

Enquête sur la pharmacopée des bonobos (*Pan paniscus*, Primates) dans un foyer endémique et Mise en évidence de l'activité anti-drépanocytaire chez un taxon végétal (*Treculia africana* Decne ex Trécul, Moraceae) testé *in vitro*

[Survey on the bonobos (*Pan paniscus*, Primates) pharmacopoeia in an endemic area and *in vitro* antisickling activity of a plant taxon (*Treculia africana* Decne ex Trécul, Moraceae)]

Grégoire E. Ekutsu¹⁻⁴, Koto-te-Nyiwa Ngbolua¹⁻⁴, Mathieu B. Bolaa², Pius T. Mpiana³, Bokolombe P. Ngoy³, Masengo C. Ashande⁴, Damien S.T. Tshibangu³, and Gédéon N. Bongo¹⁻⁵

¹Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, BP 190 Kinshasa XI, RD Congo

²Biodiversity Team Leader, Mai-Ndombe REDD⁺ project, Ecosystem Restorate Associate, Wildlife Works, Inongo, RD Congo

³Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, BP 190 Kinshasa XI, RD Congo

⁴Scientific Committee for Research, Conservation and the Development of Biodiversity, Faculty of Science, University of Kinshasa, RD Congo

⁵Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, ChuoKikuu P.O. Box. 3015, Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania

Copyright © 2016 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: The use of great apes Pharmacopoeia or zoo-pharmacognosy is a very promising strategy for the treatment of human diseases due to the phylogenetic proximity of humans and non-human primates (NHP) as Bonobos. In total, more than 40 direct fields' observations of bonobos have been performed for five months. A high number of direct observations were recorded in August followed by September while there was less observations in June. The average size and composition of the group for August is estimated at 19 individuals with 8 males, 9 females and 2 young whereas the size recorded in September was of 12 individuals including 5 males, 6 females and 1 young. Physicochemical and blood-biochemical analysis results performed on bonobos urine within their natural habitat shown the presence of bilirubin in some urine specimens (a formation of an azo derivative with a diazonium salt). The presence of a lot of leukocytes in urine is an indication of Plasmodium infection since we are in Malaria endemic regions. These results confirm the evidence of great ape pathological condition and then these could be considered as a biological model for testing and/or validating the self-medication hypothesis and the anti-hemolytic effects of plants consumed by NHP that could be profitable to the sickle cell individuals. The survey revealed that the pharmacopoeia of bonobos of Lomako Nature Reserve consists of 35 plant species. The bioassay test showed that *Treculia africana*, a plant being part of the diet of the bonobos, inhibits the sickling of red blood cells *in vitro* in hypoxic conditions and can serve as a source of bioactive metabolites for promoting an antisickling nutritherapy in Democratic Republic of the Congo. The relationship between the pharmacopoeia of apes and sickle cell anemia is an original approach. Thus, it opens up new perspectives for the treatment of this hemoglobinopathy through modulating effects of secondary metabolites of plant origin on the epi-genome.

KEYWORDS: Zoo-pharmacognosy, bonobo, *Treculia africana*, Sickle cell Disease, DR Congo.

RESUME: Le recours à la pharmacopée des grands singes ou zoo-pharmacognosie est une stratégie très prometteuse pour la prise en charge des maladies humaines du fait de la proximité phylogénétique de l'homme et des primates non humains (PNH) tel que les Bonobos. Au total, plus de 40 observations directes de bonobos pendant cinq mois. Le mois d'août a enregistré un taux élevé de nombre d'observation directe suivi de mois de septembre alors que le mois de juin a eu un faible taux de nombre d'observation. La taille et la composition moyenne du groupe pour le mois d'août est évaluée à 19 individus dont 8 mâles, 9 femelles et 2 jeunes alors que le mois de septembre a enregistré une taille moyenne de 12 individus dont 5 mâles, 6 femelles et 1 jeune. Les résultats des analyses physico-chimiques et héματο-biochimiques effectuées sur les urines des bonobos dans leur habitat naturel ont montré que les urines de quelques specimens contiennent la bilirubine (formation d'un dérivé azoïque avec un sel de diazonium). La présence de beaucoup de leucocytes dans l'urine est une indication d'infections plasmodiales étant donné que nous sommes en régions d'endémie palustre. Ces résultats confirment l'évidence d'un état pathologique chez ces grands singes et ces derniers peuvent alors être considérés comme modèle biologique pour tester et/ou valider l'hypothèse d'automédication et d'effets anti-hémolytiques possibles des plantes consommées par les PNH et qui pourraient être bénéfiques aux sujets drépanocytaires. L'enquête réalisée révèle que la pharmacopée des bonobos de la réserve naturelle de Lomako est constituée de 35 espèces végétales. Le test biologique a montré que *Treculia africana*, plante faisant parti de la diète des bonobos, inhibe la falciformation *in vitro* des globules rouges SS en conditions d'hypoxie et peut ainsi servir de source des métabolites bioactifs pour la promotion d'une nutrithérapie anti-drépanocytaire en République Démocratique du Congo. La relation entre la pharmacopée des grands singes et la drépanocytose est une approche originale. Elle ouvre ainsi des nouvelles perspectives pour la prise en charge de cette hémoglobinopathie grâce aux effets modulateurs des métabolites secondaires d'origine végétale sur l'épi-génome.

MOTS-CLEFS: Zoo-pharmacognosie, bonobo, *Treculia africana*, Drépanocytose, RD Congo

1 INTRODUCTION

La médecine traditionnelle, aussi appelée médecine complémentaire, parallèle, alternative, populaire ou non conventionnelle, est très sollicitée de nos jours du fait qu'elle assure de façon suffisante le maintien et le recouvrement de la santé de nombreuses populations en milieux tant urbains que ruraux d'Afrique [1], [2], [3], [4], [5]. Son point faible cependant est la réticence des guérisseurs traditionnels à partager leurs secrets pour pouvoir permettre aux scientifiques de les rationaliser et les intégrer dans le système moderne de santé. A cet effet, la pharmacopée des grands singes ou zoo-pharmacognosie est une alternative très prometteuse du fait de la proximité phylogénétique de l'homme et des primates non humains tel que les Bonobos (*Pan paniscus*) [6], [7], [8].

Les bonobos (figure 1b) sont de grands singes endémiques de la forêt pluviale (cuvette centrale) de la République Démocratique du Congo. Ce sont des animaux qui présentent un comportement social très proche à celui de l'homme. A cet effet, tout comme l'homme, les bonobos auraient co-évolué avec certains de leurs parasites en régions tropicales connues comme un « hot spot » d'endémicité parasitaire et/ou virale [7].

Plusieurs études réalisées ces dernières années, basées sur l'observation des grands singes dans leur habitat naturel mettent en exergue l'existence d'un comportement d'automédication. En effet, ces animaux adoptent une alimentation particulière en sélectionnant des plantes spécifiques quand ils présentent certains symptômes [6], [8], [9], [10]. Les plantes que les grands singes utilisent pour se soigner ou celles faisant partie de leur diète présentent un intérêt scientifique tout particulier car elles sont susceptibles de fournir des molécules bioactives plus efficaces que celles actuellement disponibles [11], [12], [13], [14].

Les bonobos sont exclusivement concentrés au cœur de la forêt tropicale du bassin du Congo, dans une région d'environ 500.000 Km² limité au nord par le fleuve Congo et au sud par la rivière Kasai où ils y vivent dans des foyers très dispersés. Les objectifs du présent travail porte respectivement sur la mise en évidence d'un état physiopathologique chez les bonobos sauvages susceptible de justifier l'hypothèse d'automédication, l'inventaire des ressources phytogénétiques consommées plus ou moins régulièrement par ces primates non humains en vue d'identifier les plantes déjà connues par l'homme pour leurs propriétés pharmacologiques ou celles utilisées par les bonobos d'autres communautés sauvages (aspect bio-culturel de l'automédication) et l'évaluation d'activité anti-drépanocytaire de *Treculia africana* (plante consommée par les bonobos) comme source potentielle des molécules actives anti-drépanocytaires. En effet, il est bien établi que l'aire de distribution de la Drépanocytose se superpose avec celle du paludisme [11], [15]. Ainsi, en régions d'endémie, les grands singes et en particulier les Bonobos contrôlent les infections par *Plasmodium falciparum* alors que celles-ci provoquent une anémie hémolytique (à l'instar de la Drépanocytose) et sont cytopathogènes chez l'homme [16]. Le contrôle d'une maladie

hémolytique telle que le paludisme par les primates non-humains à régime alimentaire essentiellement végétarien indique que les plantes consommées par ces animaux seraient douées des propriétés anti-hémolytiques et pourraient être bénéfiques aux sujets drépanocytaires [8], [11], [12], [13], [14]. Cette approche présente un intérêt évident car les plantes faisant partie de l'alimentation de bonobos seraient potentiellement non toxiques pour l'homme et pourraient servir de nouvelles sources de composés anti-drépanocytaires. Le choix porté sur la plante *T. africana* ainsi que sur la drépanocytose est lié à la convergence d'utilisation de cette plante aussi bien par les primates humains que non humains. Tandis que la drépanocytose est le résultat bien connu d'une coévolution entre l'homme, le protozoaire *Plasmodium falciparum* et son vecteur en régions tropicales [7], [17].

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 DESCRIPTION DU SITE D'ENQUÊTE

Les enquêtes ont été réalisées dans un foyer endémique notamment dans la province de l'Equateur en République du Congo. Le site choisi est Iyemba situé au Sud-Est de Ndele Research Site dans la Réserve de Faune de Lomako-Yokokala (figure 1).

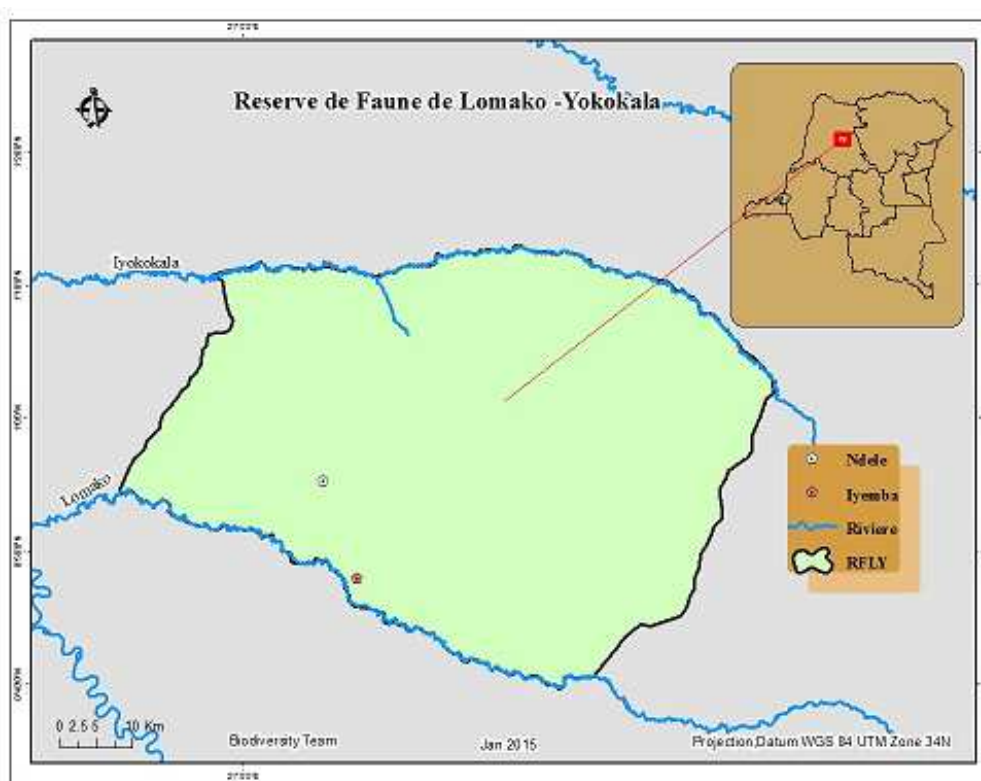


Fig. 1. Site d'étude : la Réserve de Faune de Lomako-Yokokala

La zone se situe entre $00^{\circ}55'21.4''$ N et $021^{\circ}06'03,8''$ E. Le site bénéficie d'un climat de type équatorial caractérisé par les pluies abondantes toute l'année avec deux saisons de pluie (mi-septembre et mars à avril) et deux saisons sèches (janvier à février et juin à août) [18]. La température moyenne minimale mensuelle varie entre 21.20 et 22.20 °C et la moyenne maximale mensuelle varie entre 26.8 et 30.85 °C. La précipitation moyenne annuelle est de 196 cm ; il n'y a pas une saison sèche proprement dite bien que les pluies sont relativement moins fréquentes entre décembre et février et entre juin et août [19]. D'après les critères de Köppen, ce climat est du type A_f (climat de la cuvette forestière). La zone d'étude fait partie intégrante de la cuvette centrale congolaise au niveau du bassin hydrologique de la Maringa. L'altitude moyenne au niveau le plus bas ne dépasse pas 400 m. La topographie du site n'est pas accidentée et montre son caractère presque plat. Le site est situé dans le groupement de Loma, Secteur de Lomako et Territoire de Befale et a une superficie de 5 km². La recherche s'est déroulée dans les forêts ombrophiles sempervirentes de terre ferme de la zone délimitée entre les rivières Lonkomo et Tolende.

2.2 SUIVI DES BONOBOS SUR TERRAIN, RECOLTE DES URINES ET DES PLANTES

Deux équipes composées de cinq personnes travaillaient en rotation de deux semaines chacune. Chaque équipe est divisée en deux groupes en vue de permettre le relai entre celui qui est entré en forêt le matin et le groupe de l'après-midi. Ce dernier reste avec les bonobos jusqu'au site de nids le soir. Lorsque le site de nids est identifié, le groupe du matin devra quitter tôt le matin, pour arriver au site de nids avant que les animaux ne se réveillent. Le suivi consiste à accompagner les bonobos depuis le site de nid le matin jusqu'au site de nid le soir entre 17 h 30'-18 h 00'. Les urines et les types de fruits ou aliments consommés sont systématiquement récoltés au courant de la journée.

2.3 BILAN URINAIRE CHEZ BONOBOS EN MILIEU NATUREL

L'analyse des urines récoltées a été effectuée à l'aide d'une bandelette réactive urinaire [20] en vue de mettre en évidence de troubles métaboliques, hépatiques et rénaux, ainsi que d'éventuelles infections chez les bonobos (confirmation de l'état pathologique). La bandelette présente des zones réactives permettant de rechercher dans l'urine la présence qualitative et/ou semi-quantitative de différents paramètres tels que les leucocytes, les nitrites, le pH, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine, les érythrocytes (ou le sang) et le poids spécifique (densité). L'approche utilisée est non invasive et est donc éthiquement acceptable.

2.4 IDENTIFICATION DES PLANTES CONSOMMEES PAR LES BONOBOS

L'ensemble des plantes a été identifié sur terrain par Mr Matthieu Bolaa (Ecologiste) et conservé à l'Herbarium du Jardin Botanique Eala, province de l'Equateur sous l'appellation: «collection Mathieu Bolaa et collaborateurs/2015». Les noms scientifiques des espèces et des familles sont inspirés de la Base de données des plantes d'Afrique (version 3.4.0).

2.5 ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Une fois séchée dans les conditions utilisées dans la pharmacopée traditionnelle (dix jours à 33 °C en atmosphère sèche), la partie de la plante est broyée, puis tamisée afin d'obtenir une poudre fine. Les essais sont réalisés après macération de la poudre (1 :10 p/v) dans l'eau pendant 24 heures (méthode d'extraction traditionnellement utilisée en Afrique) ou dans le méthanol acidifié comme précédemment décrit [12], [13], [14], [21], [22]. Le screening chimique a été réalisé sur les extraits aqueux et organiques selon les techniques standards [23].

2.6 ACTIVITE ANTI-DREPANOCYTAIRE

2.6.1 CRITÈRES D'INCLUSION

Pour être inclus dans cette étude, le sang devrait provenir des patients drépanocytaires homozygotes dont le statut hémoglobinique a été prouvé par électrophorèse d'hémoglobine (sur gel d'acétate de cellulose à pH alcalin) et n'ayant pas été transfusés dans les quatre mois qui précèdent la prise de sang, quel que soit l'âge et le sexe.

2.6.2 PRELEVEMENT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS DU SANG

Le prélèvement d'un échantillon sanguin de 5 ml de sang total sur EDTA dans un rapport 1/5 (un volume d'EDTA pour quatre volumes de sang) est conservé à 4 °C pendant une durée ne dépassant pas 8 jours avant l'utilisation [11]. Les échantillons de sang drépanocytaire ont été obtenus au Centre de Médecine Mixte et Anémie SS situé dans le quartier Yolo-Sud dans la commune de Kalamu à Kinshasa.

2.6.3 ASPECTS ÉTHIQUES

L'étude a été soumise à l'approbation du Comité d'éthique du Département de Biologie de l'Université de Kinshasa (No. Réf. : CDB/FSC/MMJ/039/MM/2015). Les échantillons de sang malade ont été fournis par consentement libre et éclairé du Centre et l'étude n'a pas représenté un risque pour les sujets drépanocytaires.

2.6.4 TEST D'EMMEL

L'échantillon de sang a été mélangé avec les extraits des plantes à différentes concentrations en utilisant la solution physiologique (NaCl 0,9%) comme solvant de dissolution. Le témoin est constitué du sang drépanocytaire dilué sans extrait. L'effet des différents extraits est observé en microscopie optique après un délai d'exposition de 24 puis 48 heures en conditions d'hypoxie et isotonique afin d'évaluer la durée de persistance de l'effet antifalcémiant. Un appareil photographique numérique a été utilisé pour enregistrer les images microscopiques des érythrocytes obtenues. Ces micrographies ont ensuite été traitées par le logiciel informatique MOTIC images 2000, version 1.3 et les courbes de type dose-effet obtenues grâce au logiciel Origin 8.5 Pro comme précédemment décrit dans nos travaux antérieurs [12], [13], [14], [21], [22], [24], [25], [26], [27], [28].

3 RESULTATS

3.1 ECO-ETHOLOGIE DES BONOBO IN SITU

Au total, plus de 40 observations directes de bonobos pendant cinq mois. Le mois d'août a enregistré un taux élevé de nombre d'observation directe suivi de mois de septembre alors que le mois de juin a eu un faible taux de nombre d'observation. Cela serait dû en raison disponibilité quantitative et temporelle des fruits charnus et murs alors que le faible taux d'observation pour le mois de juin en raison de rareté des fruits murs; seul les familles de *Marantaceae* et *Zingiberaceae* constituent le principale substitut alimentaire disponible en période de faible fructification dans le site, obligeant les animaux d'aller chercher la nourriture très loin du site. La figure 2 donne la taille et la composition du groupe en fonction de la période d'observation.

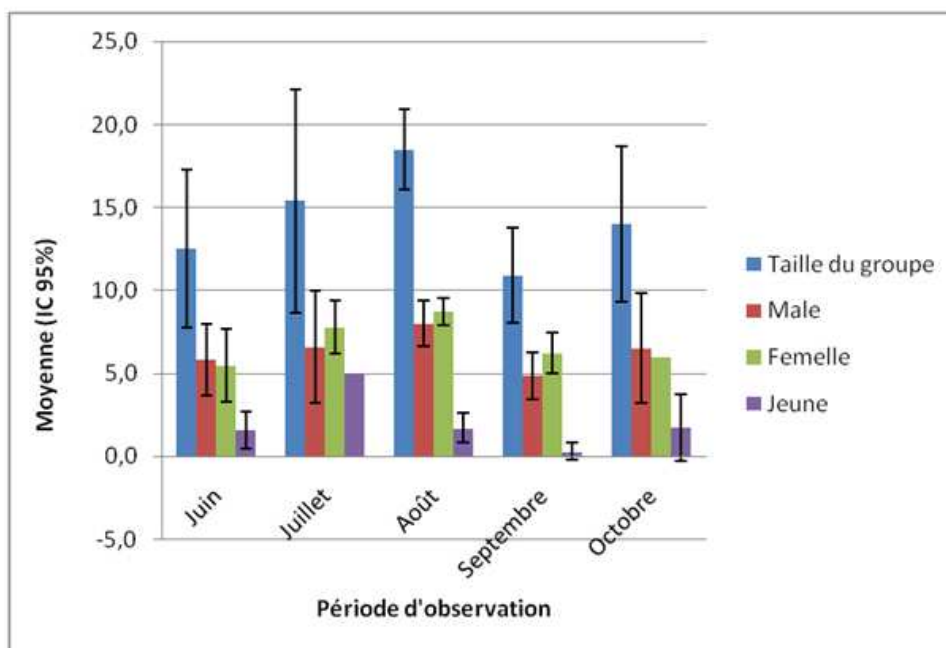


Fig. 2. Taille et composition du groupe par période d'observation

L'examen de la figure 2 montre que la taille et la composition du groupe sont élevées pour le mois d'août alors que le mois de septembre, elles sont faible. Les bonobos de ce site sont semi-habitués c'est-à-dire ils acceptent la présence humaine, la durée moyenne d'observation la plus long est de 4h18', le mois d'août a enregistré une fréquence d'observation et la durée moyenne plus élevé, Cela est du en raison de la forte représentation, disponibilité quantitative et temporelle des fruits charnus et murs et de la forte équitabilité des familles de ligneux à Iyemba, alors que le faible taux d'observation pour le mois de juin en raison de rareté des fruits murs ; seul les familles de *Marantaceae* et *Zingiberaceae* qui constituent le principal substitut alimentaire disponible en période de faible fructification dans le site obligeant les animaux à aller chercher la nourriture très loin du site.

Un total de 43 observations directes a été comptabilisé de juin à octobre 2011, la taille et la composition moyenne du groupe pour le mois d'août est évaluée à 19 individus dont 8 mâles, 9 femelles et 2 jeunes alors que le mois de septembre a enregistré une taille moyenne de 12 individus, 5 mâles, 6 femelles et 1 jeune. La distance moyenne minimale d'observation est de six mètres.

3.2 BILAN URINAIRE ET VALIDATION DE L'HYPOTHESE D'AUTOMEDICATION

Le tableau 1 donne les résultats des analyses physico-chimiques et hémato-biochimiques effectuées sur les urines des bonobos dans leur habitat naturel.

Tableau 1. Données physico-chimiques, biochimiques et hématologiques des urines de bonobos

<i>Pan paniscus</i>	Paramètres évalués									
	D.U.	pH	Leu.	Pro.	Glu.	Cét.	Bil.	Ery.	Hb	Couleur
1.	1.015	7	-	-	-	N	-	N	-	Rouge foncé
2.	1.005	8.5	++	N	N	N	N	+++	+++	Rouge clair
3.	1.005	8.5	-	-	-	N	++	-	-	Rouge foncé
4.	1.015	6	+++	-	-	-	+	-	+	Rouge clair
5.	1.005	8.5	++	N	-	N	N	N	+	Rouge clair
6.	1.015	7	++	N	N	-	++	-	-	Rouge foncé
7.	1.010	7.5	-	-	-	-	-	-	-	Rouge foncé
8.	1.015	7	++	-	-	-	++	-	-	Rouge clair
9.	1.000	9	+	+	N	-	N	N	+	Rouge vif
10.	1.000	9	+	N	N	-	N	N	+	Rouge clair

Légende : D.U. : densité urinaire ; Leu. : Leucocytes ; Pro. : Protéines ; Glu. : Glucose ; Cét. : Corps cétoniques ; Bil. : Biliribine ; Ery. : Erythrocytes ; Hb : Hémoglobine N : normale ; NR

L'analyse de ce tableau 1 montre que les urines des bonobos sous l'étude sont rouges et dépourvus des nitrites et d'urobilinogène. Ceci montre que ces animaux ne souffriraient pas d'infections à entérobactéries, des germes à activité nitrate-réductases et des maladies de foie et des voies biliaires. Cependant, la présence de la biliribine (formation d'un dérivé azoïque avec un sel de diazonium) dans les urines de quelques spécimens laissent entrevoir la possibilité de développer ces maladies par les bonobos [20].

Les valeurs de la densité urinaire n'ont pas révélé un dysfonctionnement rénal, cependant les valeurs de pH témoignent des cas des calculs rénaux possibles chez les bonobos. Cette hypothèse a été renforcée par la présence des protéines et du sang (érythrocytes et hémoglobine) dans l'urine. La présence de beaucoup de leucocytes dans l'urine témoigne le cas d'infections. Etant donné que nous sommes en régions d'endémie palustre, il pourrait s'agir d'infections plasmodiales. Ces résultats confirment l'évidence d'un état pathologique chez ces grands singes et nous pouvons alors les considérer comme modèle biologique pour valider notre hypothèse de recherche.

3.3 PHARMACOPEE DES BONOBOS

Le tableau 2 donne le répertoire des plantes consommées par les bonobos dans leur habitat naturel.

Tableau 2. Liste des espèces végétales consommées par les bonobos (*Pan paniscus*) dans la réserve forestière de Lomako (Province de l'Equateur, République Démocratique du Congo).

N°. Nom scientifique	Famille	Nom vernaculaire (Lomongo)
1. <i>Aframomum laurentii</i> (De Wild. & T.Durand) K.Schum	Zingiberaceae	Bole
2. <i>Ancyclobotrys</i> sp	Apocynaceae	Beese
3. <i>Anonidium mannii</i> (Oliv.) Engl. & Diels	Annonaceae	Bonenge
4. <i>Anthonotha fragrans</i> (Baker f.) Exell & Hillc.	Leguminosae	Lomuma
5. <i>Antiaris toxicaria</i> subsp. <i>welwitschii</i> (Engl.) C.C.Berg	Moraceae	Likoko
6. <i>Canarium schweinfurtii</i> Engl.	Burseraceae	Boele
7. <i>Chrysophyllum lacourtianum</i> De Wild.	Sapotaceae	Bolonge
8. <i>Dacryodes edulis</i> (G.Don) H.J.Lam	Burseraceae	Bosou
9. <i>Dacryodes osika</i> (Guillaumin) H.J.Lam	Burseraceae	Bohelenga
10. <i>Dialium excelsum</i> Steyaer	Leguminosae	Laaka
11. <i>Dialium pachyphyllum</i> Harms	Leguminosae	Elimilimi
12. <i>Dialium zenkeri</i> Harms	Leguminosae	Boleka
13. <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	Arecaceae	-
14. <i>Eremospatha haullevilleana</i> De Wild.	Arecaceae	-
15. <i>Ficus ottoniifolia</i> (Miq.) Miq.	Moraceae	Likumu
16. <i>Garcinia smeathmannii</i> (Planch. & Triana) Oliv.	Clusiaceae	Bokoli
17. <i>Hibiscus</i> sp	Malvaceae	Londende isongo
18. <i>Laccosperma secundiflorum</i> (P.Beauv.) Kuntze	Arecaceae	-
19. <i>Landolphia congolensis</i> (Stapf) Pichon	Apocynaceae	Bese
20. <i>Landolphia foretiana</i> (Pierre ex Jum.) Pichon	Apocynaceae	Boputsungulu
21. <i>Landolphia owariensis</i> P.Beauv.	Apocynaceae	Batofe
22. <i>Leonardoxa romii</i> (De Wild.) Aubrev.	Leguminosae	Bokumbo
23. <i>Manniophyton fulvum</i> Müll.Arg.	Euphorbiaceae	Lokosa
24. <i>Megaphrynium macrostachyum</i> (K.Schum.) Milne-Redh.	Marantaceae	-
25. <i>Musanga cecropioides</i> R.Br. ex Tedlie	Urticaceae	Bomambo
26. <i>Myrianthus arboreus</i> P.Beauv.	Urticaceae	-
27. <i>Oxyanthus unilocularis</i> Hiern	Rubiaceae	-
28. <i>Palisota ambigua</i> (P.Beauv.) C.B.Clarke	Commelinaceae	-
29. <i>Palisota hirsuta</i> (Thunb.) K.Schum.	Commelinaceae	Litentele
30. <i>Pancovia laurentii</i> (De Wild.) Gilg ex De Wild.	Sapindaceae	Botende
31. <i>Scorodophloeus zenkeri</i> Arms	Leguminosae	Bopili
32. <i>Sterculia dawei</i> Sprague	Malvaceae	-
33. <i>Strombosiopsis tetrandra</i> Engl.	Olacaceae	Eko
34. <i>Treculia africana</i> Decne. ex Trécul	Moraceae	Boingo
35. <i>Uapaca guinensis</i> Muell. –Arg.	Phyllanthaceae	Boonga

Il ressort de ce tableau que la pharmacopée des bonobos de Lomako est constituée de 35 espèces végétales (appartenant à 18 familles et 29 genres). Ces ressources biologiques sont également connues comme douées des propriétés pharmacologiques en médecine traditionnelle Africaine [29]. La convergence d'utilisation de ces plantes aussi bien par les primates humains et non-humains constitue une indication très intéressante de la pertinence des propriétés pharmacodynamiques de ces plantes et justifie le choix porté sur ces plantes pour un vaste programme de criblage anti-drépanocytaire en tant que sources potentielles des nutraceutiques par notre équipe de recherche [10], [11], [12], [13], [14], [8], [27]. Vingt cinq (25) de ces plantes (soit 71,43%) ont été également signalées dans la littérature comme consommées par les bonobos dans la réserve forestière de Wamba confirmant ainsi l'aspect bio-culturel de l'automédication chez ces grands singes en régions d'endémie [30].

Les figures 3 et 4 donnent les micrographies optiques du sang drépanocytaire non traité (témoin) et traité à l'extrait de *Treculia africana*.

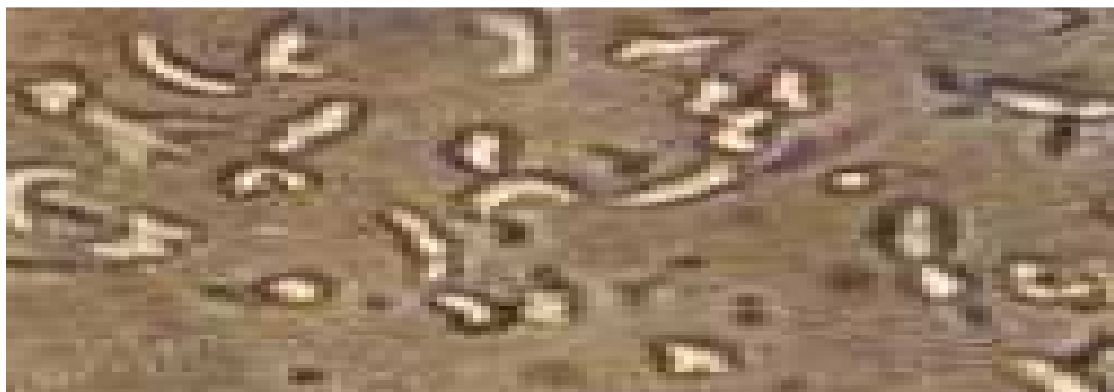


Fig. 3. Microphotographie optique des érythrocytes de sang SS non traité (témoin) [NaCl 0.9%, Na₂S₂O₅ 2%, Grossissement 500X]



Fig. 4. Microphotographie optique des érythrocytes de sang SS traité à l'extrait anthocyanique (méthanol acidifié) de *T. africana* (50 µg/ml) [NaCl 0.9%, Na₂S₂O₅ 2%, grossissement 500X]

La figure 3 montre réellement qu'il s'agit du sang SS. On y observe de nombreux érythrocytes falciformes. Dans nos conditions expérimentales, cette falciformation a été induite par les actions combinées du métabisulfite de sodium à 2% et de la paraffine, toutes concourant à créer l'hypoxie [17]. Par contre, dans la figure 4, on constate que pour le même sang SS, lorsqu'on y ajoute l'extrait d'anthocyanes, les hématies reprennent la forme normale biconcave, alors qu'ils sont placés dans les mêmes conditions d'hypoxie que le témoin en présence du métabisulfite de sodium à 2%. L'inhibition de la falciformation est une preuve de l'activité anti-drépanocytaire de *Treculia africana*. Ces résultats confirment nos travaux antérieurs [7], [11], [12], [13], [14], [21], [22], [24], [25], [26], [28] qui ont montré que les anthocyanes sont à la base de l'activité antifalcémiant d'un bon nombre des plantes utilisées en médecine traditionnelle congolaise contre la drépanocytose.

La figure 5 donne l'évolution du taux de normalisation des érythrocytes drépanocytaires.

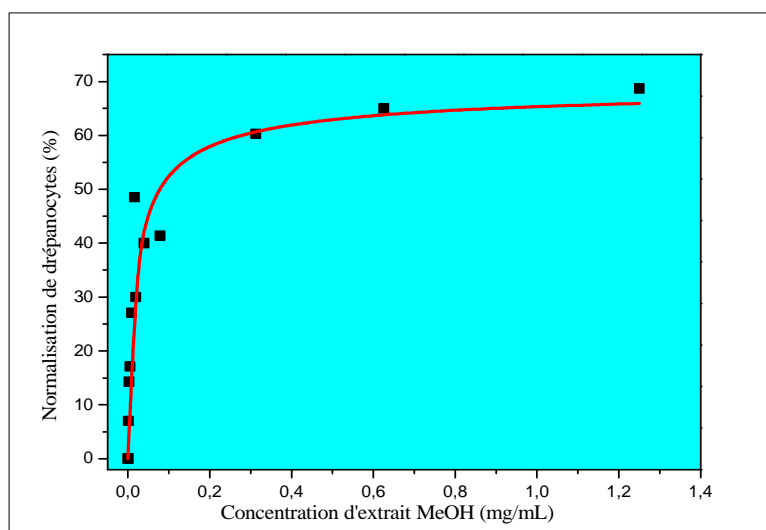


Fig. 5. Evolution du taux de normalisation des érythrocytes en fonction de la concentration d'extrait méthanolique (MeOH) de *Treculia africana*.

Il ressort de la figure 5 que le taux de normalisation des drépanocytes en conditions hypoxiques augmente avec la concentration en extrait de plante jusqu'à atteindre le seuil maximal au dessus duquel ce taux de normalisation reste constant quelle que soit l'augmentation de la concentration de la drogue. La plus faible concentration en extrait pour laquelle le taux de normalisation est maximal ou concentration minimale de normalisation (CNN), la concentration en extrait pour laquelle 50% des drépanocytes sont normalisés (ED_{50}) et le taux de normalisation (TN) évalués par régression non-linéaire grâce au logiciel Origin 8.5 sont respectivement 0.652 mg/mL, 2.0 μ g/mL et 70%. Le screening phytochimique a révélé la présence des métabolites secondaires tels que : les poly-phénols totaux, les flavonoïdes, les anthocyanes, les alcaloïdes et les trapézoïdes.

4 DISCUSSION

La recherche et le développement de phytomédicaments basés sur des évidences scientifiques est une priorité pour l'Afrique. Car en effet, en Afrique, tout comme dans d'autres régions pauvres du monde, la difficulté d'accéder aux soins de santé primaire; l'insuffisance et la mauvaise répartition de personnel médical de même que les comportements socioculturels font que plus de 80% de la population recourent à la médecine traditionnelle pour se prendre en charge [17]. Ainsi il est intéressant d'orienter la recherche vers les ressources phytogénétiques car elles garantissent en outre le libre accès au traitement [7]. La zoopharmacognosie est à cet effet une approche originale. En effet, les grands singes (*Pan paniscus*, etc.) utiliseraient les plantes pour s'auto-soigner et ainsi contrôler la parasitémie palustre (effet anti-hémolytique) [10], [11], [12], [13], [14]. Les primates qui consomment ces plantes pour le but apparemment non alimentaire, bénéficieraient de l'activité pharmacologique des principes actifs des substances sélectionnées principalement au cours de l'évolution en fonction de la protection chimique qu'elles confèrent aux organismes qui les synthétisent [31]. Les humains ont vécu ensemble avec ces grands singes pendant des milliers de générations suggérant une possible évolution concomitante de l'utilisation des plantes dans un ou plusieurs taxa des primates.

Ainsi, bien que le paludisme soit une maladie hémolytique, elle ne se manifeste pas cliniquement chez les bonobos. Ceci montre que les plantes consommées par ces grands singes seraient douées des propriétés anti-drépanocytaires car la drépanocytose est également une maladie hémolytique [11]. L'hémolyse des érythrocytes drépanocytaires est due à la falciformation de ces derniers qui les prédispose à une destruction précoce par les cellules spléniques [32].

Les résultats de la présente étude ont montré que *Treculia africana* inhibe la falciformation *in vitro* des globules rouges SS en conditions d'hypoxie et peut constituer un bon candidat pour la nutrithérapie anti-drépanocyttaire. En effet, la drépanocytose est une maladie chronique. La meilleure prise en charge de cette maladie serait d'intégrer le médicament du drépanocyttaire dans son alimentation quotidienne au lieu de chercher à isoler des molécules ou à les synthétiser. D'où l'intérêt des alicaments (nutrithérapie) pour cette pathologie qui accompagne le malade toute la vie [33]. Il faut aussi noter

que certaines plantes faisant partie de la pharmacopée des grands singes sont aussi prescrites en phytothérapie humaine (convergence d'utilisation). C'est le cas notamment de *Treculia africana* rapporté dans la littérature comme doué des propriétés antipaludiques [34].

La démarche suivie dans cette étude en vue de faire une corrélation entre la pharmacopée des grands singes (zoopharmacognosie) et la drépanocytose est originale. A cet effet, c'est pour la première fois que *Treculia africana* est signalé dans la littérature comme doué des propriétés anti-drépanocytaires et ouvre ainsi des nouvelles perspectives pour la prise en charge de la drépanocytose grâce aux effets modulateurs des métabolites secondaires d'origine végétale sur l'épigénome [35].

5 CONCLUSION

Le but de la présente étude a été de confirmer l'évidence d'un état pathologique chez les grands singes (les bonobos en particulier) en vue de les considérer comme modèle biologique pour tester et/ou valider l'hypothèse d'automédication et d'effets anti-hémolytiques possibles des plantes qu'ils consomment. Nos résultats ont confirmé l'existence d'un état pathologique chez ces PNH justifiant ainsi la nécessité d'une enquête zoopharmacognosique. Les résultats de cette enquête a permis d'identifier 35 taxons végétaux consommés plus ou moins régulièrement par ces animaux. Le test biologique a montré que l'une des plantes, *Treculia africana*, inhibe la falciformation *in vitro* des globules rouges SS en conditions d'hypoxie et peut ainsi servir de source des métabolites bioactifs pour la promotion d'une nutrithérapie anti-drépanocytaire en République Démocratique du Congo. Cependant, il est donc souhaitable que la cytotoxicité et l'hépatotoxicité des extraits de cette plante soient réalisées en vue de garantir leur innocuité et s'assurer s'ils seront bien tolérés par l'organisme.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les responsables de la "Réserve forestière de Lomako" ainsi que ceux de la fondation AWF (African Wildlife Foundation) pour leur assistance. Ils remercient aussi l'Académie de Recherche et d'Enseignement supérieur (ARES) du Royaume de Belgique pour la bourse de recherche (PAH-2015 ARES/UNIKIN) accordée à Mr Jean-Paul Ngbolua Koto –te-Nyiwa.

REFERENCES

- [1] K.N. Ngbolua, H. Rafatro, H. Rakotoarimanana, R.S. Urverg, V. Mudogo, P.T. Mpiana, D.S.T. Tshibangu. Pharmacological screening of some traditionally-used antimalarial plants from the Democratic Republic of Congo compared to its ecological taxonomic equivalence in Madagascar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, Vol. 5, no. 5, pp. 1797-1804, 2011a.
- [2] K.N. Ngbolua, H. Rakotoarimanana, H. Rafatro, S.R. Urverg, V. Mudogo, P.T. Mpiana, D.S.T. Tshibangu. Comparative antimalarial and cytotoxic activities of two Vernonia species: *V. amygdalina* from the Democratic Republic of Congo and *V. cinerea subsp. vialis* endemic to Madagascar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, Vol. 5, no. 1, pp. 345-353, 2011b.
- [3] K.N. Ngbolua, N.R. Mubindukila, P.T. Mpiana, C.A. Masengo, R. Baholy, P.R. Fatiany, E.G. Ekutsu, Z.B. Gbolo. *In vitro* Assessment of Antibacterial and Antioxidant activities of a Congolese medicinal plant species *Anthocleista schweinfurthii* Gilg (Gentianaceae). *J. of Modern Drug Discovery and Drug Delivery Research*. V1I3, 20014a. DOI: 10.15297/JMDDR.V1I3.03.
- [4] K.N. Ngbolua, N.R. Mubindukila, P.T. Mpiana, D.S.T. Tshibangu, C.A. Masengo, K.W. Nzongola, R. Baholy, P.R. Fatiany. Phytochemical screening, Antibacterial and Antioxidant activities of *Anthocleista liebrechtsiana* Wild & T. Durand (Gentianaceae) originated from Democratic Republic of the Congo. *Journal of Advancement in Medical and Life Sciences* V1I3, 2014b. DOI: 10.15297/JALS.V1I3.04.
- [5] WHO. Médecine traditionnelle. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/fr/> (accès: décembre 2011).
- [6] S. Krief. La pharmacopée des chimpanzés. *Pour La Science*, no. 325, pp.76–80, 2004.
- [7] K.N. Ngbolua. Evaluation de l'activité anti-drépanocytaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la République Démocratique du Congo et de Madagascar, Thèse de Doctorat: Université de Kinshasa, République Démocratique du Congo : 2012. DOI: 10.13140/RG.2.1.3513.3606.
- [8] K.N. Ngbolua, B.M. Bolaa, P.T. Mpiana, E.G. Ekutsu, A.C. Masengo, D.S.T. Tshibangu, V. Mudogo, D.D. Tshilanda, K.R. Kowozogono. Great Apes Plant Foods As Valuable Alternative Of Traditional Medicine In Congo Basin: The Case Of Non-Human Primate Bonobos (*Pan paniscus*) Diet at Lomako Fauna Reserve, Democratic Republic of the Congo. *J. of Advanced Botany and Zoology*, V3I1, 2015a. DOI: 10.15297/JABZ.V3I1.01.

- [9] A. Fowler, Y. Koutsioni, V. Sommer. Leaf-swallowing in Nigerian chimpanzees: evidence for assumed self-medication. *Primates*, no. 48, pp.73–6, 2007.
- [10] U. Maloueki, K.P. Kunyima, I.D. Mbomba, N.A. Dani, K.A. Lukuka, N.J. Lami, P.T. Mpiana, K.N. Ngbolua, K.S.P. Ndimbo, N.B. Mbomba, M. Musuyu. Activités antioxydante et antiplasmodiale d'extraits de *Massularia acuminata* (Rubiaceae). *Phytothérapie*, DOI 10.1007/s10298-015-0937-z, 2015.
- [11] J.K. Kambale, K.N. Ngbolua, P.T. Mpiana, V. Mudogo, D.S.T. Tshibangu, R. Wumba, L.G. Mvumbi, L.R. Kalala, K.G. Mesia, E. Ekutsu. Evaluation *in vitro* de l'activité antifalcémiant et effet antioxydatif des extraits d'*Uapaca heudelotii* Baill. (Euphorbiaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, Vol. 7, no. 2, pp. 523-534.
- [12] K.N. Ngbolua, T.T. Bishola, P.T. Mpiana, V. Mudogo, D.S.T. Tshibangu, K.N. Ngombe, D.D. Tshilanda, R. Baholy. *In vitro* antisickling and free radical scavenging activities of *Pentaclethra macrophylla* Benth. (Fabaceae). *Journal of Advancement in Medical and Life Sciences* V112, 2014c. DOI: 10.15297/JALS.V112.03.
- [13] K.N. Ngbolua, T.T. Bishola, P.T. Mpiana, V. Mudogo, D.S.T. Tshibangu, K.N. Ngombe, E.G. Ekutsu, Z.B. Gbolo, N.O. Kabena. Ethno-pharmacological survey, *in vitro* antisickling and free radical scavenging activities of *Carapa procera* DC. stem bark (Meliaceae). *Nova Journal of Medical and Biological Sciences*, Vol. 2, no. 2, pp. 01-14, 2014d.
- [14] K.N. Ngbolua, T.T. Bishola, P.T. Mpiana, V. Mudogo, D.S.T. Tshibangu, K.N. Ngombe, E.G. Ekutsu, D.D. Tshilanda, Z.B. Gbolo, T.D. Mwanangombo, P.R. Fatiany, R. Baholy. Ethno-botanical survey, *in vitro* antisickling and free radical scavenging activities of *Garcinia punctata* Oliv. (Clusiaceae). *Journal of Advanced Botany & Zoology* V112, 2014e. DOI: 10.15297/JABZ.V112.04.
- [15] J. Pagnier, H. Wajcman, V. Baudin, D. Labie. Genetic polymorphism of drepanocytosis. *Annals of Genetics* no. 28, pp. 5-12, 1985.
- [16] S. Krief, A.A. Escalante, M.A. Pacheca, L. Mugisha, C. André. On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *P. falciparum* from bonobos. *PLoS Pathog.*, Vol. 6, no. 2, pp. e 1000765, 2010.
- [17] K.N. Ngbolua, V. Mudogo, P.T. Mpiana, M.J. Malekani, H. Rafatro, R.S. Urverg, L. Takoy, H. Rakotoarimana, D.S.T. Tshibangu. Evaluation de l'activité anti-drépanocytaire et antipaludique de quelques taxons végétaux de la République démocratique du Congo et de Madagascar. *Ethnopharmacologia*, no. 50, pp. 19-24, 2013.
- [18] N. Thompson-Handler, R.K. Malenky, G. Reinartz. Action Plan for *Pan paniscus*: report on free ranging populations and proposals for their preservation, Zoological Society of Milwaukee County Publisher, Milwaukee, 1995.
- [19] F.J. White. Seasonality and socio-ecology: the importance of variation in fruit abundance to bonobo sociality. *International Journal of Primatology*, Vol. 19, no. 6, pp. 1013-1027, 1998.
- [20] T. Borghini, M. Schenker, D. Kessler. Fiche technique: Bandelettes réactives urinaires. Suisse proficiency testing SPTS 004, Centre Suisse de contrôle de qualité (CSCQ). http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/urinesFT.pdf (consulté le 14 juin 2015).
- [21] P.T. Mpiana, F.M. Misakabu, P.M. Yuma, D.S.T. Tshibangu, K.N. Ngbolua, C.L. Muanyishay, B.Z. Gbolo, N.M. Misengabu, J.S. Kayembe. Antisickling activity and physico-chemical stability of anthocyanin extracts from *Ipomoea batatas* leaves. *Journal of Life Medicine*, Vol. 2, no. 1, pp. 25-31, 2014a.
- [22] P.T. Mpiana, F.M. Misakabu, D.S.T. Tshibangu, K.N. Ngbolua, D.T. Mwanangombo. Antisickling activity and membrane stabilization effect of anthocyanins extracts from *Adansonia digitata* L. bark on sickle blood cells. *International Blood Research and Reviews* Vol. 2, no. 5, pp. 198-212, 2014b.
- [23] J. Bruneton. Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes Médicinales. 3rd Edition, Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris, 1999.
- [24] P.T. Mpiana, B.L. Kimbadi, A.M. Ombeni, K.N. Ngbolua, D.S.T. Tshibangu, D.D. Tshilanda, N.M. Misengabu, C.L. Muanyishay, S.K. Muyisa. *In vitro* inhibitory effects and anti-sickle erythrocytes haemolysis of *Dicliptera colorata* C.B. Clarke, *Euphorbia hirta* L. and *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Open Journal of Blood Diseases*, no. 3, pp. 43-48, 2013. DOI: 10.4236/ojbd.2013.31009.
- [25] K.N. Ngbolua, P.T. Mpiana, D.S.T. Tshibangu, P.P. Mazasa, B.Z. Gbolo, E.K. Atibu, J.N. Kadima, F.M. Kasali. *In vitro* anti-sickling and radical scavenging activities of a poly-herbal formula (Drepanoalpa®) in Sickle cell erythrocyte and acute toxicity study in Wistar albino rats. *European Journal of Medicinal Plants*, Vol. 4, no. 10, pp. 1251-1267, 2014f.
- [26] K.N. Ngbolua, P.T. Mpiana, V. Mudogo, N.K. Ngombe, D.S.T. Tshibangu, E. Ekutsu, O.N. Kabena, B.Z. Gbolo, L. Muanyishay. Ethno-pharmacological survey and Floristical study of some Medicinal Plants traditionally used to treat infectious and parasitic pathologies in the Democratic Republic of Congo. *International Journal of Medicinal Plants* no. 106, pp. 454-467, 2014g.
- [27] K.N. Ngbolua, D.S.T. Tshibangu, P.T. Mpiana, S.O. Mihigo, B.K. Mavakala, C.A. Masengo, L.C. Muanyishay. Anti-sickling and antibacterial activities of Some Extracts from *Gardenia ternifolia* subsp. *jovis-tonantis* (Welw.) Verdc. (Rubiaceae) and *Uapaca heudelotii* Baill. (Phyllanthaceae). *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 2, no. 1, pp. 10-19, 2015b.

- [28] D.D. Tshilanda, N.V. Onyamboko, P.T. Mpiana, K.N. Ngbolua, D.S.T. Tshibangu, M.B. Mbala, K.M. Bokolo, K.M. Taba, K.T. Kasonga. Antisickling activity of butyl stearate isolated from *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol. 4, no. 5, pp. 393-398, 2014.
- [29] H.D. Neuwinger. *African Traditional Medicine*. Mepharm Scientific Publisher, Stuttgart. 2000.
- [30] G. Idani, S. Kuroda, T. Kano, R. Asato. Flora and vegetation of Wamba forest, Central Zaire with reference to Bonobo (*Pan paniscus*) foods. *Tropics*, Vol. 3, no. ¾, pp. 309-332, 1994.
- [31] S. Krief, C.M. Hladik, C. Haxaire. Ethnomedicinal and bioactive properties of plants ingested by wild chimpanzees in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*, no. 101, pp. 1-15, 2005.
- [32] R. Girot, P. Begué, F. Galacteros. *La drépanocytose*. Editions John LIBBEY Eurotext, Paris: France, 2003.
- [33] P.T. Mpiana, K.N. Ngbolua, D.S.T. Tshibangu. Les aliments médicaments ou alicaments et la drépanocytose. Colloque Panafricain-Paneuropéen en « Chimie et Ressources Naturelles », Du 13 au 16 Avril 2015, Cotonou, République du Bénin.
- [34] J.L. Betti, O.L. Yongo, D.O. Mbomio, D.M. Iponga, A. Ngoye. An ethno-botanical and floristical study of medicinal plants among the Baka Pygmies in the periphery of the Ipassa-Biosphere reserve, Gabon. *European Journal of Medicinal Plants*, Vol. 3, no. 2, pp. 174-205, 2013.
- [35] K.N. Ngbolua, P.T. Mpiana. The Possible Role of a Congolese polyherbal formula (Drepanoalpha[®]) as source of Epigenetic Modulators in Sickle Cell Disease: A Hypothesis. *J. of Advancement in Medical and Life Sciences*. V211, 2014h. DOI: 10.15297/JALS.V211.02.