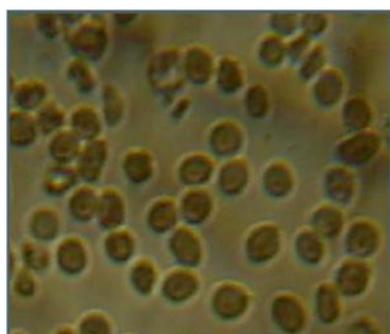


Figure 3. Morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits aqueux de *Ipomoea batatas*

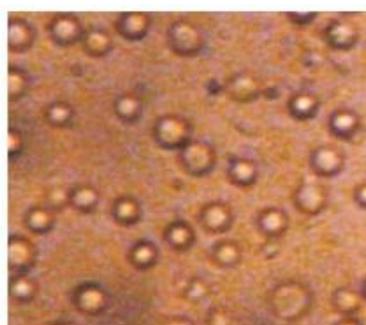


Figure 5. Morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits méthanoliques de *Ipomoea batatas*

Les figures ci-dessous montrent que les extraits de *Ipomea batatas* contiennent des substances qui ont la capacité de modifier la forme des globules rouges SS in vitro.

3.4 EVALUATION DE LA THERMODÉGRADATION DES SUBSTANCES DES EXTRAITS

La cinétique de la thermodégradation des extraits bruts a été étudiée entre 40°C et 95°C pour des temps compris entre 0 et 300 minutes. Les résultats sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau III. Variation de l'absorbance des extraits étuvés à différentes températures pour un temps d'étuvage de 30 minutes

Extraits	Variation de l'absorbance en fonction de la température d'étuvage											
	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C	65°C	70°C	75°C	80°C	85°C	90°C	95°C
Aqueux	1.321	1.239	1.202	1.157	0.973	0.956	0.929	0.842	0.822	0.809	0.781	0.777
Méthanolique	1.142	1.098	1.092	1.078	1.07	1.053	0.971	0.963	0.944	0.936	0.912	0.890
Ethanolique	1.037	1.012	0.991	0.976	0.962	0.954	0.949	0.941	0.937	0.932	0.927	0.919

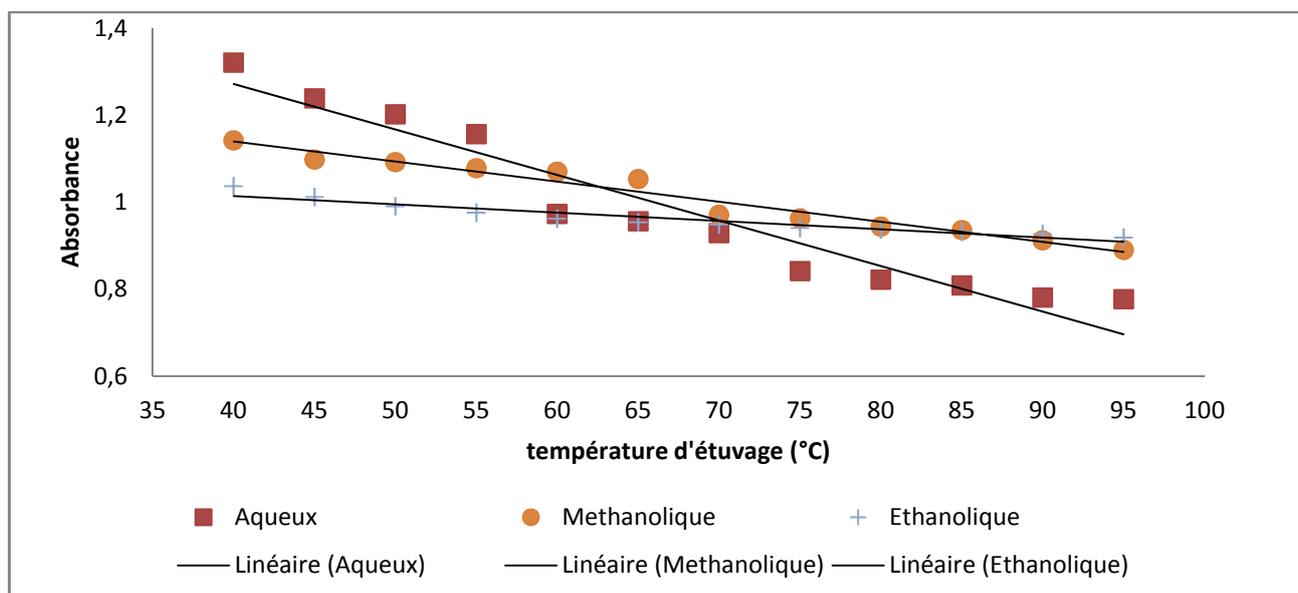


Figure 6. Variation de l'absorbance des extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques de *Ipomoea batatas* après étuvage à différentes températures pour un temps de chauffage de 30 minutes

Tableau IV. Résultats de la variation de l'absorbance des extraits étuvés à 40°C à différents temps d'expositions

Types d'extraits	Variation de l'absorbance en fonction du temps d'étuvage (Minutes)												
	0'	25'	50'	75'	100'	125'	150'	175'	200'	225'	250'	275'	300'
Aqueux	3,730	3,303	2,591	2,244	2,208	1,703	1,832	2,103	1,663	1,442	1,125	1,122	1,121
Méthanolique	1,712	1,603	1,346	1,217	1,151	1,098	0,992	0,606	0,428	0,397	0,351	0,312	0,287
Ethanolique	1,357	1,289	1,209	1,171	1,158	1,147	1,142	1,126	1,098	0,961	0,942	0,931	0,929

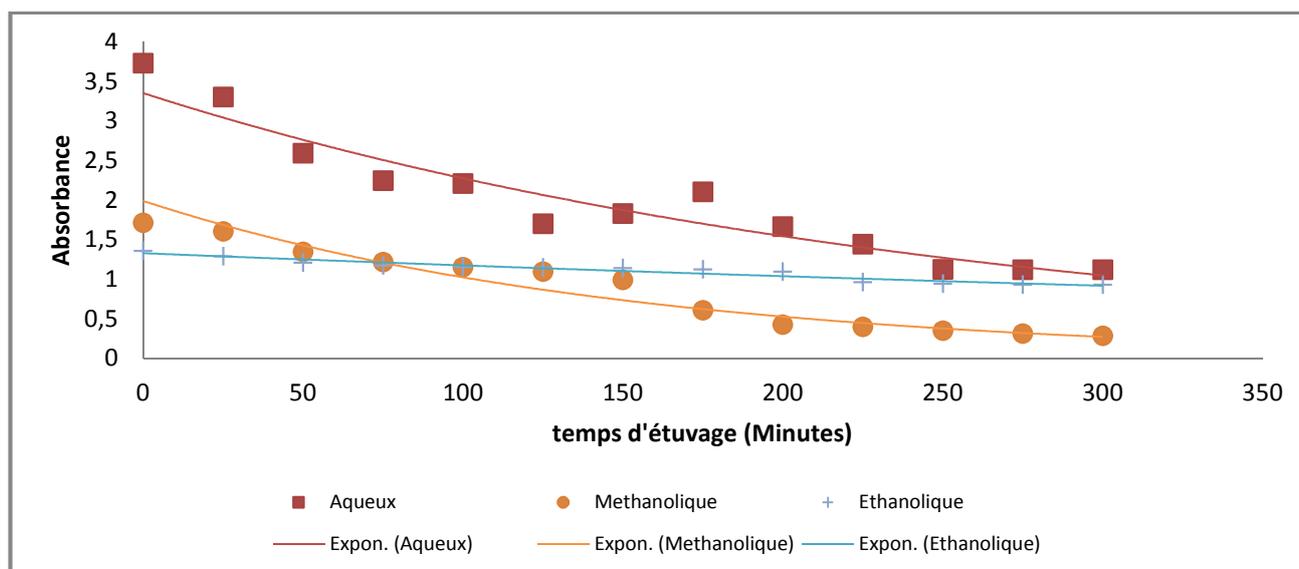


Figure 7 : Variation de l'absorbance des extraits aqueux, méthanoliques, éthanoliques de *Ipomoea batatas* après étuvage à différents temps pour une température d'étuvage de 40°C

Les résultats contenus dans le tableau III ont montré une décroissance de l'absorbance en passant de 40°C à 95°C. On a observé une décroissance de l'absorbance de 1.321 à 0.777 pour les extraits aqueux, de 1.142 à 0.890 pour les extraits méthanoliques et de 1.037 à 0.919. Par ailleurs, les résultats du tableau IV ont montré également la diminution de l'absorbance des extraits à 40°C en fonction du temps d'exposition. De ce fait, on a observé une variation de l'absorbance de 3.730 à 1.121 pour les extraits aqueux, de 1.712 à 0.287 pour les extraits méthanoliques et de 1.357 à 0.929.

4 DISCUSSION

Les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, quinones, leucoanthocyanes, saponines et terpénoïdes ont été mis en évidence dans les feuilles de *Ipomoea batatas* lors du criblage chimique. Plusieurs études, effectuées sur les métabolites secondaires pouvant normaliser la forme de globules SS, ont montré que les anthocyanes sont capables de normaliser la forme des globules in vitro [1].

L'extraction des extraits Le tableau II indique qu'avec 14,22% des extraits aqueux, l'eau extrait plus des substances ; elle est suivie du méthanol avec 10,99% des extraits, vient enfin l'éthanol avec 7,98% d'extraits.

L'observation des figures 2,3,4 et 5 illustrent l'aspect et le comportement microscopique du sang SS en absence et en présence des extraits de la plante lors du test d'Emmel. La figure 2 démontre que la majorité des érythrocytes sont falciformes, ce qui confirme que le sang utilisé est SS. Par contre les figures 3, 4 et 5 montrent qu'en présence des extraits de *Ipomoea batatas*, les érythrocytes retrouvent la forme normale (forme biconcave), preuve que l'activité antifalcémiant est due aux métabolites secondaires contenus dans les extraits. Toutefois, les proportions différentes d'érythrocytes biconcaves selon l'ordre décroissant des extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques, ce qui confirme l'activité supérieure des extraits aqueux par rapport aux autres extraits. Les extraits éthanoliques présentent une faible activité.

L'évaluation de la thermodégradation (figure 8) montre que l'allure des courbes de tendance linéaire tracées à partir des points expérimentaux de l'absorbance en fonction de la température d'étuvage des extraits. L'allure des courbes de la figure 9 montre, par contre, une décroissance exponentielle de l'absorbance des extraits en fonction du temps d'étuvage à la chaleur.

En comparant l'allure des courbes de tendance linéaire des différents extraits de *Ipomoea batatas*, on remarque que les substances contenues dans les extraits aqueux et méthanoliques sont plus sensibles à la chaleur ; par contre les extraits éthanoliques sont moins sensibles à l'effet de la chaleur. Au regard de l'allure des courbes exponentielles de la variation de l'absorbance en fonction du temps d'étuvage (figure 9), on remarque que les extraits après étuvage à 40°C sont plus sensibles à la chaleur et cette thermodégradation est lente pour les extraits éthanoliques tandis que pour les deux autres extraits de cette plante, elle est plus prononcée vu les valeurs de l'absorbance à de petites durées d'étuvage qu'aux grandes durées d'étuvage. Ces résultats confirment que les substances contenues dans les différents extraits étudiés participent aux réactions thermochimiques.

Il est important de signaler que la thermodégradation est plus prononcée à 75°C et à 105°C pour les extraits aqueux et entre 150 et 175°C pour les extraits méthanoliques de *Ipomoea batatas* mais moins remarquée pour les extraits éthanoliques.

5 CONCLUSION

Les résultats de l'évaluation de l'activité antifalcémiant des colorants extraits de *Ipomoea batatas* étudiés in vitro, de parts les figures montrant la forme des érythrocytes traitées avec les différents extraits et celles de la variation de l'absorbance des colorants extraits des différents solvants en fonction de la température et du temps d'étuvages confirment l'activité antifalcémiant et la sensibilité vis-à-vis de la chaleur. En effet l'exposition de cette espèce à de hautes températures et pendant longtemps diminuerait son activité antifalcémiant.

REFERENCES

- [1] Mpiana PT, Tshibangu DST, Shetonde OM, Ngobolwa KN. In vitro antidrepanocytary activity (anti-sickle cell anemia) of some Congolese plant. *Phytomedicine* 2007; **14**: 192-194.
- [2] Ibrahim H, Sani FS, Danladi BH, Ahmadu AA. Phytochemical and antisickling studies of the leaves of *Hymenocardia acida* tul (Euphorbiaceae). *Pakistan journal of Biological sciences* 2007; **10**:788-791.
- [3] Kaplan JC, Delpech M. *Biologie moléculaire et médecine*, 2^{ème} édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris 1993 ; p.360.
- [4] Iyamu EW, Turner EA, Asakura T. In vitro effect of NIPRISAN (MIX-0690), a naturally occurring, potent antisickling agent. *British journal of Hematology* 2002; **118**:337-343.
- [5] Moody JO, Ojo OO, Omatotade OO. Anti-sickling potential of Nigerian herbal formula (Ajawaron HF) and the major plant component (*Cissus populnea* L. CPK). *Phytother Res* 2003; **17**:1173-1176.
- [6] Fattorusso V, Ritter O. *Vade-mecum Clinique du diagnostic au traitement*, 13^{ème} édition, Masson 1994; p.500.
- [7] Voet D et Voet JG, *Biochimie. De Boeck université*, 2^{ème} Edition 1998 ; p.123-125.
- [8] Gini, KE. Influence du piracetam sur les facteurs hématologiques dans la drépanocytose. Thèse de doctorat. K.U.L, Belgique ; 1985.
- [9] Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngobolwa KN, Shetonde OM, Mangwala KP, Mawakala BK. In vitro antisickling activity of anthocyanins Extracts of Congolese plant: *Alchornea coedifolia* M. *Arg J Med sci* 2007; **7**: 1182-1186.
- [10] Neuwinger, HD. *African traditional medicine*, Mepharm publisher, Stuttgart; 2000.
- [11] Bruneton, J. *Pharmacopée, photochimie, plantes médicinales*, 4^{ème} éd. Lavoisier, Paris, 2009 p. 366-424, 441-466.
- [12] Isabela, K. (2010), Caffeolyquinic Acids Generated in vitro a High-Anthocyanin Accumulating Sweet potato cell line, *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 48: 27-33.
- [13] Sofowara, A. (1996), *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*, éd. Karthala, Paris, p. 6.
- [14] Terahera, N. (2011), Characterisation of acylation anthocyanins in callus induced from storage Root of purple-fleshed sweet potato, *Ipomoea batatas* L., *Planta Med.* 46: 19-26.
- [15] Grandbois, D. (2004), *Analyse organique, chromatographie sur colonne : les pigments*, collège shawinigan, département de chimie. [http : //www.cybercolleges-shawigan.qc](http://www.cybercolleges-shawigan.qc), consulté le 17 juin 2012.
- [16] Sirguret, V. et Andreux, J-P. (1997), *Annales de biologie Clinique*, vol. 55, n°2, p.103-111
- [17] Mulungulungu N. Déogratias and BADIBANGA M. Liévin, "Survey of anti drepanocytary properties and thermo degradation of dyes extracted from *Hibiscus Sabdariffa*, an edible plant with therapeutic vertues," *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 10, no. 1, pp. 384–392, January 2015.