

**Revue Congolaise des Sciences & Technologies**

ISSN: 2959-202X (Online); 2960-2629 (Print)

<http://www.csnrdc.net/>**OPEN ACCESS****REVUE
CONGOLAISE
DES SCIENCES
ET TECHNOLOGIES****Evaluation *in silico* de l'activité anti-drépanocytaire de quelques composés de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae)****[*In silico* evaluation of the anti-sickling activity of some essential oil compounds of *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae)]****C.A. Masengo^{1,2}, K.N. Ngbolua², J.T. Kilembe³, S.O. Mihigo³, G.B. Ilumbe², D.D. Tshilanda³, D.S.T. Tshibangu³, V. Mudogo³ & P.T. Mpiana^{3,*}**¹*Institut Supérieur des Techniques Médicales, Section Biologie Médicale, Unité d'Enseignement de Microbiologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo*²*Université de Kinshasa, Faculté des Sciences et Technologies, Département de Biologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo*³*Université de Kinshasa, Faculté des Sciences et Technologies, Département de Chimie, République Démocratique du Congo***Résumé**

Dans le contexte de la drépanocytose, une maladie génétique affectant les globules rouges, la recherche de traitements alternatifs est cruciale. L'objectif de cette étude est d'utiliser des simulations informatiques pour prédire l'efficacité de certains composés de *Lippia multiflora* dans la lutte contre cette hémoglobinopathie. La méthodologie utilisée repose sur des techniques de modélisation moléculaire et de simulation *in silico*. Dix molécules de la plante ont été sélectionnées et leurs structures tridimensionnelles construites. Ensuite, des simulations de docking moléculaire ont été effectuées pour évaluer l'affinité de liaison entre ces métabolites secondaires et l'hémoglobine S. Les résultats révèlent que quatre composés chimiques de *Lippia multiflora* (cycloeucaenol, luteolin, verbascoside et zitosterin) présentent une affinité prometteuse avec la protéine cible, suggérant un potentiel anti-drépanocytaire de la plante. Cependant, des études expérimentales ultérieures sont nécessaires pour valider ces prédictions (efficacité potentielle) afin de confirmer l'efficacité réelle de cette plante médicinale. Cette approche *in silico* ouvre ainsi la voie à une présélection plus rapide et économique de plantes médicinales prometteuses pour le développement futur de traitements contre la drépanocytose.

Mots clés: Modélisation moléculaire, médecine alternative, *Lippia multiflora*, drépanocytose, République démocratique du Congo

Abstract

In the context of sickle cell disease, a genetic disorder affecting red blood cells, the search for alternative treatments is crucial. The aim of this study is to use computer simulations to predict the efficacy of certain *Lippia multiflora* compounds in combating this hemoglobinopathy. The methodology used is based on molecular modeling and *in silico* simulation techniques. Ten molecules of plant were selected and their three-dimensional structures were constructed. Molecular docking simulations were then carried out to assess the binding affinity between these secondary metabolites and hemoglobin S. The results reveal that four chemical compounds from *Lippia multiflora* (cycloeucaenol, luteolin, verbascoside and zitosterin) show promising affinity with the target protein, suggesting the plant's anti-sickle cell potential. However, further experimental studies are needed to validate these predictions (potential efficacy) in order to confirm the actual efficacy of this medicinal plant. This *in silico* approach thus paves the way for faster, more cost-effective pre-selection of promising medicinal plants for future development of treatments for sickle cell disease.

Keywords: Molecular modeling, alternative medicine, *Lippia multiflora*, sickle cell disease, Democratic Republic of the Congo

*Auteur correspondant: Mpiana Tshimankinda Pius, (pt.mpiana@unikin.ac.cd). Tél. : (+243) 81 81 160 19 ;

Reçu le 17/08/2023; Révisé le 25/09/2023 ; Accepté le 13/10/2023

<https://doi.org/10.59228/rcst.023.v2.i3.47>

Copyright: ©2023 Masengo et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

1. Introduction

La drépanocytose, une maladie génétique caractérisée par une mutation du gène β S, demeure une préoccupation majeure de santé dans de nombreuses régions du monde et en particulier en République démocratique du Congo où 2% de la population sont homozygotes SS (Mpiana et al., 2007, 2008). Les patients atteints de drépanocytose font face à des complications graves telles que l'anémie chronique et la vaso-occlusion, entraînant une altération significative de leur qualité de vie (Agasa et al., 2010; Kasai et al., 2022; Tshilolo et al., 2009).

Il faut ainsi noter que malgré les avancées médicales, les traitements existants présentent des limites et des effets secondaires indésirables, ce qui motive la recherche de nouvelles approches thérapeutiques plus efficaces, mieux tolérées et à faible coût. Face à cette problématique, l'exploration des propriétés pharmaco-biologiques des métabolites secondaires issus de plantes médicinales offre un potentiel prometteur pour le développement de nouvelles formulations bio-thérapeutiques contre la drépanocytose.

Lippia multiflora, une plante utilisée traditionnellement pour ses propriétés médicinales, contient divers métabolites secondaires aux activités biologiques variées et scientifiquement validées *in vitro* et pourraient montrer des effets bénéfiques sur la modulation de l'hémoglobine et la réduction des complications associées à la drépanocytose (Ashande, 2023; Masengo et al., 2023). Cependant, avant de passer à des expérimentations *in vivo*, une évaluation *in silico* par docking moléculaire peut permettre de cibler plus efficacement les métabolites secondaires pouvant servir de phytomarqueurs les plus prometteurs.

A cet effet, la question de recherche de la présente étude est donc formulée comme suit : "Est-il envisageable d'évaluer de manière prédictive l'activité anti-drépanocytaire potentielle de certains métabolites secondaires contenus dans *Lippia multiflora* en utilisant des simulations *in silico* ?" Dans cette perspective, l'hypothèse sous-jacente est que les interactions moléculaires entre les métabolites secondaires de *Lippia multiflora* et les molécules d'hémoglobine mutées associées à la drépanocytose (Hb S) peuvent être prédites avec précision grâce à des techniques de docking moléculaire.

Les objectifs de cette étude sont les suivants:

- identifier les métabolites secondaires de *Lippia multiflora* susceptibles de moduler le comportement de l'hémoglobine S ;
- mener des simulations de docking moléculaire pour évaluer les interactions entre les métabolites sélectionnés et les molécules d'hémoglobine S ;
- analyser les résultats du docking pour prédire l'affinité, le mode d'interaction et les mécanismes potentiels d'action de ces métabolites secondaires ;
- prédire des propriétés physico-chimiques des ligands (métabolites secondaires).

Ainsi, en combinant les méthodes *in silico* avec les connaissances actuelles sur les propriétés bioactives de *Lippia multiflora*, cette étude vise à éclairer la voie vers de nouveaux candidats thérapeutiques contre la drépanocytose, ouvrant ainsi la porte à des traitements plus efficaces, mieux tolérés et facilement accessibles pour les patients drépanocytaires.

2. Matériel et méthodes

2.1. Causes externes ou géopolitiques

L'arrimage moléculaire se réalise en plusieurs étapes:

2.1.1. Préparation du récepteur

Le récepteur utilisé dans cette étude est l'Hémoglobine S (PDB ID : 2HBS). Sa configuration tridimensionnelle cristallographique est extraite de la Banque de Données des Protéines (<http://www.rcsb.org/pdb/>). La visualisation et la préparation de cette protéine sont effectuées via le logiciel Discovery Studio 2020, dans le but d'identifier les différents résidus présents au niveau du site actif (Matondo et al., 2022; Mpiana et al., 2021). La préparation du récepteur implique l'ajout d'atomes d'hydrogène au sein des structures protéiques (du fait que les structures issues de la PDB sont généralement obtenues par diffraction aux rayons X et ne contiennent pas les atomes d'hydrogène), la suppression des molécules d'eau et du ligand co-cristallisé, et enfin la vérification exhaustive des résidus d'acides aminés au sein de la cavité afin de garantir l'intégralité de leur présence (Ngbolua et al., 2022; Ngbolua et al., 2021). La figure 1 donne la structure tridimensionnelle de l'hémoglobine S.

2.1.2. Préparation des ligands

Les configurations moléculaires des composés (Figure 2) de *Lippia multiflora* sélectionnés pour le docking moléculaire ont été dessinées à l'aide du logiciel ChemDraw 2016, puis sauvegardées au format SDF avant d'être converties en format .mol2.

La structure des composés a été optimisée par la méthode de champ de force UFF1 qui permet de minimiser l'énergie potentielle. Cette méthode est basée sur une approche semi-empirique, visant à optimiser la géométrie moléculaire et à déterminer l'énergie et la distribution électronique des molécules (Mulongo et al., 2022; Ngbolua et al., 2021; Tunga et al., 2020).

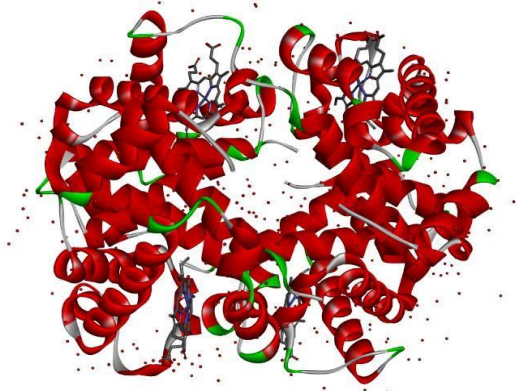


Figure 1. Structure tridimensionnelle de l'hémoglobine S

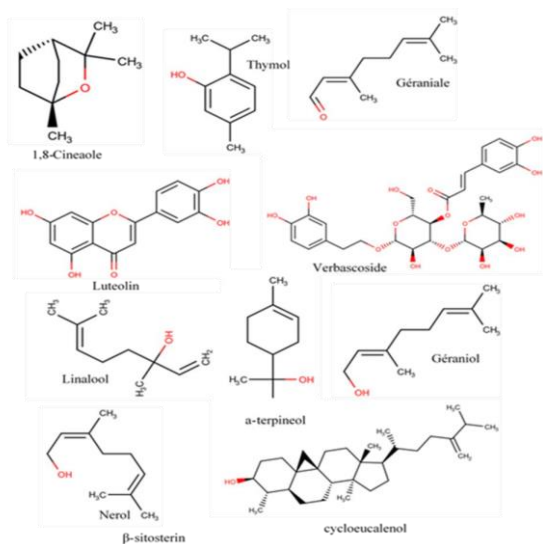


Figure 2. Structure en 2D des molécules utilisées

2.1.3. Docking moléculaire

La méthode de docking employée est le docking basé sur la structure. Un docking rigide a été effectué afin d'obtenir des configurations possibles des ligands au sein du site actif. Dans un premier temps, le docking a été réalisé avec la molécule de référence pour valider le protocole de docking. Les coordonnées du centre de la grille ont été fixées à $X=21,532 \text{ \AA}$, $Y=47,033 \text{ \AA}$ et $Z=39,948 \text{ \AA}$, avec une dimension de grille de $101,018 \text{ \AA} \times 99,571 \text{ \AA} \times 71,061 \text{ \AA}$.

Après avoir confirmé la validité du protocole (mesurée par le RMSD $< 2 \text{ \AA}$), un tamisage virtuel a été entrepris par docking moléculaire rigide au sein du site actif de la protéine. Durant ce processus, les ligands étaient flexibles tandis que le récepteur demeurait rigide. Enfin, les valeurs d'énergie de liaison ont été extraites du logiciel (Matondo et al., 2022; Mpiana et al., 2021; Mulongo et al., 2022). La conformation la plus optimale des composés, avec une énergie de liaison se rapprochant de celle de la molécule de référence, a été choisie pour une analyse plus poussée. Les interactions moléculaires entre le récepteur et le ligand, incluant les liaisons hydrogène et les longueurs de liaison, ont été analysées (Ngbolua et al., 2022; Ngbolua et al., 2021; Tunga et al., 2020).

2.1.4. Visualisation

L'étude des interactions moléculaires faibles en deux dimensions au sein de la structure du complexe récepteur-ligand a été effectuée à l'aide du logiciel Discovery Studio 2020 (Matondo et al., 2022; Mpiana et al., 2021). Cette démarche avait pour objectif de déceler les types de liaisons présents, ainsi que leurs longueurs de liaison, dans chaque configuration résultant du docking. Ces informations ont été représentées sous forme graphique (Mulongo et al., 2022; Ngbolua et al., 2022; Ngbolua et al., 2021; Tunga et al., 2020).

2.2. Propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des ligands

L'évaluation de la pertinence pharmacologique d'un ligand repose sur diverses propriétés, dont la biodisponibilité du médicament, la similitude médicamenteuse, l'ADMET, etc. Ces caractéristiques sont calculées à partir de propriétés physico-chimiques et structurales spécifiques.

Dans ce contexte, tous les ligands ont été soumis à une évaluation de leur potentiel en tant que médicaments, conformément aux critères de Lipinski: Poids moléculaire (≤ 500); Lipophilie ($\log P : \leq 5$); Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (≤ 5); Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (≤ 10). Ces critères, couramment appelés règle des 5, ont été complétés par deux critères additionnels introduits par Veber et al. (2002): la surface polaire (polar surface area, PSA) du composé doit être inférieure à 140, et le nombre de liaisons de rotation (rotatable bonds) doit être inférieur à 15. Les ligands pharmacophores ne satisfaisant pas à au moins deux critères de cette règle risquent fortement de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité.

Ces propriétés ont été simulées à l'aide du logiciel SWISSADME (Matondo et al., 2022; Mpiana et al., 2021; Mulongo et al., 2022).

Par ailleurs, il existe des valeurs optimales de logP pour une absorption et une pénétration membranaire efficaces, évitant à la fois une hydrophilie excessive et une lipophilie excessive. De plus, les caractéristiques pharmacocinétiques et toxicologiques ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) ont été évaluées à l'aide du serveur pkCSM (Ngbolua et al., 2022; Ngbolua et al., 2021; Tunga et al., 2020).

3. Résultats et discussion

3.1. Docking moléculaire

Nous avons choisi la structure cristallographique 2HBS pour notre modélisation. Étant donné que l'Hémoglobine S n'a pas de ligand de référence, nous avons opté pour l'acide ursolique, un composé qui a démontré une activité anti-drépanocytaire *in vitro* (Tshilanda et al., 2015), comme molécule de référence. Les scores résultant du docking moléculaire du 2HBS avec le ligand actif (molécule de référence) ainsi que dix composés de *Lippia multiflora* sont répertoriés dans la figure 3 ci-dessous.

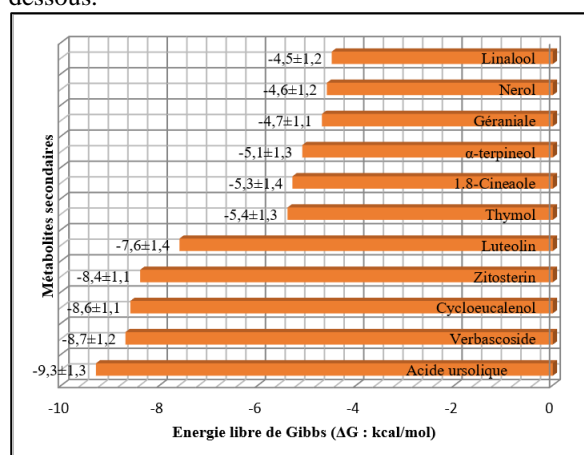


Figure 3. Valeurs d'énergie d'interaction des composés de *Lippia* avec le 2HBS

Il ressort de cette figure que les complexes formés par l'hémoglobine S avec des composés de *Lippia multiflora* sont thermodynamiquement stables ($\Delta G < 0$). En effet, les valeurs d'affinité de liaison sont comprises entre $-9,3 \pm 1,3$ et $-4,5 \pm 1,2$ kcal/mol. Les enthalpies libres révèlent une forte compétition entre les ligands 2, 3, 4, et 5. Il faut cependant noter que le ligand 2 présente la plus grande affinité de liaison ($-9,3 \pm 1,3$ kcal/mol) après le composé de référence, cependant ce ligand montre une très faible différence de valeur avec les ligands 3 et 4, et son énergie est légèrement supérieure à celle du ligand 5.

L'acide ursolique présente l'énergie la plus élevée en valeur absolue. Ces résultats établissent ainsi la corrélation entre la teneur en acides triterpéniques d'une plante et son activité anti-

drépanocytaire. Les ligands 6 à 11 montrent une faible stabilité thermodynamique.

Ces résultats montrent aussi que l'utilisation d'extrait de *Lippia multiflora* entant que complexe chimique à la place d'une molécule isolée est une meilleure stratégie thérapeutique. En effet, tenant compte de la teneur élevée de l'hémoglobine dans l'organisme, l'utilisation d'une molécule à la place d'un complexe n'est pas recommandable car il en faudrait une forte concentration, ce qui peut entraîner la toxicité. La combinaison de *Lippia multiflora* avec d'autres plantes médicinales et aromatiques riches en métabolites secondaires variés est une autre alternative crédible pour la mise au point d'un phytomédicament efficace et à large spectre.

3.2. Interactions moléculaires au niveau du site actif de 2HBS

Le score de docking seul ne suffit pas pour évaluer le potentiel thérapeutique d'un composé. La nature d'interactions entre ce dernier et le site actif du récepteur constitue une indication importante sur la bio-activité. Pour évaluer l'activité biologique potentielle des ligands, une analyse comparative avec le domaine d'interaction de l'acide ursolique a été réalisée. Après analyse, il a été constaté que les ligands 2, 3, 4 et 5 interagissent dans le même domaine que celui de l'acide ursolique. Ces quatre composés présentent donc une bonne activité anti-drépanocytaire. Ainsi, il faut noter qu'en plus de l'activité singulière, l'extrait *Lippia multiflora* contient plusieurs molécules qui peuvent entrer en synergie pour augmenter son activité biologique. La figure 4 ci-dessous illustre les interactions en deux dimensions des 4 meilleurs composés retenus.

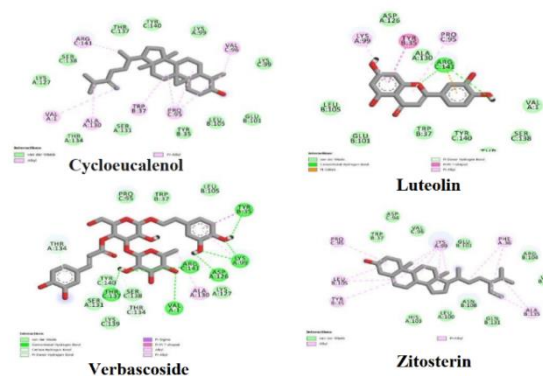


Figure 4. Structure 2D des complexes de l'hémoglobine S avec les 4 ligands retenus

Il ressort de cette figure que le complexe de l'hémoglobine S avec le ligand 2 est fortement stabilisé par les liaisons Hydrogène, tandis que pour

le complexe de Hb S avec les ligands 3, 4 et 5 les interactions de type Van der Waals jouent un rôle important dans la stabilisation de ces derniers. La présentation de ces ligands dans la cavité de 2HBS en 3D est illustrée dans la [figure 5](#) ci-dessous:

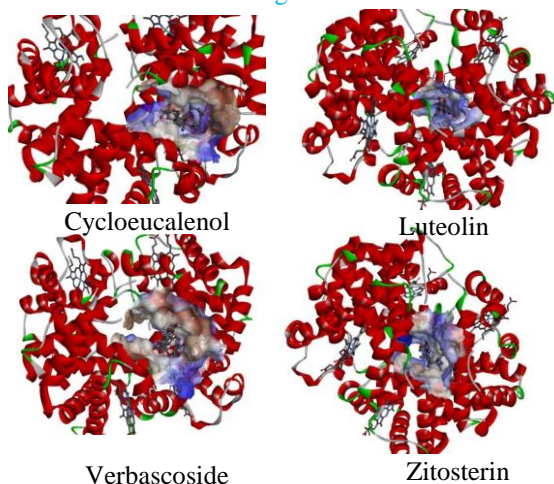


Figure 5. Complexe 2HBS-Meilleurs ligands retenus

Ces résultats montrent que *Lippia multiflora* contient des métaboliques secondaires qui peuvent agir individuellement et/ou collectivement (Effet synergique) sur la cible pharmacologique (Hb S). La modélisation moléculaire constitue un moyen efficace pour la présélection des plantes bioactives.

3.3. Propriétés physico-chimiques des ligands

Le [tableau 1](#) donne les résultats de la prédiction des propriétés physico-chimiques des ligands grâce au serveur bio-informatique SWISSADME.

Tableau 1. Propriétés physico chimiques des ligands sélectionnés

N°	Nom	MM	Log P	H-D	H-A	Viol
1	Thymol	150	2,82	1	1	0
2	Nerol	154	2,67	1	1	0
3	Luteolin	286	2,28	4	6	0
4	Linalool	154	2,67	1	1	0
5	Geraniale	152	2,88	0	1	0
6	α -terpineol	154	2,5	1	1	0
7	1,8-Cineole	154	2,7	0	1	0
8	Zitosterin	415	8,02	1	1	1
9	Cycloeucaleanol	427	8,02	1	1	1
10	Verbascoside	625	-1,02	9	15	3

Légende : MM masse molaire, P H-D hydrogène donneur, H-A hydrogène accepteur, Viol violation

Il ressort de ce tableau que seul le verbascoside viole trois critères de la règle de Lipinski. En effet, son poids moléculaire ainsi que le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène sont respectivement 625 ; 9 et 15. Il faut en outre noter que zitosterin et cycloeucaleanol n'ont violé qu'un seul critère (Log P >5). L'intelligence artificielle, notamment le docking moléculaire, peut jouer ainsi un rôle clé dans le développement de médicaments traditionnels améliorés à partir de plantes médicinales et alimentaires sauvages. Elle permet d'identifier des composés bioactifs et d'optimiser leur interaction avec les cibles moléculaires, accélérant ainsi la découverte de traitements pour des maladies orphelines telles que la drépanocytose. Cette approche soutient la politique de couverture sanitaire universelle en proposant des solutions abordables et accessibles, tout en favorisant le développement durable et en préservant les ressources naturelles. Notons que le docking moléculaire permet de prédire comment deux molécules, généralement une protéine et un ligand, s'associent au niveau spatial et comment leurs interactions intermoléculaires pourraient se produire. Les résultats de cette étude ont été scientifiquement validés *in vitro* (Masengo et al., 2023).

4. Conclusion

L'évaluation *in silico* de l'activité anti-drépanocytaire des composés chimiques de *Lippia multiflora* offre une approche prometteuse pour la recherche de traitements potentiels contre la drépanocytose. Les résultats obtenus suggèrent des interactions favorables entre les composés étudiés et la principale cible biologique associée à la maladie notamment l'hémoglobine S. Cependant, des études *in vivo* seront nécessaires pour valider ces prédictions et déterminer l'efficacité réelle de cette plante. La méthode bioinformatique constitue ainsi un outil complémentaire précieux pour orienter les futures recherches pharmacologiques dans le domaine de la drépanocytose.

Références bibliographiques

Agasa, B., Bosunga, K., Opara, A., Tshilumba, K., Dupont, E., Vertongen, F., Cotton, F., & Gulbis, B. (2010). Prevalence of sickle cell disease in a northeastern region of the Democratic Republic of Congo : What impact on transfusion policy? *Transfusion medicine*, 20(1), 62-65.

- Kasai, E. T., Alworong'a Opara, J. P., Ntokamunda Kadima, J., Kalenga, M., Batina Agasa, S., Marini Djang'eing 'a, R., & Boemer, F. (2022). Overview of current progress and challenges in diagnosis, and management of pediatric sickle cell disease in Democratic Republic of the Congo. *Hematology*, 27(1), 132-140.
- Masengo, C. A., Ngbolua K.N., Kwevi M.N., Kilembe T.J., Mihigo O.S., Kabena N.O., Tshilanda D.D., Tshibangu D.S.T., Ilumbe B.G., Mpiana T.P. (2023). Quantitative determination of Oxalic and Phytic acids of *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae) Leaves and *in silico* study of their interaction with Haemoglobin S and 2, 3-DPG-Mutase. *Sumerianz Journal of Biotechnology* 6(1), 1-10. doi: doi.org/10.47752/sjb.61.1.10.
- Masengo, C. A., Ngbolua, K. N., Omeonga, S. L., Nzuzi, N. P., Ilumbe, G. B., & Mpiana, P. T. (2023). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-radicalaire, anti-inflammatoire, anti-drépanocytaire et cytotoxique des feuilles de *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(3), 303-312.
- Matondo, A., Dendera, W., Isamura, B. K., Ngbolua, K.-N., Mambo, H. V., Muzomwe, M., & Mudogo, V. (2022). In silico drug repurposing of anticancer drug 5-FU and analogues against SARS-CoV-2 main protease: Molecular docking, molecular dynamics simulation, pharmacokinetics and chemical reactivity studies. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, 59-77.
- Mpiana, P. T., Mudogo, V., Tshibangu, D. S. T., Kitwa, E. K., Kanangila, A. B., Lumbu, J. B. S., Ngbolua, K. N., Atibu, E. K., & Kakule, M. K. (2008). Antisickling activity of anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis* and *Ziziphus mucronata*: Photodegradation effect. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 413-418.
- Mpiana, P. T., Ngoy, E. M., Kilembe, J. T., Kabengele, C. N., Matondo, A., Inkoto, C. L., Lengbiye, E. M., Mwanangombo, D. T., Tshibangu, D. S. T., & Ngbolua, K. T. N. (2021). *Ocimum basilicum* as a Potential Anti-COVID-19 Plant: Review on the Antiviral Activity and Molecular Docking of Some of Its Molecules with the SARS-CoV-2 Main Protease (MPRO). *Ocimum basilicum: Taxonomy, Cultivation and Uses*, 73-111.
- Mpiana, P. T., Tshibangu, D. S. T., Shetonde, O. M., & Ngbolua, K. N. (2007). In vitro antidrepanocytary activity (anti-sickle cell anemia) of some congolese plants. *Phytomedicine*, 14(2-3), 192-195.
- Mulongo, E. K., Kilembe, J. T., Bongo, G. N., Dinangayi, D. T., Tshibangu, D. S. T., & Mpiana, P. T. (2022). In silico screening of natural compounds from *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae, Linn) and *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae, Linn) against SARS-CoV2, a COVID-19 main protease, using molecular docking approach. *IJFAC (Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry)*, 7(3), 148-157.
- Ngbolua, K. N., Kilembe, J. T., Matondo, A., Ashande, C. M., Mukiza, J., Nzanzu, C. M., Ruphin, F. P., Baholy, R., Mpiana, P. T., & Mudogo, V. (2022). In silico studies on the interaction of four cytotoxic compounds with angiogenesis target protein HIF-1 α and human androgen receptor and their ADMET properties. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 1-12.
- Ngbolua, K.-N., Kilembe, J. T., Matondo, A., Masengo Ashande, C., Mukiza, J., Nzanzu, C. M., Ruphin, F. P., Baholy, R., Mpiana, P. T., & Mudogo, V. (2021). Molecular Docking Studies on the Interaction of Four Malagasy Cytotoxic Compounds with Angiogenesis Target Protein HIF-1 α and Human Androgen Receptor and Their ADMET properties. *Discovery Phytomedicine*, 8(3).
- Tshilanda, D. D., Onyamboko, D. N., Babady-Bila, P., Ngbolua, K.-N., Tshibangu, D. S., dia Fita Dibwe, E., & Mpiana, P. T. (2015). Anti-sickling activity of ursolic acid isolated from the leaves of *Ocimum gratissimum* L.(Lamiaceae). *Natural products and bioprospecting*, 5, 215-221.
- Tshilolo, L., Aissi, L. M., Lukusa, D., Kinsiam, C., Wembonyama, S., Gulbis, B., & Vertongen, F. (2009). Neonatal screening for sickle cell anaemia in the Democratic Republic of the Congo: Experience from a pioneer project on 31 204 newborns. *Journal of clinical pathology*, 62(1), 35-38.
- Tunga, K. A., Kilembe, J. T., Matondo, A., Yussuf, K. M., Nininahazwe, L., Nkatu, F. K., Tshingamb, M. N., Vangu, E. K., Kindala, J. T., & Mihigo, S. O. (2020). Computational analysis by molecular docking of thirty alkaloid compounds from medicinal plants as potent inhibitors of SARS-CoV-2 main protease.. *SDRP JACMM*. 2021. Vol. 4(4):487-503. DOI: 10.25177/JCCMM.4.4.RA.10699.
- Verber, D.F., Johnson, S.R., Cheng, H.Y., Smith, B.R., Ward, K.W., Kopple, K.D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidate. *J Med Chem* 45:2615–2623. doi: <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.