



N° 1855/17

Année : 2016 – 2017

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

KOUAKOU KOUAKOU JUSTIN STANISLAS

*ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'EFFET
ANTIFALCIMIANT DES EXTRAITS ACETATE D'ETHYLE,
BUTANOLIQUE ET EXTRAIT AQUEUX DE GRAINES DE
CAJANUS CAJAN (FABACEES), UNE PLANTE DE LA
PHARMACOPEE TRADITIONNELLE IVOIRIENNE.*

Soutenue publiquement le 30 Aout 2017

COMPOSITION DU JURY :

Président : Madame **KONE BAMBA**, Professeur titulaire
Directeur de thèse : Madame **SAWADOGO DUNI**, Professeur titulaire
Asseseurs : Monsieur **DEMBELE BAMORY**, Professeur agrégé
Monsieur **AMARI ANTOINE**, Professeur agrégé

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'UFR DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES**

I. HONORARIAT

<i>Directeurs/Doyens Honoraires :</i>	<i>Professeur RAMBAUD André</i>
	<i>Professeur FOURASTE Isabelle</i>
	<i>Professeur BAMBA Moriféré</i>
	<i>Professeur YAPO Abbé y</i>
	<i>Professeur MALAN Kla Anglade</i>
	<i>Professeur KONE Moussa †</i>
	<i>Professeur ATINDEHOU Eugène</i>

II. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur KONE-BAMBA Diénéba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mmes AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie.
INWOLEY Kokou André	Immunologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie

M.	KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
Mme	KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
M.	MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
M.	YAVO William	Parasitologie - Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	AKE-EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	AMARI Antoine Serge G.	Législation
	AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
	DEMBELE Bamory	Immunologie
	DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
	GBASSI K. Gildas	Chimie Physique Générale
Mme	IRIE-N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
M.	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU-SACKOU Julie	Santé Publique
M.	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
	OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
	OUATTARA Mahama	Chimie organique, Chimie thérapeutique
Mmes	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Mathématiques-Statistiques
	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M.	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES ASSISTANTS

M.	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie
	AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
	ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Sante Publique
M	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mmes	AYE-YAYO Mireille	Hématologie
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
M.	CABLAN Mian N°Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mmes	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
	FOFIE N°Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M.	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mme	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mmes	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
	KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
M.	MANDA Pierre	Toxicologie
	N°GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
Mme	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
M.	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

4. ASSISTANTS

M.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie

	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
	BLAO-N°GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
M.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N°Guessan Aimé	Pharmacie clinique
	COULIBALY Songuigama	Chimie organique, chimie thérapeutique
M.	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
	DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie-Virologie
Mmes	DONOU-N°DRAMAN Aha Emma	Hématologie
	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M.	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme	KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
M.	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KACOU Alain	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KOFFI Kouamé	Santé publique
	KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KOUAME Jérôme	Santé publique
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
Mme	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie-Virologie
M.	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
	MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie-Mycologie
	N°GBE Jean Verdier	Toxicologie
	N°GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie organique, chimie thérapeutique

Mmes N°GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
N°GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia	Législation
ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie organique, chimie thérapeutique
TANOH-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M. TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme TUO Awa	Pharmacie Galénique
M. YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

5. CHARGEES DE RECHERCHE

Mme ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
OUATTARA N°gnôh Djénéba	Santé publique

6. ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique
----------------------------	---------------------

7. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

M.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

2. MAITRES DE CONFERENCES

M.	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
	YAO N°Dri Athanase	Pathologie Médicale

3. MAITRE-ASSISTANT

M.	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
----	---------------------	------------------------

4. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	COULIBALY Gon	Activité sportive
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
	GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme	KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
MM	KOFFI ALEXIS	Anglais
	KOUA Amian	Hygiène
	KOUASSI Ambroise	Management
	N°GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE
L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ET BIOLOGIQUES**

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de département
Professeurs	OUASSA Timothée ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CABLAN Mian N°Dédey Asher KOUASSI AGBESSI Thérèse APETE Sandrine DJATCHI Richmond Anderson DOTIA Tiepordan Agathe KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde LATHRO Joseph Serge	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistant Assistante Assistante Assistant

II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	HAUHOLOT ép. ATTOUNGBRE M.L. AHIBOH Hugues AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KONAN Konan Jean Louis YAYO Sagou Eric KONE Fatoumata SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle YAPO-YAO Carine Mireille	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Assistante Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur	SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef du Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André DEMBELE Bamory	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé

	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Maitre-Assistant
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Maitre-Assistant
	AYE-YAYO Mireille	Maitre-Assistant
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Maitre-Assistant
	ADIKO Aimé Cézaire	Assistant
	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Assistante
	KABLAN-KASSI Hermance	Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
	N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.	Assistante
	YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Professeurs	AKE Michèle	Professeur Titulaire
	AMIN N'Cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	BONY Nicaise François	Maître de Conférences Agrégé
	GBASSI Komenan Gildas	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
	TRE Eric Serge	Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant

KOUAHO Avi Kadio Tanguy Assistant

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Assistant

SICA-DIAKITE Amelanh Assistante

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	YAVO William DJOHAN Vincent	Professeur Titulaire Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ANGORA Kpongbo Etienne BARRO KIKI Pulchérie KASSI Kondo Fulgence KONATE Abibatou VANGA ABO Henriette MIEZAN Jean Sébastien TANOH-BEDIA Valérie	Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Maître-Assistant Assistant Assistante

VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE,

1.1.1 COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	AMARI Antoine Serge G. DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S. N'GUESSAN Alain ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille LIA Gnahoré José Arthur NGUESSAN Kakwokpo Clémence N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia TUO Awa	Maître-Assistant Maître-Assistant Assistante Attaché de recherche Assistante Assistante Assistante

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE,

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Maître-Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistant
	ADIKO N'dri Marcelline	Chargée de recherche
	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Assistante
	ODOH Alida Edwige	Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs	ABROGOUA Danho Pascal	Professeur Titulaire Chef de Département
	KOUAKOU SIRANSY N'doua G.	Professeur Titulaire
	IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AMICHIA Attoumou M	Assistant
	BROU N'Guessan Aimé	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	EFFO Kouakou Etienne	Assistant
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Docteur	KONAN Jean-Fréjus	Maître-Assistant

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire
		Chef de département
	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU-SACKOU J.	Maître de Conférences Agrégé
	SANGARE-TIGORI B.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-Assistant
	MANDA Pierre	Maître-Assistant
	DIAKITE Aissata	Maître-Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistante
	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Maître-Assistante
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Chargée de Recherche
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Assistante
	KOFFI Kouamé	Assistant
NGBE Jean Verdier	Assistant	

**A NOS MAITRES ET
JUGES**

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DE JURY

Madame le professeur titulaire KONE BAMBA DIENEBA,

- *Doyen de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody;*
- *Professeur Titulaire de Pharmacognosie à l'UFR sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody;*
- *Chef du département de pharmacognosie à l'UFR sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université de Cocody;*
- *Expert à l'organisation Mondiale de la Santé*
- *Officier de l'ordre de l'enseignement supérieur de Côte d'Ivoire*
- *Officier de l'ordre du mérite national de Côte d'Ivoire*

Cher Maître,

Malgré vos charges, vous avez accepté spontanément de présider notre jury de thèse

Vous êtes d'une simplicité et d'une humilité qui étonnent mais qu'on ne peut qu'admirer.

Nous avons eu la chance et le plaisir de profiter de vos enseignements limpides.

Nous en sommes à la fois honorés et reconnaissant

Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici notre vive gratitude et notre profond respect

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Madame le Professeur SAWADOGO DUNI

- Docteur en Pharmacie de l'Université d'Abidjan,
- Biologiste des hôpitaux,
- Docteur en Biologie Cellulaire option Hématologie de l'Université de Navarre, Pampelune, Espagne,
- Professeur Titulaire en Hématologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,
- Chef du département de Biologie générale (Histologie-Cytologie-Cytogénétique) d'Hématologie et d'Immunologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,
- Chef de l'Unité d'hématologie du laboratoire central du CHU de Yopougon,
- Responsable de l'enseignement d'hématologie-biologie au DES de biologie.
- Membre de la Commission Nationale permanente de Biologie Médicale (CNPBM)
- Membre de plusieurs sociétés savantes :
 - Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI)
 - Société Ivoirienne d'Hématologie, Immunologie, Oncologie Transfusion Sanguine (SIHIO-TS)
 - Société Africaine Francophone d'Hématologie (SAFHEMA)
 - Société Française d'Hématologie (SFH)
 - European Hematology Association (EHA)
 - American Society of Hematology (ASH).
 - American Society of Hematology Oncology (SOHO)

Cher Maître,

Nous avons, tout au long de ce travail, apprécié votre passion du travail bien fait, votre générosité et votre disponibilité.

Veillez recevoir par ces quelques mots, cher Maître, nos sincères remerciements.

Que Dieu vous comble de ses bénédictions !

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Professeur DEMBELE BAMORY

- Maître de conférences Agrégé au département de Biologie Générale, Hématologie et Immunologie UFR SPB ;
- Docteur de l'Université de Paris XI, Option immunologie ;
- Titulaire d'un Diplôme d'Université en transfusion Sanguine de Paris VI ;
- Pharmacien Biologiste, chef du laboratoire du Centre National de Transfusion Sanguine de Côte d'Ivoire ;
- Ancien Interne des Hôpitaux ;
- Membre de la Société Ivoirienne d'Hématologie, Immunologie ; Oncologie et Transfusion (SIHIO-TS)
- Membre de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI).
- Membre de la société Américaine de microbiologie (ASM).

Cher Maître,

Votre disponibilité et votre simplicité forcent respect et admiration.

C'est donc un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury.

Soyez assuré de mon profond respect et ma reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur AMARI ANTOINE SERGE

- *Maître de Conférences Agrégé de Législation Pharmaceutique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan*
- *Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan*
- *Docteur en Droit Pharmaceutique de l'Université de Strasbourg (Thèse Unique, spécialité Droit Pharmaceutique)*
- *Titulaire du Master de Droit Communautaire et Règlementation Pharmaceutique (Université de Strasbourg)*
- *Titulaire de la Licence de Droit Privé à l'Université de Cocody*
- *Titulaire de la Maîtrise professionnalisée de santé publique à l'Université de Cocody*
- *Titulaire du Diplôme d'Etudes d'Etat Supérieures Spécialisées de contrôle de qualité des Médicaments, des aliments et des produits cosmétiques à l'Université de Cocody*
- *Sous-directeur de la Pharmacie et des laboratoires à la Direction de la Pharmacie, du Médicament et des Laboratoires de Côte d'Ivoire*
- *Secrétaire général du Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens de Côte d'Ivoire.*

Cher Maître,

C'est avec une grande joie que nous vous comptons parmi les membres de ce jury. Merci pour l'enseignement de qualité et tous les conseils dont nous avons bénéficiés. Nous avons toujours été impressionnés par votre gentillesse et votre simplicité.

Puisse Dieu vous garder et vous bénir !

SIGLES ET ABREVIATIONS

GR	: Globules Rouges
Hb	:Hémoglobines
Glu	:Glutamine
Val	:Valine
B	:Béta
A	:alpha
δ	:delta
γ	:gamma
GB	:Globules Blancs
PLQ	:Plaquettes
VGM	:Volume Globulaire Moyen
TCMH	:Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CCMH	:Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
MGG	: MAY-GRUNWALD GIEMSA
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
Fl	: Femtolitre
g/dl	:Gramme par décilitre
AA	:Acide Aminé
C max	:Concentration maximale (concentration à la limite de la solubilité)
mg/dl	:milligramme par décilitre
g/l	: gramme par litre
h	: heure
V	: volume
VO	: voie orale
m	: masse corporelle
E.D	: Eau Distillée
HCl	: Acide chlorhydrique
%	: pourcentage
CNFA	: Centre National de Floristique d'Abidjan
OMS	: Organisation Mondial de la Santé
mM	: millimole / l
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra-Acétique
mn	: minute

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont AS --	14
Tableau II : Statut hémoglobinique des enfants lorsqu'un parent est AS et l'autre SS -----	14
Tableau III : statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont SS-	14
Tableau IV : Position systématique de <i>C .cajan</i> d'après l'Angiosperm Phylogeny group (2003) et heywood (1996) -----	36
Tableau V : Composition en acides aminés de graines de <i>Cajanus cajan</i> -----	43
Tableau VI : Triphytochimique des Graines sèches -----	73
Tableau VII : Calcul du rendement -----	74
Tableau VIII : Répartition des patients selon l'âge -----	74
Tableau IX : Données de la numération globulaire -----	75
Tableau X : Données sur le lot contrôle -----	76
Tableau XI : Données sur l'activité de l'extrait acétate d'éthyle-----	77
Tableau XII : Données sur l'activité de l'extrait butanolique -----	78
Tableau XIII : Données sur l'activité de l'extrait aqueux-----	79
Tableau XIV : Données sur l'activité du totumsec aqueux-----	80
Tableau XV : Liste des patients -----	105
Tableau XVI : Pourcentage des différentes fractions de l'hémoglobine -----	106
Tableau XVII : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps après ajout de l'extrait acétate d'éthyle -----	107
Tableau XVIII : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps après ajout de l'extrait butanolique -----	108
Tableau XIX : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps (contrôle) -----	109

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Structure des chaines de globine selon Marieb et Katja-----	7
Figure 2 : Vue microscopique d'un globule rouge falciformé (A β /) et d'un globule rouge normal (B $^{\circ}$ /) selon Marieb et Katja -----	11
Figure 3 : Répartition géographique de la drépanocytose selonGentillini-----	13
Figure 4 : Physiopathologie de la drépanocytose selon Girot R -----	16
Figure 5 : Lésions cellulaires du globule rouge drépanocytaire selon Girot R -----	16
Figure 6 : Vaso-occlusion chez le drépanocytaire selon Frenette et Atweh -----	19
Figure 7 :Drepanocytes -----	24
Figure 8 : Position des principaux variants de l'hémoglobine en électrophorèse à pHacide selon Oliver -----	25
---	25
Figure 9 : Vue d'ensemble de Cajanus cajan -----	38
Figure 10 : Feuilles et fleurs de Cajanus cajan -----	39
Figure 11 : Gousse de Cajanus cajan -----	39
Figure 12 : Schéma de Cajanus cajan -----	40
Figure 13 : Structure de la phenylalanine-----	43
Figure 14 : Photo des graines fraiches de Cajanus cajan utilisées-----	47
Figure 15 : Photo de la chaine Helena optiscan -----	49
Figure 16 : Automate de numération type Cell Dyn Ruby-----	50
Figure 17 : Extraction par l'acétate d'éthyle -----	52
Figure 18 : Exemple de tanin -----	55
Figure 19 : Squelette flavonoïdique -----	57
Figure 20 : Exemple de noyaux quinoniques -----	58
Figure 21 : Unité terpénique élémentaire -----	60
Figure 22 : Classe des saponosides -----	61

Figure 23 : Alcaloïdes non hétérocyclique -----	62
Figure 24 : Exemple de coumarines -----	64
Figure 25 : Structure des mucilages -----	65
Figure 26 : Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, position des principaux variants selon Oliver -----	67
Figure 27 : Distribution des patients selon le sexe -----	75
Figure 28 : Récapitulatif de l'activité des différents extraits -----	81

SOMMAIRE

	Page
SIGLES ET ABREVIATIONS -----	XXVI
LISTE DES TABLEAUX -----	XXVII
LISTE DES FIGURES -----	XXVIII
<i>INTRODUCTION</i> -----	1
<i>Première partie : REVUE DE LA LITTERATURE</i> -----	4
CHAPITRE I : LE SANG -----	5
I-Définition du sang -----	6
II-Hémoglobine -----	7
CHAPITRE II : LA DREPANOCYTOSE -----	9
I- Définition -----	10
II- Historique -----	11
III-Epidémiologie -----	12
IV-Physiopathologie -----	14
V-Clinique -----	19
VI-Diagnostic Biologique -----	24
VII-Prise en charge de la drépanocytose -----	27
CHAPITRE III : MONOGRAPHIE DE LA PLANTE -----	35
I- Etude botanique -----	36
II- Utilisation traditionnelles -----	41
III-Travaux antérieurs-----	42
<i>Deuxième partie : ETUDE EXPERIMENTALE</i> -----	44
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES -----	45
I- Matériel -----	46
II- Méthodes -----	51
CHAPITRE II: RESULTATS ET COMMENTAIRES -----	72

I- Triphytochimique -----	73
II- Etude Hématologique -----	74
III- Evaluation de l'activité antifalcimiant des extraits -----	76
<i>DISCUSSION</i> -----	82
<i>RECOMMANDATIONS ET SUGGESTION</i> -----	90
<i>CONCLUSION</i> -----	88
<i>REFERENCES</i> -----	94
<i>ANNEXES</i> -----	104

INTRODUCTION

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie la plus répandue au monde et touche environ 3 à 3,6 % de la population. C'est une maladie génétique de l'hémoglobine (Hb) à transmission autosomique récessive caractérisée par sa grande fréquence [78]. La maladie résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène β de la globine situé sur le chromosome 11. Cela se traduit au niveau protéique par la substitution de l'acide glutamique (Glu) par la valine (Val). La mutation provoque la synthèse d'une Hb anormale, l'Hb S pour le terme anglais „sickle“ qui signifie faucille [47]. Cette mutation génétique observée dans la drépanocytose va induire deux phénomènes que sont d'une part la polymérisation et la gélification de l'Hb S et d'autre part la falciformation des hématies. Ceux-ci seront à l'origine d'une anémie hémolytique chronique et de phénomènes vaso-occlusifs.

La drépanocytose possède une distribution variable selon les continents. Cependant il existe une zone, la ceinture sicklémiq de Lehmann située entre le 15^{ème} parallèle de latitude nord et le 20^{ème} parallèle de latitude sud dans laquelle les fréquences sont les plus élevées et elles sont au moins supérieures à 10% [61]. La Côte d'Ivoire située dans cette zone a une prévalence de 14% [68].

La drépanocytose est une maladie chronique dont la prise en charge se fait toute la vie et vise à améliorer la qualité de vie du malade. Le traitement symptomatique conventionnel est essentiel et constitué d'une prise en charge médicamenteuse (antibiothérapie et vaccinations, antalgiques, anti-inflammatoire non stéroïdien, vasodilatateur, transfusion sanguine) associée à des conseils hygiéno-diététiques. Le seul traitement curatif est la greffe de cellules souches hématopoïétiques qui ne peut malheureusement pas se faire en Côte d'Ivoire.

Face aux problèmes socio-économiques et d'accessibilité aux produits pharmaceutiques en Afrique, 90% de la population a recours aux nombreux remèdes détenus par les tradipraticiens. Le Programme National de Promotion

de la Médecine Traditionnelle de Côte d'Ivoire a ainsi recensé 7000 tradipraticiens qui proposent environ 1500 plantes utilisées dans diverses pathologies et traitant de nombreux maux.

Comme pour beaucoup de maladies chroniques (diabète, hypertension artérielle), les patients, épuisés, se tournent vers la médecine traditionnelle, dont le recours est par ailleurs encouragé par l'OMS. Les drépanocytaires s'orientent vers la pharmacopée traditionnelle pour les raisons suivantes :

- il existe une promesse de guérison complète faite par les tradithérapeutes,
- les coûts du traitement conventionnel sont élevés.

Dans une étude antérieure, Lasme[49] a montré que l'extrait aqueux de graines de *Cajanuscajan* diminue de 50% le nombre de drépanocytes après un temps de contact de 30 minutes. Cet effet antifalcimiant est-il lié à un groupe chimique ? Serait-il retrouvé également dans les différents extraits acétate d'éthyle, butanolique et extrait aqueux ?

Nous nous sommes donc proposés comme objectif général de :

Evaluer l'activité antifalcimiante de 3 extraits de *Cajanus cajan* obtenus à partir de solvants de polarité croissante,

les objectifs spécifiques étant de :

- **Réaliser les différentes extractions,**
- **Identifier la composition de 3 extraits de polarité croissante**
- **Rechercher l'effet antifalcimiant de chacun de ces extraits**
- **Comparer l'activité des différents extraits entre eux.**

Première Partie :
REVUE DE LA LITTERATURE

CHAPITRE I : LE SANG

I. DEFINITION DU SANG

Le sang est un liquide dense, visqueux et opaque qui circule dans les vaisseaux à travers tout l'organisme. Sa densité est supérieure à celle de l'eau et il est environ cinq fois plus visqueux, surtout à cause de ses éléments figurés. Le sang constitue environ 8% de la masse corporelle. Chez l'adulte sain, son volume moyen est de 5 à 6 L chez l'homme et de 4 à 5 L chez la femme. Il a un goût salé, métallique et de couleur écarlate lorsqu'il est riche en oxygène mais rouge sombre lorsqu'il est pauvre en oxygène. Le pH du sang varie entre 7,35 et 7,45 : il est donc légèrement alcalin. Sa température un peu plus élevée que celle du corps (38°C) [51].

I-1 Composition et fonction du sang

Le sang est composé d'un liquide jaunâtre appelé plasma dans lequel baignent des millions de cellules, notamment les globules rouges, qui lui donnent sa couleur rouge (érythrocytes), des globules blancs (leucocytes) et des plaquettes (thrombocytes).

Il contient également des sels minéraux (Na^+ , k^+ , Ca^{2+} , Hco^{3+}), des protéines (albumine, globuline), des substances organiques (glucose, hormone, enzymes, lipides, acides aminés) et aussi des résidus (urée et créatine).

Le sang assume de nombreuses fonctions qui sont toutes liées de près ou de loin au transport de substances, à la régulation de certaines caractéristiques physiques du milieu interne et à la protection de l'organisme[51].

I-2 Globules rouges

Les globules rouges sont des cellules sanguines de loin plus nombreuses, en forme biconcave mesurant environ 7,5 μm de diamètre. Ils sont produits par la moelle osseuse avec une durée de vie moyenne de 120 jours puis dégradés et éliminés par la rate. Chez l'homme et chez la plus part des mammifères, les globules rouges sont dépourvus de noyau cellulaire, caractéristique qui les

rendrès bien adaptés au transport de l'oxygène. Cette fonction est possible grâce aux molécules d'hémoglobine qu'ils contiennent [51].

II- HEMOGLOBINE

II-1 Présentation et fonction

L'hémoglobine (Hb) est la protéine majoritaire des globules rouges de poids moléculaire de 64500 dalton. La molécule d'hémoglobine est faite de l'assemblage de 4 chaînes polypeptidiques formant une structure appelée tétramère.

Dans chaque tétramère de l'hémoglobine, on trouve deux chaînes alpha constituées de 141 acides aminés et deux chaînes beta constituées de 146 acides aminés et ces chaînes sont intimement liées.

Chaque sous unité d'hémoglobine est-elle même constituée d'une protéine appelée globine et d'une autre partie non protéique appelée l'hème. Cette dernière renferme un atome de fer ferreux (Fe^{++}) dont le rôle de fixation de l'oxygène est primordial ; l'oxygène est le ligand du fer (**figure 1**).

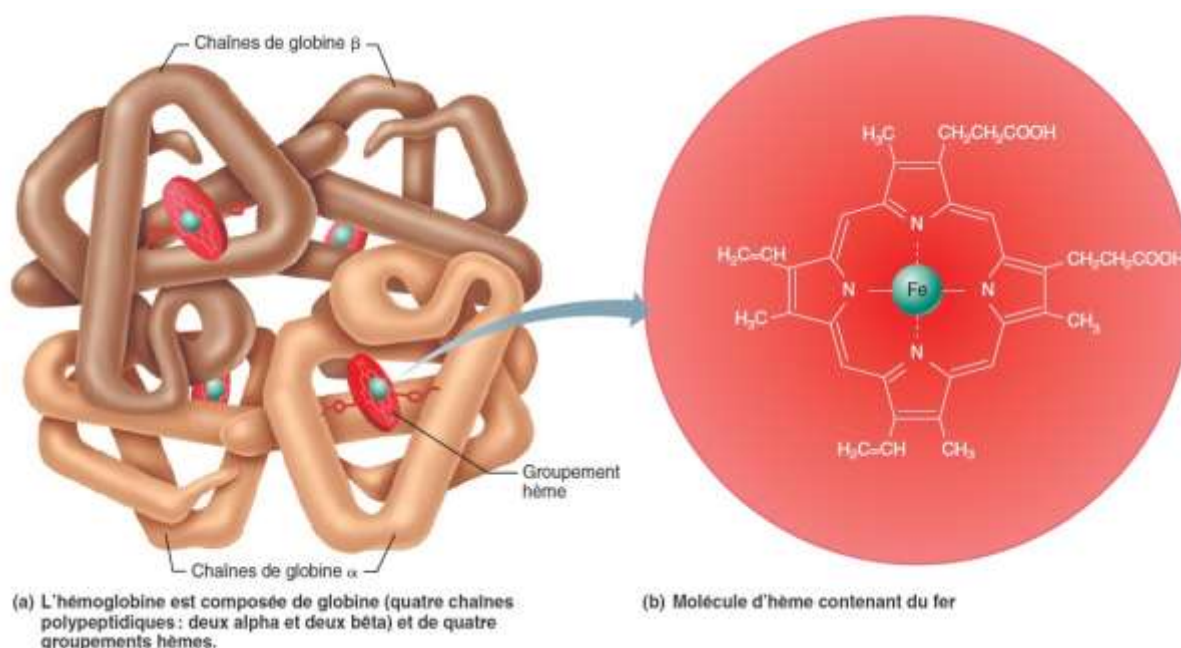


Figure 1 : Structure des chaînes de globine selon Marieb et Katja [51]

En tant que pigment principal du sang, l'hémoglobine est idéalement adaptée à la fixation, au transport et la délivrance de l'oxygène au niveau tissulaire.

Elle transporte l'oxygène des poumons aux tissus périphériques où elle prend en charge une partie du dioxyde de carbone pour la ramener aux poumons [69].

II-2 Hémoglobines normales

Il existe deux types d'hémoglobines.

II-2-1 Hémoglobine embryonnaire et fœtale

L'hémoglobine fœtale (HbF), détectable à partir de la cinquième semaine après la conception, est le constituant hémoglobinique principal de la vie. Cette hémoglobine est synthétisée au niveau du foie et de la rate dès le premier stade de la gestation. En outre, les embryons et le fœtus ont des hémoglobines différentes. Peu après la conception, des embryons synthétisent des chaînes γ_2 , et les chaînes α_2 , ils sont donc de la forme $\alpha_2\gamma_2$. Chez l'adulte, il existe à l'état de trace ; inférieur à un pour cent[69].

II-2-2 Hémoglobine adulte

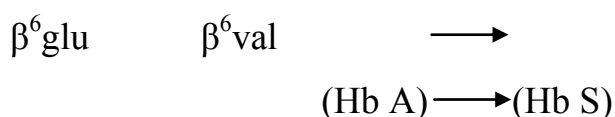
L'hémoglobine A représente plus de 95% de la totalité des hémoglobines. Il existe en outre un constituant mineur ; l'hémoglobine A₂ dont la synthèse débute dans la période néo-natale et qui est exprimé à un taux d'environ 2,5%. Les hémoglobines (HbA et HbA₂) sont synthétisées au niveau de la moelle osseuse. L'hémoglobine adulte est de type $\alpha_2\beta_2$ pour l'HbA et de type $\alpha_2\delta_2$ pour l'HbA₂ [69].

CHAPITRE II : LA DREPANOCYTOSE

I- DEFINITION

La drépanocytose est une maladie héréditaire du globule rouge (GR) à transmission autosomique récessive [70]. Elle est due à une anomalie qualitative de l'hémoglobine (Hb) caractérisée par une mutation ponctuelle sur le chromosome 11.

En effet, le triplet codant pour le sixième acide aminé (AA) de la chaîne (β) de la globine, a subi une mutation (~~GAG~~GTG). Cela se traduit au niveau protéique par la substitution de l'acide glutamique (Glu) par la valine (Val) [17].



L'Hb anormale qui en résulte est appelée Hb S pour le terme anglais "Sickle" qui signifie faucille [47]. Il existe cinq génotypes de cette pathologie. Ce sont :

- La drépanocytose homozygote : Hb SSFA₂
- La drépanocytose double hétérozygote : Hb SC
- La drépanocytose hétérozygote simple ou trait drépanocytaire Hb AS.
- La bêta thalasso drépanocytose avec deux formes:
 - * La $\beta\theta$ thalasso drépanocytose : Hb SFA₂
 - * La β^+ thalasso drépanocytose : HbSAFA₂

En pratique courante, il y a quatre formes majeures dont :

- deux formes majeures anémiques de type : SSFA₂ et SFA₂
- deux formes majeures non anémiques de type : SC et SAFA₂ et une forme asymptotique AS.

Les sujets porteurs de la forme majeure anémique SSFA₂ sont dits homozygotes (SS) et ceux porteurs de la forme asymptotique sont dits hétérozygotes (AS).

II-HISTORIQUE

La présence d'hématies en faucille ou drépanocytes ou encore hématies falciformes a été signalée pour la première fois à Chicago chez un Noir américain en 1910 par James Herrick [42].

En 1917, Emmel[32] découvre la falciformation *in vitro* des sujets drépanocytaires (**Figure 2**) mais aussi des sujets cliniquement sains et conclut à l'existence de deux formes de la maladie, inaugurant ainsi son histoire génétique.



Figure 2: Vue microscopique d'un globule rouge falciformé (A°) et d'un globule rouge normal (B°) selon Marieb et Katja [51]

En 1927, Hahn et Gillespie[41] montrent que la déformation en faucilles des hématies est en rapport avec la désoxygénation de l'hémoglobine.

En 1933, Diggs et Coll[24] précisent la notion de deux états cliniques différents : celui des malades (état grave et anémique) et celui de leurs parents (le plus souvent asymptotique).

En 1947, Neel[56] puis en 1949, Beet[12] traduisent ces manifestations cliniques comme étant les formes homozygotes et hétérozygotes d'une même anomalie transmise selon les lois mendéliennes.

Jusqu'en 1949, les études sur la drépanocytose portent principalement sur la falciformation *in vitro*. Les résultats sont souvent difficilement interprétables en raison de l'interaction avec d'autres anomalies de l'Hb.

En 1949, Pauling L et coll. découvrent l'anomalie de la migration électrophorétique de l'Hb S [64].

Et c'est en 1959 qu'Ingram a identifié la substitution de l'acide aminé: la glutamine par la valine sur la chaîne β [44].

La drépanocytose fut ainsi le premier exemple démontré de la maladie héréditaire.

III- EPIDEMIOLOGIE

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie la plus répandue au monde, avec des millions de drépanocytaires dans plusieurs pays. Affection ubiquitaire, la drépanocytose constitue un problème de santé publique [22].

III-1 Répartition géographique et fréquence

La drépanocytose est une maladie extrêmement répandue, surtout en Afrique Noire Sub-Saharienne [61]. C'est dans certaines régions d'Afrique que sa prévalence est la plus élevée mais la drépanocytose se retrouve aussi chez des populations originaires d'Afrique équatoriale, du bassin de la Méditerranée et d'Arabie saoudite. En Afrique les taux de prévalence les plus élevés sont enregistrés dans une zone située entre le 15^{ème} parallèle de latitude nord et le 20^{ème} parallèle de latitude sud. Cette zone est appelée « ceinture Sickleémique de Lehmann ». Ces taux sont plus faibles et se situent entre 1 et 2 % en Afrique du nord et en dessous de 1 % en Afrique Australe [15,61].

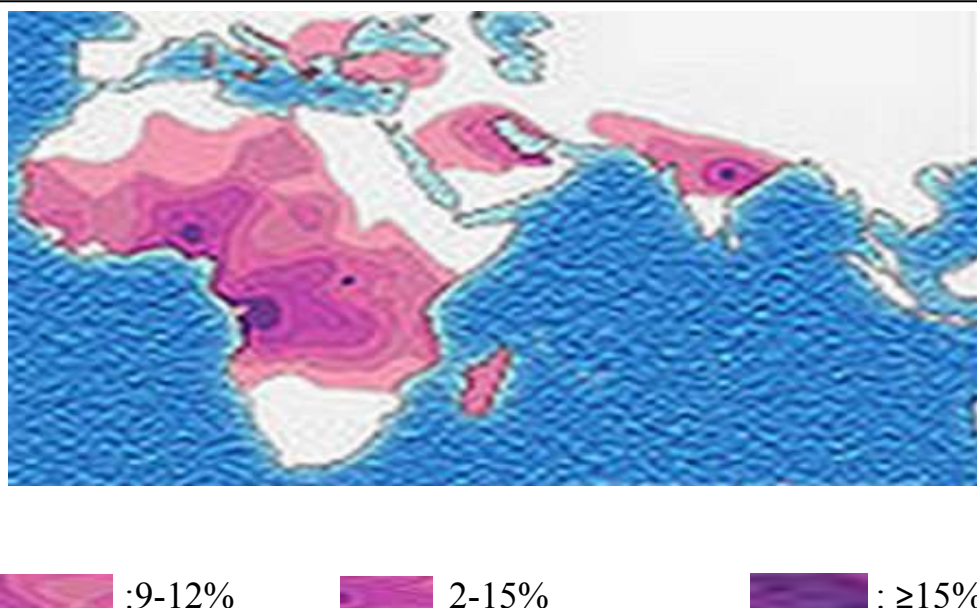


Figure 3: Répartition géographique de la drépanocytose selon Gentillini[37]

En Côte d'Ivoire, de nombreux travaux réalisés par Cabannes et Collont permis de noter une fréquence de 12% de la population porteuse d'HbS, avec 2 % de formes majeures. La fréquence est variable d'une région à une autre. L'affection est très fréquente au nord-est de la Côte d'Ivoire chez les Koulango avec 20% de la population et au nord chez les Malinké avec 15,2% et 8,8 % chez les Kwa au sud de la Côte d'Ivoire. Elle est presque inexistante chez les Gagou à l'ouest de la Côte d'Ivoire avec 0,8%[20].

III-2 Mode de transmission

La drépanocytose est une affection héréditaire qui se transmet essentiellement selon le mode autosomal récessif. Les deux sexes sont atteints. Le coefficient de risque majeur est fonction des génotypes parentaux. Les tableaux suivants (I, II et III) présentent le statut hémoglobinique des enfants en fonction des phénotypes parentaux[14].

Tableau I : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont AS

PHENOTYPE DES PARENTS	A	S
A	AA	AS
S	AS	SS

Le coefficient de risque est de 25% dans ce cas [70].

Tableau II : Statut hémoglobinique des enfants lorsqu'un parent est AS et l'autre SS.

PHENOTYPE DES PARENTS	A	S
S	AS	SS
S	AS	SS

Le coefficient de risque est de 50 % [70].

Tableau III : Statut hémoglobinique des enfants lorsque les deux parents sont SS.

PHENOTYPE DES PARENTS	S	S
S	SS	SS
S	SS	SS

Le coefficient de risque est de 100 % [70].

IV- PHYSIOPATHOLOGIE

IV-1 Niveau moléculaire

Comme nous l'avons vu précédemment, la formation d'Hb S est due à une mutation au niveau du 6^e codon du gène de la β globine induisant la substitution d'un acide glutamique (Glu) par une valine (Val) au niveau de la chaîne protéique.

Cette anomalie structurale, lorsque l'Hb est sous forme désoxy c'est-à dire lorsque la tension en oxygène est basse, entraîne la polymérisation, la rigidification (donc diminution de la déformabilité) et la diminution de solubilité de l'Hb S, ce qui explique les deux signes majeurs de la maladie : l'anémie et l'obstruction de la microcirculation.

Cette polymérisation est réversible un certain temps. Après plusieurs cycles de désoxygénation et de réoxygénation, les cellules restent définitivement déformées et deviennent des drépanocytes irréversibles.

La polymérisation de l'Hb S résulte de la formation d'une liaison hydrophobe entre le groupe isopropyl de la valine de la chaîne β de la désoxyhémoglobine et une cavité formée par les chaînes de la phénylalanine (noyau benzénique) et de la leucine (groupe isopropyl) d'une autre molécule de désoxyhémoglobine Hb S.

Cette polymérisation peut être modulée par différents facteurs :

- la saturation en oxygène,
- la composition de l'Hb. En effet l'Hb F s'incorpore dans le polymère et bloque sa croissance. Plus la concentration corpusculaire moyenne en Hb est élevée plus le temps de polymérisation en cas de désoxygénation est diminué. Cela favorise la falciformation(**figure 4**),
- la teneur en 2,3-diphosphoglycérate : il diminue l'affinité de l'Hb pour l'oxygène et favorise sa conformation désoxy et donc la polymérisation de l'Hb.
- le pH et la température : la polymérisation augmente en milieu acide et lorsque la température augmente [**26, 28**].

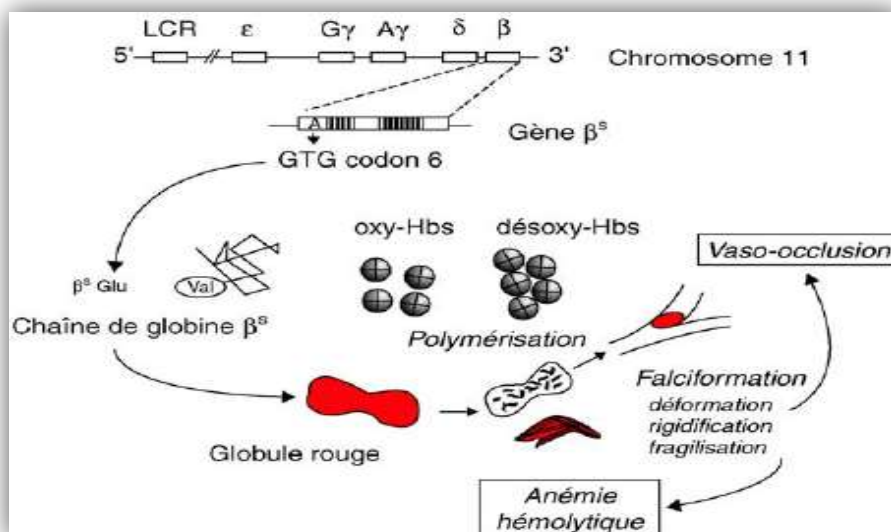


Figure 4: physiopathologie de la drépanocytose selon Girot [40]

IV-2 Niveau cellulaire

Au niveau cellulaire, la polymérisation de l'Hb S induit toute une série de modifications dans l'hématie.

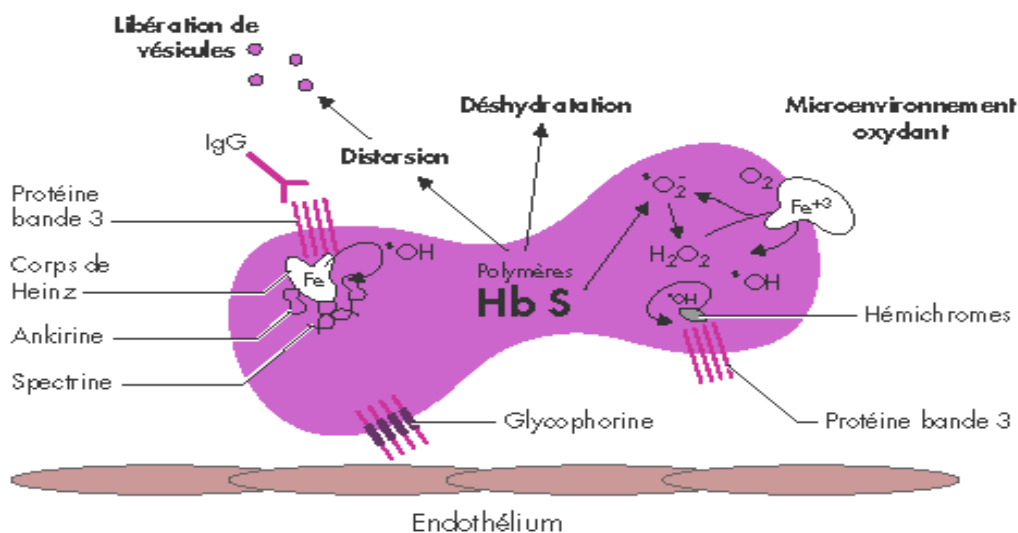


Figure 5 : Lésions cellulaires du globule rouge drépanocytaire selon Girot [40]

IV-2-1 Déshydratation des hématies

La polymérisation de l'Hb S modifie la perméabilité de la membrane des globules rouges aux cations (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}).

La polymérisation, augmentant la perméabilité de la membrane du globule rouge, favorise l'entrée de Ca^{2+} dans la cellule, ce qui active les canaux calciques qui rejettent le K^+ hors de la cellule. Pour maintenir l'équilibre osmotique et hydrique, l'eau et les Cl^- fuient dans le milieu extracellulaire. L'excès de Ca^{2+} intracellulaire s'accumule dans des vésicules d'endocytose ce qui empêche sa détection par les pompes à ATP chargées de son évacuation.

En plus, dans les globules rouges déshydratés la perméabilité au Mg^{2+} est augmentée. Sa concentration intra érythrocytaire diminue fortement ce qui entraîne une augmentation de l'activation du co-transporteur K^+ et Cl^- responsable d'une fuite encore plus importante de K^+ et Cl^- .

La perturbation de ces échanges ioniques entraîne une déshydratation des hématies [40].

IV-2-2 Oxydation de l'hémoglobine

Le globule rouge est constamment soumis à des agents oxydants menaçant l'intégrité de la membrane et de l'Hb. L'Hb S est très sensible à l'oxydation ce qui entraîne la formation de méthémoglobine puis d'hémichromes qui forment des complexes avec les protéines membranaires, notamment la bande 3 des globules rouges. Ce processus s'accompagne d'une perte d'hème, de la libération de fer Fe^{3+} qui s'associe avec la membrane cellulaire et favorise à son tour les phénomènes d'oxydation et le dépôt des hémichromes dans la membrane.

Tous ces phénomènes modifient la concentration intra-érythrocytaire de l'Hb ce qui contribue à amorcer la polymérisation et à déclencher une éventuelle crise vaso-occlusive. La glucose-6-phosphate déshydrogénase permet la synthèse du NADPH dans le globule rouge et participe ainsi à la protection contre

l'oxydation de ce dernier. Cela semble avoir un rôle à jouer dans la drépanocytose. En fait, le déficit a un effet protecteur chez les drépanocytaires puisque l'absence d'activité enzymatique contribue à la disparition prématurée des globules rouges et engendre la mise en circulation d'une nouvelle génération de cellules jeunes [25, 26,40].

IV-2-3 Altération de la membrane érythrocytaire

En l'absence d'oxygène, l'Hb S est instable, précipite et forme des corps de Heinz. Les protéines du cytosquelette, les protéines transmembranaires ainsi que la bicouche phospholipidique subissent des altérations. Il y a notamment une perte d'asymétrie des lipides membranaires avec une exposition anormale des phosphatidyl sérines entraînant des interactions du globule rouge avec son environnement plasmatique et cellulaire. La surface des globules rouges ainsi modifiée est propice à la fixation d'immunoglobuline favorisant leur destruction par les macrophages [40].

IV-3 Niveau vasculaire

La drépanocytose est une maladie au cours de laquelle il existe une tendance à l'hyperviscosité et à la stase sanguine.

Le réticulocyte qui a été libéré prématurément dans la circulation sanguine du fait d'une érythropoïèse accrue a tendance à adhérer à l'endothélium vasculaire dans la microcirculation surtout dans un contexte inflammatoire comme c'est le cas dans les crises de drépanocytose. C'est le facteur essentiel du ralentissement de la vitesse sanguine laissant le temps au globule rouge de se polymériser, prendre une forme de faucille et à terme finir par obstruer complètement le vaisseau.

Les globules rouges vieillissants (ayant subi des réactions d'oxydation et de déshydratation) ainsi que les drépanocytes irréversibles adhèrent également à l'endothélium et amplifient le phénomène précédent (**figure 6**).

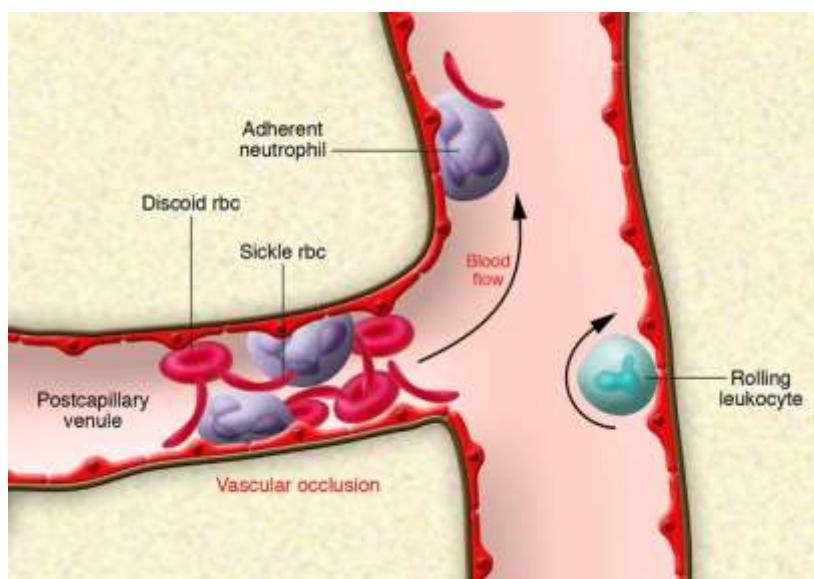


Figure 6: Vaso-occlusion chez le drépanocytaire selon Frenette et Atweh[35].

L'activation des plaquettes et l'augmentation du taux de fibrinogène au cours des crises vaso-occlusives participent également à l'hyperviscosité sanguine.

La drépanocytose est donc une maladie où prédominent les accidents thromboemboliques [40].

V- CLINIQUE

Il existe plusieurs formes cliniques de la drépanocytose. Nous prendrons comme modèle de description de la forme sévère, la drépanocytose homozygote SSFA₂ puis la forme asymptomatique, le trait drépanocytaire ou forme hétérozygote AS.

V-1 La drépanocytose homozygote SSFA₂

C'est autour du sixième mois, après la naissance, que débent les signes cliniques en raison de la persistance de l'Hb F.

Ces signes peuvent être regroupés en deux phases, la phase inter critique permanente et la crise aiguë (vaso-occlusive) épisodique [37].

V-1-1 Phase inter critique

Elle correspond à un tableau d'anémie hémolytique chronique avec la triade de chauffard constituée par une anémie, un ictère et une splénomégalie.

Le malade présente aussi une asthénie et une dyspnée d'effort. Il peut y avoir une éventuelle hépatomégalie liée à l'intense activité érythrophagocytaire.

V-1-2 Crises drépanocytaires

Ce sont des crises douloureuses qui émaillent la vie du drépanocytaire. Elles sont la conséquence de l'occlusion des petits vaisseaux par les agglutinats de drépanocytes.

Les crises remontent à l'enfance autour de six mois. La douleur dure d'un à plusieurs jours avec une moyenne de 6 jours. Qu'elle soit traitée ou non, la douleur disparaît au bout de 10 jours [39].

Le malade est dans une période d'accalmie relative qui sera interrompue au bout d'un temps variable par une nouvelle crise. Cette répétition de la douleur est caractéristique de la drépanocytose.

Le siège de la douleur : il varie selon l'âge. Chez le nourrisson, la douleur intéresse les extrémités des membres : c'est "le syndrome pied main". Les pieds et les mains sont déformés symétriquement par des tuméfactions inflammatoires chaudes, douloureuses. Chez le petit enfant, il s'agit surtout des douleurs abdominales [13]. Par contre chez le grand enfant et l'adulte, ce sont des douleurs ostéo-articulaires localisées aux membres, au rachis, au thorax ou au bassin [13, 37].

V-1-3-Evolution

L'évolution est émaillée de multiples complications qui peuvent être classées en trois groupes : anémiques, ischémiques et infectieuses.

V-1-3-1-Complications anémiques

Les complications aiguës sont de deux types :

Les crises de séquestrations qui sont des manifestations rares mais typiques de la maladie. Elles sont caractérisées par une aggravation brutale de l'anémie avec le taux d'hémoglobine parfois inférieur à 4g/dl accompagnée d'une volumineuse hépato-splénomégalie en quelques heures. Ces crises sont pratiquement fréquentes chez le nourrisson. Elles sont parfois déclenchées par une infection intercurrente.

Les crises érythroblastopéniques correspondent à une aplasie médullaire aiguë dont l'évolution peut être fatale ou progressivement favorable. L'absence d'érythroblastose et le taux très faible des réticulocytes évoquent le diagnostic[13]. Il y a trois types de complications chroniques à savoir :

- Le cœur anémique : Il s'agit d'un cœur hypertrophié tachycardique avec un souffle systolique à l'auscultation ; il résulte de l'adaptation du système circulatoire à la diminution de la capacité de transport de l'oxygène.
- La lithiase pigmentaire [26] : l'hyper hémolyse chronique en est responsable. Elle reste longtemps asymptomatique mais source potentielle de colique hépatique, de cholestase.
- Les ulcères de jambes [13] : ils sont fréquents et récidivants chez l'adulte.

V-1-3-2-Complications ischémiques ou complications par occlusion

Ces complications concernent :

- l'œil : il peut avoir un décollement de la rétine, des hémorragies rétiniennes et une cécité [23] ;
- les os : il s'agit de nécroses osseuses et aseptiques appelées ostéonécroses aseptiques qui siègent préférentiellement dans les régions mal irriguées telles que les têtes fémorales et humérales [13]. Elles se manifestent par : la

persistance de la douleur et une boiterie, une incapacité fonctionnelle totale des membres notamment des membres inférieurs concernés le plus souvent et rarement les membres supérieurs) ;

- l'appareil génital : un priapisme peut être observé [27]. Il s'agit d'une occlusion des corps caverneux qui provoque une érection spontanée, persistante et douloureuse, sans lien avec l'activité sexuelle. Le risque est la possibilité d'avoir une impuissance secondaire ;
 - les reins : l'atteinte rénale est caractérisée par une hypothénurie et des hématuries [28] ;
 - la rate : l'asplénie fonctionnelle ou exclusion fonctionnelle de la rate est liée à la survenue d'infarctus, de nécroses rejetées au niveau de la rate. Ces rejets aboutissent à une destruction du parenchyme splénique et par conséquent à une diminution voire une disparition de celle-ci. Elle se manifeste par la disparition progressive de la splénomégalie[76].

V-1-3-3-Complications infectieuses

Elles sont fréquentes au cours de la drépanocytose en raison de la baisse de l'immunité consécutive à l'asplénie fonctionnelle. Elles atteignent divers organes et sont le plus souvent d'origine bactérienne (*Haemophilus influenzae*, pneumocoque, salmonelle, méningocoque) et aussi virale (hépatite B), virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

- Les principales infections rencontrées sont :
 - les septicémies à pneumocoques surtout, puis à entérocoques et à colibacilles,
 - les ostéomyélites le plus souvent dues aux salmonelles,
 - les méningites à pneumocoques,
 - les infections pulmonaires qui représentent la première cause d'hospitalisation chez le drépanocytaire,

- les infections urinaires souvent bactériennes qui constituent l'une des causes essentielles de morbidité et de mortalité de la maladie drépanocytaire [13].

V-2-Trait drépanocytaire ou forme hétérozygote AS

Cette forme a été décrite comme asymptomatique [19]. En général, les malades ont une espérance de vie normale. Les crises sont rares et déclenchées le plus souvent par une hypoxie. Diverses manifestations cliniques sont observées chez les patients du trait drépanocytaire.

- Les altérations cycliques de l'état général

Il ne s'agit pas de crise véritable mais d'épisodes cycliques marqués par une asthénie sévère, une fatigabilité et des courbatures. Cet état symptomatique a reçu le nom de patraquerie drépanocytaire (de patraque qui veut dire fatigue) [10].

- La rétinopathie

La rétinopathie drépanocytaire est une rétinopathie ischémique fréquente dans les formes drépanocytaires majeures SS et SC. Elle a aussi été décrite chez les sujets porteurs du trait drépanocytaires [34, 54].

- Les manifestations rénales

La drépanocytose hétérozygote dans 3 à 4 % des cas peut être aussi responsable de manifestations rénales habituellement limitées à une hématurie macroscopique et à un degré variable des troubles de la concentration des urines [28].

- Les infections

Kaplan affirme que les enfants porteurs du trait drépanocytaire sont protégés contre le paludisme grave, étant plus sensibles que les enfants normaux à des infections très sévères, notamment pulmonaires [46]. Reynaud a rapporté un cas d'ostéomyélite chez un enfant de 7 ans qu'il a attribué au trait drépanocytaire [67].

VI- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Il repose sur des examens d'orientation et de certitude.

VI- 1 Diagnostic biologique d'orientation

- Hémogramme

L'hémogramme est une étude quantitative et qualitative. L'étude quantitative comprend : la numération des globules blancs (GB), des globules rouges (GR) et des plaquettes (PQ), le dosage du taux d'Hb, le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

- Drépanocytose homozygote SSFA₂

L'observation de l'hémogramme montre une anémie sévère, anémie toujours normochromenormocytaire régénérative.

Sur le frottis du sang périphérique coloré au May Grunwald Giemsa, on note de nombreuses anomalies des GR telles que : une anisocytose (anomalie de la taille), une poïkilocytose (anomalie de la forme), avec la présence de drépanocytes permettant la mise en évidence d'une érythroblastose (érythroblaste acidophile).

- Trait drépanocytaire ou forme hétérozygote(**figure 7**) :

L'hémogramme est normal.

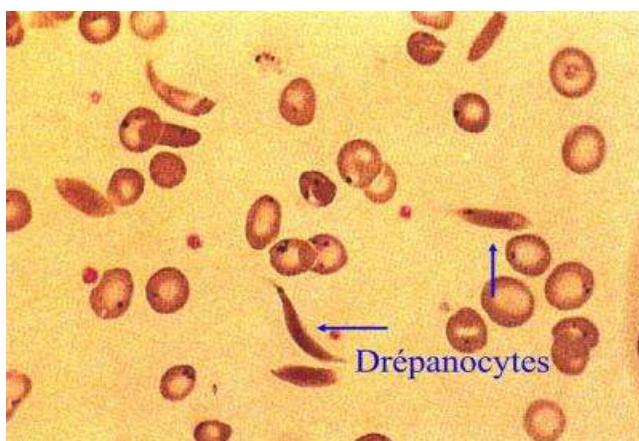


Figure7 : Drépanocytes ([URL:https://sensiseed.com](https://sensiseed.com))

VI-2 Diagnostic biologique de certitude

VI-2-1- Electrophorèse de l'hémoglobine

- Mode opératoire de l'électrophorèse à pH acide

Elle se fait sur une plaque d'acétate de cellulose imprégnée de citrate agar à pH 6-6,2. La migration se fait à 100 volts pendant 2 heures.

Cette technique permet de différencier l'Hb S des autres Hb migrant au même niveau à pH alcalin (c'est-à-dire elle permet de séparer les variants qui ont la même mobilité que l'Hb S à pH alcalin) les Hb D, Lepore. Elle permet aussi de différencier l'Hb C de Hb O arabe, O Tchad, C Ziguinchor [45]. **(Figure 8)**

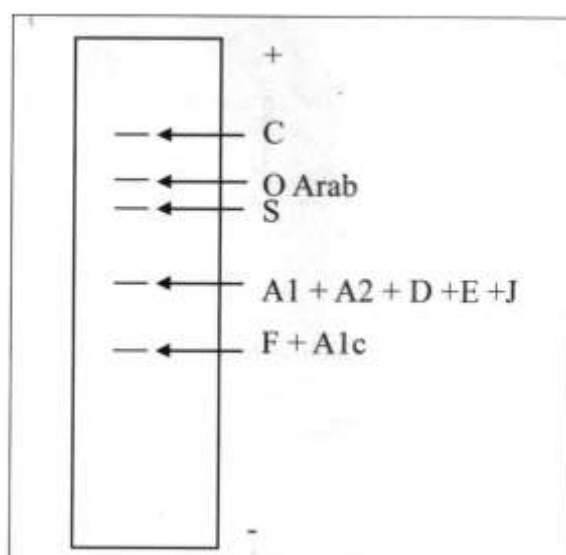


Figure 8: Position des principaux variants de l'hémoglobine en électrophorèse à pH acide selon Oliver [58].

➤ **Interprétation**

Pour donner le profil électrophorétique d'un individu, il faut tenir compte des pourcentages de l'Hb [59]. Ainsi donc :

- Forme homozygote SSFA₂
Hb S =75-99%
Hb F =2-20%
Hb A₂=2-3%

VI-2-2-Isoélectrofocalisation

Cette méthode d'électrophorèse mise au point par KOEPKE en 1975 permet la séparation des différentes fractions d'Hb en fonction de leur point isoélectrique dans un gradient de pH [33]. Dans ce système de gradient, la protéine arrête de migrer quand elle arrive à son point isoélectrique (pHi) où sa charge nette est nulle. L'isoélectrofocalisation sur gel d'agarose contenant des ampholytes (pH 6 à 9) permet une bonne séparation des fractions avec une différence de pHi de l'ordre de 0,1: séparation entre l'HbA et l'HbF et entre l'HbF et l'HbS[45].Après la focalisation, le dosage des fractions s'effectue sans coloration [48]. Cette méthode a le meilleur pouvoir de résolution et offre une meilleure séparation des différentes Hb (normales ou pathologiques). Malheureusement cette technique de pointe n'est pas souvent disponible dans les pays en développement [33].

VI-2-3- Electrophorèse capillaire

Il s'agit d'un système automatisé qui permet la séparation des hémoglobines normales (A, F et A2), la détection des principales hémoglobines anormales (notamment S, C, E et D) et la quantification des fractions d'hémoglobines [45,74].

VI-2-4-Chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP)

Technique de prélèvement: Le prélèvement du sang foetal (possible à partir de la 18^{ème} semaine) est réalisé grâce à une fœtoscopie guidée par échographie. On ponctionne alors une veine à proximité de l'insertion du cordon. Cet acte requiert une bonne technicité et une grande compétence obstétricale car il présente des risques énormes pour le fœtus. En cas d'insertion dystocique du placenta, on peut réaliser une placentocentèse et effectuer des aspirations répétées qui vont ramener un mélange de sang foetal et maternel. Des techniques

appropriées, basées sur le VGM élevé des hématies fœtales ou sur la concentration élevée des hématies maternelles en anhydrasecarbonique permettent de purifier le sang fœtal [31, 48].

Le prélèvement est injecté dans une colonne de chromatographie remplie par une phase d'échange d'ions (les billes de silice recouvertes par des groupements acides). L'élution est réalisée par un gradient de pH ou par la force ionique. Les protéines sont éluées selon leurs charges de telle façon que les protéines les plus chargées négativement sont éluées en premier [33].

Cette technique permet le dosage des différentes fractions de l'Hb et l'identification d'un nombre important d'Hémoglobines anormales. Elle permet en particulier le dosage d'HbA₂ et d'HbF, très utile dans l'interprétation des profils d'Hb pour le diagnostic néonatal de la drépanocytose [33,45].

VII- PRISE EN CHARGE DE LA DREPANOCYTOSE

Sur le plan thérapeutique, la prise en charge doit être précoce, régulière et se faire aussi bien en phase critique qu'en phase inter critique. C'est une prise en charge à vie.

Actuellement, il n'existe pas de traitement spécifique de la drépanocytose. Une part importante de la prise en charge des patients repose sur la mise en place de mesures préventives à l'égard des infections, des crises drépanocytaires et des complications de la maladie.

Une fois le diagnostic établi, le drépanocytaire doit être pris en charge en milieu spécialisé afin de lui assurer une existence longue et de qualité.

La conduite à tenir est fonction de l'âge du malade.

Chez l'enfant, il s'agit tout particulièrement de la prévention et du traitement des complications liées aux infections et à l'anémie aiguë. Chez les grands

enfants et les adultes, les problèmes essentiels sont la prévention et la prise en charge des crises vaso-occlusives et des atteintes tissulaires dégénératives [21].

Comme dans toutes les maladies chroniques graves, le médecin doit établir une bonne relation avec le patient et sa famille surtout lorsqu'il s'agit d'un enfant [21].

En ce qui concerne la conduite à tenir, le schéma appliqué au CHU de Yopougon, centre de référence dans la prise en charge du drépanocytaire en Côte d'Ivoire est le suivant :

VII-1-Conduite à tenir en phase inter critique

La prise en charge se fait dès 6 mois pour les formes anémiques (SSFA₂ et SFA₂) et à partir de 5 ans pour les formes non anémiques (SC et SAFA₂). La découverte de la maladie est suivie d'un bilan initial et de conseils.

VII-1-2-1 Bilan initial

Il comprend :

- Un examen clinique complet et une enquête familiale
- Des examens paracliniques :
 - Hémogramme,
 - Groupage sanguin (phénotypage),
 - Dosage du glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD),
 - Dosage de la bilirubine,
 - Bilan rénal (créatinine, protéinurie),
 - Radiographie des poumons et du bassin,
 - Examens ophtalmologiques : acuité visuelle, fond d'œil (FO) et angiographie rétinienne,
 - Epreuve fonctionnelle respiratoire (EFR)
 - Electrocardiogramme (ECG).

VII-1-2-2 Mesures préventives initiales :

- Conseiller une hygiène de vie correcte (régime alimentaire équilibré riche en folates, pas de sports de haut niveau, etc.)
- Expliquer l'importance de la vaccination : Tous les vaccins du programme élargi de vaccination auxquels on associe :
 - Un anti-pneumococcique (PNEUMO 23 ®) dès 18 mois ;
 - Un anti-hémophilus B (ACT-HIB®) dès 2 mois ;
 - Un anti-typhoïdique (TYPHIM VI ®) dès 2 ans ;
 - Un anti-méningococcique (MENINGO A+C®) dès 2 ans ;
 - Un anti hépatique B (GENHEVAC B*, ENGERIX B®) dès la naissance.

VII-1-2-3 Traitement préventif

- Prévention de l'anémie grave : notamment dans les formes SSFA₂ et SFA₂ par :
 - La prescription d'acide folique (SPECIAFOLDINE ® ou ACFOL®) 1 à 4 comprimés/jour selon l'âge pendant 20 jours /mois ;
 - Le conseil diététique : aliments riches en folates (jaune d'œuf, salades, abats)
- Prévention de la falciformation : avec les antifalcimians tels que les vasodilatateurs (TANAKAN®, TORENTAL®, PRAXILENE® : 1 à 2 comprimé/ jour ;
- Prévention des crises aiguës et des complications : informer le malade et son entourage sur les affections et les mesures préventives dans le but de le soustraire des facteurs déclenchant de la crise : froid, fièvre, effort physique intense et prolongé, déshydratation, haute altitude, certains médicaments (diurétiques, vasoconstricteurs, anesthésiques généraux...) ;
- Conduite ultérieure : il s'agit essentiellement de la surveillance médicale

- Le rythme des visites médicales systématiques :
 - Tous les mois pour les formes anémiques ;
 - Tous les 3 mois pour les formes non anémiques ; sauf en cas de crises et/ou de complications ;
- Le bilan de contrôle :
 - A chaque visite : examen clinique et hémogramme ;
 - Tous les 6 mois : radiographie du bassin, examens ophtalmologiques : acuité visuelle (AV), fond d'œil (FO), angiographie rétinienne ;
 - Le bilan rénal.

Le reste du bilan est fonction de l'évolution de la maladie.

VII-2 Conduite à tenir en phase critique

L'expérience du service est la suivante : le traitement d'une crise doit être précédé d'un examen clinique minutieux.

VII-2-1 Examen minutieux

Il faut :

- rechercher le (s) facteur (s) déclenchant (s) ;
- apprécier le degré et le retentissement de l'anémie :

Sur le plan clinique, apprécier d'une part l'intensité de la pâleur des conjonctives et d'autre part, les retentissements cardiovasculaire et neurologique ;

Sur le plan biologique, un hémogramme en urgence permet d'apprécier le taux d'hémoglobine ;

- apprécier le degré d'hémolyse :

Les stigmates cliniques de l'hémolyse doivent être recherchés (anémie, ictère, splénomégalie appelés triade de Chauffard) ;

Sur le plan biologique, faire le dosage de la bilirubine :

L'augmentation de la bilirubine libre est le critère majeur de l'hémolyse ;
L'augmentation associée de la bilirubinémie conjuguée (possible au cours d'une crise drépanocytaire) devra faire rechercher soit une hépatite virale par le dosage des transaminases puis des marqueurs, soit un obstacle au niveau des voies biliaires.

VII-2-2 Conduite thérapeutique

Le traitement se fera en quatre étapes simultanément.

➤ 1^{ère} étape : discuter de l'opportunité de la transfusion sanguine :

- Transfuser systématiquement lorsque le taux d'Hb < 6g/dl ;
- Entre 6 et 7 g/dl, transfuser s'il existe des signes d'intolérance de l'anémie ;
- Pour les taux >7 g/dl, devant un syndrome hémolytique intense ou devant un facteur aggravant de l'hémolyse, une surveillance régulière s'impose dans le temps, pour apprécier la dynamique du phénomène hémolytique et prendre la décision transfusionnelle au moment opportun.

La transfusion exige ici du culot globulaire iso-groupe, iso-rhésus, de préférence phénotypé, déleucocyté et déplaqueté pour éviter les phénomènes d'allo-immunisation.

La quantité « Q » de sang transfusé est calculée comme suit :

$$Q = 3 \times \Delta Hb \times Poids \text{ (kg)}$$

(Avec ΔHb = taux d'Hb souhaité – taux d'Hb du malade)

Poids (kg) = poids du malade

➤ 2^{ème} étape : supprimer le(s) facteur(s) déclenchant(s)

L'une des raisons de l'échec du traitement est la négligence du facteur déclenchant dont la persistance entretient la falciformation érythrocytaire et la crise aiguë. Ainsi :

- Traiter correctement la fièvre : antipalustre en cas de paludisme (Quinimax ®), antipyrétique (Perfalgan®) ;

- Corriger la déshydratation (mise en place d'une perfusion IV) ;
 - Soustraire le malade du refroidissement ;
 - Supprimer l'agitation qui entretient un certain degré d'acidose favorable au maintien de la falciformation par du Diazepam.
- 3^{ème} étape : traiter la douleur par l'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et / ou d'analgésiques morphiniques mineurs (Tramadol dans Trabar ®)

Exemples : Kétoprofène dans PROFENID[®] 100 mg injectable ou
DICLOFENAC[®] 75 mg injectable

NB : en cas d'échec des AINS, on utilise la Buprénorphine dans TEMGESIC[®]

- 4^{ème} étape : rétablir les propriétés rhéologiques normales des globules rouges par l'administration de vasodilatateurs en perfusion.

Exemple : Pentoxifylline dans TORENTAL[®] 100 mg injectable.

Le traitement de la crise se fait en 3 jours en hospitalisation ou en ambulatoire.

VII-3 Conversation entre médecin et malade

La prise en charge d'un patient drépanocytaire nécessite une coopération entre médecin et malade. Entretenir de bonnes relations est une nécessité absolue, pour faire accepter au malade toutes les contraintes médicales inhérentes à son état.

En effet, au cours de l'évolution, un bilan peut révéler une atteinte dégénérative débutante asymptomatique dont le patient peut ne pas apprécier la nécessité d'une surveillance accrue et le besoin immédiat d'un traitement prolongé, parfois à vie. Dans ce cas, il doit pouvoir bénéficier des conseils de son médecin. Par ailleurs, un malade peut apporter des renseignements très utiles à son médecin, notamment sur son mode de vie, son environnement, ses crises (circonstances d'apparition, caractéristiques, antalgiques efficaces), etc.

La confiance du patient peut en elle-même jouer un rôle sécurisant irremplaçable dans un contexte où la vie sociale, scolaire et familiale est souvent perturbée. Après quelques consultations bien menées, le malade doit être capable de se prendre en charge, notamment sur le plan préventif, et surtout savoir déterminer ses propres limites fonctionnelles (capacité à l'effort, etc.)

Une information de bonne qualité est la base d'une coopération fructueuse. Le drépanocytaire doit être conscient de la gravité et de la chronicité de sa maladie, car toute sa vie sera conditionnée par sa pathologie.

Un rôle essentiel du thérapeute est de l'informer sur tous les problèmes qui le préoccupent : transmission et histoire naturelle de la maladie, physiopathologie de l'anémie et des crises (prévention), espérance et mode de vie, attitudes thérapeutiques, progrès de la recherche[21].

VII-4 Enjeu de sante publique

La drépanocytose dans le monde et plus particulièrement en Afrique constitue une préoccupation majeure de santé publique : 200 000 cas de drépanocytose sont répertoriés en Afrique et cette maladie est responsable de plus de 5% des décès des enfants de moins de 5 ans [60]. Sur la base de ces statistiques, toutes les instances, qu'elles soient internationales ou simplement nationales se sont mobilisées sur ce sujet :

- Les premiers états généraux de la drépanocytose au monde ont eu lieu en 2005 à Brazzaville [61]. Ils ont insisté sur l'importance de la mise en place de réels programmes de lutte et sur l'implication des institutions internationales.

- Suite à cela, en 2006, la cinquante-neuvième assemblée mondiale de la santé dans sa résolution sur la drépanocytose a incité les pays concernés ainsi que le secrétariat de l'OMS à mettre d'avantage de moyens en œuvre pour combattre cette affection[60]. Cette action de l'OMS concernant les hémoglobinopathies s'inscrit dans le cadre de la lutte contre les maladies chroniques. L'OMS est

conscient que les objectifs ne sont pas les mêmes pour les pays industrialisés que pour les pays en voie de développement. Dans les pays en développement (qui correspondent aux pays de forte prévalence de la drépanocytose), l'OMS s'est notamment engagée:

- A promouvoir un accès équitable aux services de santé : l'objectif principal est d'améliorer les perspectives des drépanocytaires en leur apportant des soins complets précocement.
- A apporter un appui technique aux pays pour les aider à prévenir et à prendre en charge ces pathologies. La prévention passe par le dépistage néonatal, par des tests sanguins fiables et peu coûteux chez les couples qui voudraient avoir des enfants, par l'éducation des parents ...

La prise en charge passe par l'ouverture de centres spécialisés, par l'utilisation de techniques simples, abordables permettant d'atteindre une proportion importante de la population.

- A encourager la recherche en vue d'améliorer la qualité de vie des malades.

Tous ces objectifs ont un seul but commun : réduire la morbidité et la mortalité dues à la maladie et améliorer la qualité de vie des patients.

- En 2006 également, l'OMS via le comité régional de l'Afrique a fait un bilan de la situation actuelle et des perspectives de la drépanocytose dans la région africaine [61]. Ils en sont arrivés aux mêmes conclusions que précédemment (prévention, programme national de lutte ...).

- Finalement en 2008, l'ONU [62] a reconnu que la drépanocytose constituait un problème de santé publique.

CHAPITRE III : MONOGRAPHIE DE LA PLANTE

I-ETUDE BOTANIQUE

I-1 Position systématique et description de la plante utilisée :

Cajanuscajan (fabaceae)

Cajanuscajan(L.) est une plante appartenant à la famille des *Fabaceae* et au genre *Cajanus*. Sur la base des connaissances actuelles la position systématique de *Cajanuscajan* est [6,43] (voir tableau IV) :

Tableau IV: Position systématique de *C. cajan* d'après l'Angiosperm Phylogeny Group (2003) [6] et Heywood (1996) [43].

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Eudicotyledon
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Tribu	Faboideae=Papilionaceae
Genre	<i>Cajanus</i>
Espèce	<i>Cajanuscajan</i>

I-2-Nom scientifique et noms vulgaires

-Nom scientifique :

Son nom scientifique est *Cajanuscajan*.

Cajanuscajan, ubiquitaire porte plusieurs noms

- Noms vulgaires :

- Pois d'Angole
- Pois pigeon
- Pois cajan

- Noms vernaculaires :

Le pois d'Angole porte des appellations diverses suivant les populations :

- En Côte d'Ivoire, chez les
 - Abron : Siékou
 - Adjoukrou : Aganou
 - Dioula : Gonniflabrou
 - Gouro : Zrohé
 - Guéré : Dri
 - Tagouana : Kamrongbêsse

➤ Les autres pays africains [3]

- Bénin :
Yoruba: Otini

Fon: Adjahi

- Centre Afrique :
Swahili : Mbaazi
- Niger :
Waken : Maseer

Hausa : Waken –Turawa

- Nigeria :
Yoruba: Otini, Otinli
- Sénégal:
Wolof: Subutubab

➤ Les autres pays du monde

- Les Antilles : Ambrevade
- Les Comores : Mtsongi
- Inde : Arha

I-3- Données Ethnobotaniques

I-3-1- Caractères morphologiques

Il s'agit d'un arbuste (ressemblant à un buisson), ramifié dès la base qui peut mesurer jusqu'à 4 mètres de hauteur. L'écorce est lisse et de couleur grisâtre (**Figure 9**) [8].



Figure 9 : Vue d'ensemble de *Cajanuscajan*

URL : <http://www.ethnopharmacologia.org>

Les feuilles sont alternes, trifoliées, tomenteuses (aspect duveteux) et argentées dessous. Les folioles sont de formes allongées, elliptiques et mesurent 3 à 10 centimètres de long sur 2 à 4 centimètres de large. Leurs nervures sont palmées avec 3 nervures saillantes à la base longeant le bord du limbe puis 4 à 6 paires de nervures secondaires pennées et presque parallèles entre elles. La floraison se fait au cours de la saison des pluies. Les inflorescences sont en grappes, disposées à l'aisselle des feuilles et composées de 5 à 10 fleurs. Les fleurs sont jaunes (**Figure 10**), plus ou moins striées de rouge à l'extérieur, asymétriques, de 18 à 20 millimètres de long [8].



Figure 10 : Feuilles et fleurs de *Cajanuscajan*

Le fruit est une gousse pubescente, allongée à sommet en pointe acuminée mesurant 6 à 9 centimètres de long sur 1,2 à 1,3 centimètres de large. Elle est rétrécie entre chaque graine et contient 2, 3 ou 5 graines disposées dans des loges obliques (**Figure 11**) [8].



Figure 11 : Gousse de *Cajanuscajan*

***Cajanus cajan* (L.) Millsp.**



Figure 12 : Schéma de *Cajanuscajan*

I-3-2 Phytogéographie

Cajanuscajan est originaire d'Asie. Il s'est répandu en Afrique orientale et en Amérique grâce à la traite des esclaves. La culture du pois d'Angole remonte au moins à 3000 ans. De nos jours, cette plante est largement cultivée dans toutes les régions tropicales et semi-tropicales de l'ancien et du nouveau monde. Le sous-continent Indien, l'Afrique orientale et l'Amérique centrale sont les trois principales régions productrices de pois d'Angole dans le monde [1].

En Côte d'Ivoire, elle se retrouve un peu partout.

I-3-3- Ecologie

Le pois d'angole est cultivé dans 25 pays tropicaux et subtropicaux, soit en monoculture soit en rotation avec les céréales tels que le sorgho, le millet perlé ou le maïs ou avec les légumineuses comme l'arachide [66].

Cajanuscajan joue un rôle dans la restauration et la fertilisation du sol grâce à sa capacité de fixer l'azote atmosphérique [1]. Cette légumineuse est aussi cultivée comme plante ornementale dans les jardins tropicaux.

Les abeilles butinent le nectar des fleurs du pois d'angole qui constitue une source importante de miel [1].

II-UTILISATIONS TRADITIONNELLES

II-1-Alimentation

CajanusCajan est une plante alimentaire. Les graines sont consommées sous forme de gâteau de "koki" ou d'ingrédient dans la sauce où elles remplacent valablement l'arachide, le soja ou la pistache. Les gousses de *Cajanus* sont également consommées comme légumes verts. Dans ce cas, elles sont récoltées avant le développement des graines. En Martinique, ces petits pois sont prisés en période de Noël [1].

II-2- Combustible

Les tiges de *Cajanuscajan* sont utilisées comme bois de chauffage dans beaucoup de régions dans le monde[1].

II-3-Phytothérapie traditionnelle

Cajanuscajan a de nombreuses utilisations en médecine traditionnelle. Les jeunes feuilles sont appliquées sur les endroits douloureux et contre les prurits. Elles sont également utilisées sous forme de décoction pour le traitement de la diarrhée. Cette plante est utilisée contre les douleurs et les abcès dentaires ou l'inflammation des gencives en bain de bouche[72].

La tisane des feuilles est utilisée dans plusieurs affections que sont les coliques néphrétiques, les calculs urinaires, pour soulager les coliques, les troubles digestifs et les douleurs gastriques ainsi que pour les affections pulmonaires [72].Le suc des feuilles froissées dans la paume est utilisé pour traiter les éruptions cutanées dont la varicelle, la rougeole, la variole.

Les feuilles astringentes macérées dans l'eau sont appliquées sur la peau pour traiter diverses dermatoses et brûlures. Elles sont en outre appliquées localement

contre le rhumatisme. La même préparation est utilisée pour fortifier les cheveux.

Les feuilles fraîches agissent sur l'incontinence urinaire.

Les graines sèches de *Cajanuscajan* écrasées et prises avec un peu de vin permettent de soigner le début d'anthrax (furoncles).

La décoction des graines ou les graines mélangées à de la nourriture chaque jour, est utilisée pour diminuer les crises drépanocytaires [3, 4, 72].

En décoction, 1 kilogramme de graine est bouilli dans un litre d'eau jusqu'à cuisson des graines. La posologie est d'une tasse trois fois par jour en entretien et de 2 tasses en cas de crise aiguë.

La poudre des graines sèches mélangée avec de la banane non mûre est utilisée comme cataplasme pour soigner les infections extérieures.

La poudre de racine associée à la feuille fraîche et à l'huile de sésame est un " wounddressing ".

Toutes les parties de la plante sont diurétiques et proposées sous forme de décoction de la plante entière, comme remède en cas de brûlures [4].

III-TRAVAUX ANTERIEURS

Cajanuscajan a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées. Les travaux ont porté sur les effets antimicrobiens, antioxydants, analgésiques, régénérateurs cutanés, antirhumatismal antidiarrhéique, diurétique.

En 1990, 12 acides aminés libres ont été identifiés par spectrophotométrie dans la fraction aqueuse soluble d'un extrait alcoolique de graines de *C. cajan*. [29](voir *tableau V*).

Tableau V : Composition en acides aminés de graines de *Cajanus cajan* [29]

Aminoacid	% content
L-Phénylalanine	26.3
L-Cysteine	7.3
L-Proline	6.7
L-Glutamicacid	4.8
L-Valine	2.9
L-Serine	2.4
L-Alanine	2.3
L-Histidine	1.4
L-Asparagine	0.7
L-Isoleucine	0.5
L-Leucine	0.5
L-Arginine	0.3

La L-phénylalanine, la L-cystéine, la L-proline et l'acide L-glutamique sont les 4 acides aminés retrouvés en plus grande quantité [29].

La phénylalanine, présente en très grande quantité dans l'extrait (26,3%), est un acide aminé aromatique non polaire [29]. D'après une étude de 1991, le taux de phénylalanine dans les graines de *Cajanuscajan* (échantillon Béninois) est de 4,92mg +/- 0,13 mg par gramme de graines [5].

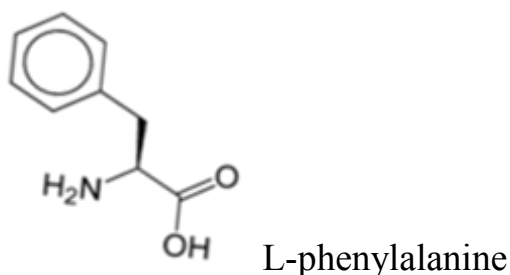


Figure 13 : Structure de la phenylalanine

Deuxième Partie :
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL

I-1- Type, Cadre et période d'étude

Cette étude descriptive a été initiée par le département d'Hématologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques en collaboration avec le laboratoire de Pharmacognosie de cette même UFR. Elle s'est déroulée de Mai 2015 à Septembre 2015. L'évaluation de l'activité biologique a été réalisée à l'unité d'Hématologie du laboratoire central du CHU de Yopougon.

I-2- Population d'étude

Notre échantillon était constitué de 32 drépanocytaires homozygote SSFA₂, suivis dans le service d'Hématologie clinique du CHU de Yopougon.

I- 2-1 Critères d'inclusion

- Drépanocytaires homozygotes SSFA₂ des deux sexes quelque soit l'âge,
- Patients en phase stationnaire,
- Patients ayant donné un consentement éclairé et signé.

I- 2-2 Critères de non inclusion

- Drépanocytaires ayant un taux d'Hb S < 80%,
- Drépanocytaires transfusés depuis moins de 3 mois.

I-3-Matériau végétal

L'étude a porté sur les graines contenues dans la gousse de *Cajanuscajan*(Fabacées) parvenue à maturité (**figure 14**). La plante et la drogue ont été identifiées par Mr Assi Yapo Jean du Centre National de Floristique.



Figure 14: Photo des graines fraîches de *Cajanuscajan* utilisées

I-4 Appareillage

Les appareils utilisés étaient :

- ✓ Balance de précision de type Sartorius
- ✓ Broyeur moulinette type casa holding 1096
- ✓ Plaque chauffante type euro star
- ✓ Étuve prolabo 42/0000
- ✓ Evaporateur rotatif type Buchi R-200

I-5-Petit matériel

Ce matériel était constitué entre autre :

- ✓ d'assiettes en porcelaine
- ✓ d'un bain-marie
- ✓ d'une capsule
- ✓ de coton hydrophile
- ✓ de papier Wattman
- ✓ d'une ampoule à décanter
- ✓ d'un entonnoir en verre
- ✓ d'une éprouvette graduée

- ✓ d'un erlenmeyer 1000 ml
- ✓ d'une fiole conique de 500 ml
- ✓ d'une pince
- ✓ de pipettes (1 ml ; 2 ml ; 5ml et 10 ml)
- ✓ de spatule métallique
- ✓ de tubes à essai

I-6-Réactifs et solvants

Ils étaient de 2 types. Les solvants et réactifs généraux et spécifiques.

➤ **Réactifs généraux**

- ✓ Anhydride acétique
- ✓ Acide sulfurique concentré
- ✓ Acétate d'éthyle
- ✓ Butanol
- ✓ Eau distillée
- ✓ Chlorure ferrique 2%
- ✓ Alcool chlorhydrique (dilué au demi)
- ✓ Acétate de sodium
- ✓ Alcool à 60° (Ethanol)

➤ **Réactifs spécifiques (Révélateurs)**

- ✓ Copeaux de magnésium
- ✓ Alcool Iso amylique
- ✓ Réactif de Borntraeger (ammoniaque diluée au demi)
- ✓ HCl au 1/5
- ✓ Réactif de Dragendorff (Iodo-bismuthate de potassium)
- ✓ Réactif de Stiasny (mélange de formol et d'HCl concentré)
- ✓ NH₄OH 25%
- ✓ Lampe UV

I-7 Etude hématologique

➤ Prélèvement

Il se compose d'échantillons de sang veineux prélevés chez les drépanocytaires majeurs au niveau du pli du coude sur EDTA.

➤ Appareillage

- **Pour l'électrophorèse d'hémoglobine :**



Figure 15: photo de la chaine Helena Optiscan
(Unité d'hématologie du laboratoire central du CHU de Yopougon)

- **pour l'hémogramme :**



Figure 16 : Automate de numération type Cell Dyn Ruby. Photo prise au laboratoire central du CHU de Yopougon (Unité d'hématologie).

- **Pour le test d'Emmel**

Microscope optique pour la numération manuelle des GRfalciformés.

➤ **Réactifs et petit matériel**

- **Pour le prélèvement**

Le prélèvement du sang sur les patients a nécessité un ensemble de petit matériel et de réactifs. Ce sont :

- ✓ Tube de prélèvement EDTA
- ✓ Gants à usage unique
- ✓ Aiguilles vacutainer
- ✓ Garrot
- ✓ Coton hydrophile
- ✓ Micropipettes
- ✓ Tube à hémolyse
- ✓ Lames porte objet
- ✓ Portoir.
- ✓ Alcool (Ethanol à 70°)

- **Pour l'électrophorèse**

- ✓ Plaque de cellulose de la chaine Helena
- ✓ Plaque Titan III de la chaine Helena
- ✓ Papier buvard
- ✓ Pont-papier
- ✓ Plaque à puits
- ✓ Chariot
- ✓ Tampon de la chaine Helena
- ✓ Rouge ponceau
- ✓ Clear-aid de la chaine Helena
- ✓ Méthanol pur
- ✓ Acide acétique pure
- ✓ Solution de lyse

- **Pour le test d'Emmel**

- ✓ Lames
- ✓ Lamelles
- ✓ Métabisulfite de sodium 2%

II-METHODES

II-1 Etude phytochimique

Après la récolte, la drogue a été séchée à l'ombre au laboratoire à la température ambiante puis broyée à l'aide d'un broyeur moulinesse afin d'obtenir une poudre grossière.

II-1-1 Extraction

Nous avons préparé un extrait aqueux par décoction qui est la méthode traditionnelle de cuisson des haricots puis des extraits avec des solvants à polarité croissante.

II-1-1-1 Décocté

La décoction aqueuse est une opération qui consiste à faire bouillir dans de l'eau des substances médicamenteuses.

Dans une casserole en inox de 5 litres, à 200g de poudre grossière de drogue, 2 litres d'eau distillée ont été ajoutées puis portées à ébullition pendant 15 minutes, ensuite la préparation a été filtrée. Le décocté obtenu constitue la **solution n° 1**.

II-1-1-2 Extraction par des solvants à polarité croissante

- **Extraction par l'acétate d'éthyle**

Dans une ampoule à décanter de 500 ml, 200 ml d'acétate d'éthyle et 200 ml de décocté ont été mélangés manuellement et délicatement pendant 15 min. Cette agitation est entrecoupée de temps de repos pour aérer l'ampoule à décanter et laisser échapper le gaz. Ensuite l'ampoule est laissée au repos pendant 10 min pour la séparation des 2 phases. La fraction éthylique moins dense que l'eau a été recueillie (**figure 17**). Cette opération a été reprise 3 fois et permet de constituer la **solution n°2**. Cette **solution n° 2** a été concentrée au rotavapor puis conservée dans des flacons en verre de fermeture hermétique au réfrigérateur.

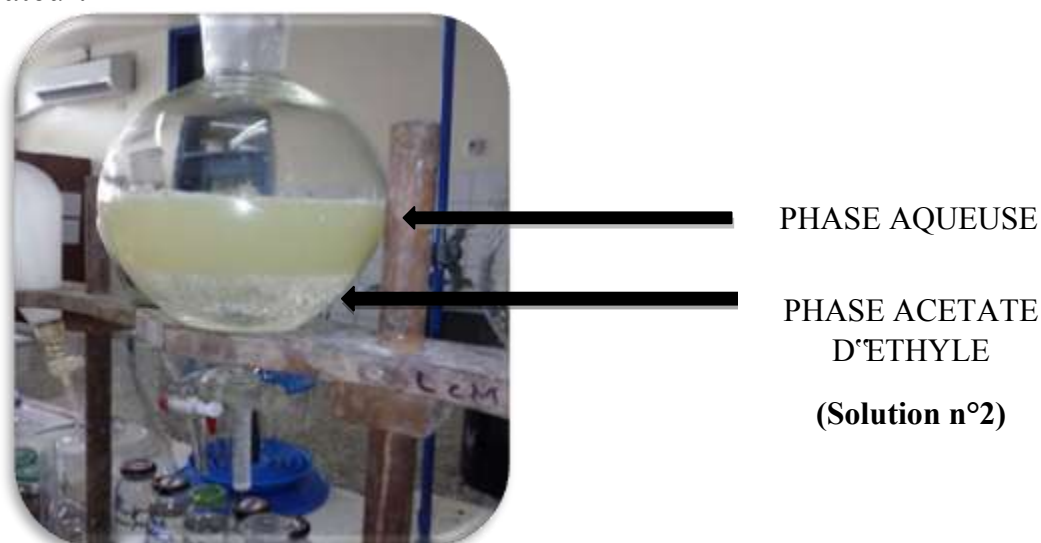


Figure 17 : Extraction par l'acétate d'éthyle.

- **Extraction par le butanol**

Le butanol a été utilisé comme solvant d'extraction après l'acétate d'éthyle suivant la même méthode pour obtenir l'extrait butanolique sec. **La solution n°3** et l'extrait sec ont été obtenus dans les mêmes conditions que l'extrait acétate d'éthyle.

II-1-2 Recherche du rendement

Principe

Il s'agit d'obtenir un extrait sec à partir du décocté par séchage à l'étuve à une température donnée pendant un certain temps.

Mode opératoire

A 100 g de poudre de pois d'angole contenu dans une casserole en inox de 5 litres, on ajoute 1 litre d'eau distillée, l'ensemble à ébullition pendant 15 min. Après refroidissement, le décocté obtenu est filtré et réparti dans des assiettes en porcelaine qui seront mises à l'étuve à une température de 50° C pendant cinq jours. On recueille l'extrait sec (Q1) obtenu à l'aide d'une spatule et celui-ci est pesé et mis dans un tube fermé hermétiquement puis conservé au réfrigérateur.

On reprend cette opération avec 2 échantillons de 100 g pour obtenir dans les mêmes conditions Q2 et Q3 ; cela nous permettra de calculer le rendement selon la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{Q1+Q2+Q3}{3} \times 100 \pm \text{écart type}$$

Q = quantité d'extrait sec (g)

II-1-3 Essais chimiques

- **Test de caractérisation en tube**

La recherche des groupes chimiques a été réalisée par des réactions de caractérisation en tubes. Les méthodes utilisées pour ces tests de caractérisation sont limitées à la détection de quelques groupes chimiques ayant des réactions générales, suffisamment sensibles pour ne mettre en œuvre qu'une faible quantité de drogues. Les résultats ont été classés par l'intensité des colorations [63].

Coloration

Réaction positive : +

Abondant : ++

Très abondant : +++

Réaction négative : -

II-1-3-1 Recherche des polyphénols par la réaction au chlorure ferrique

Principe

Les polyphénols sont des composés qui possèdent plusieurs groupements phénols. La colorimétrie des phénols met en évidence, la formation de complexes avec l'ion ferrique. La coloration de l'ion complexé est bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée.

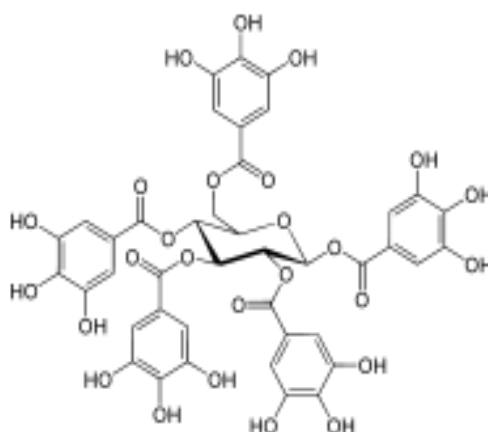
Mode opératoire

A 2 ml de chaque solution, ajouter une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 2%. Le chlorure ferrique provoque, en présence des dérivés polyphénoliques, l'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée.

II-1-3-2 Recherche des Tanins

Définition

Les tanins sont des composés phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses(**figure 18**). On distingue habituellement, chez les végétaux supérieures, deux groupes de tanins différents par leur structures aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Tanins hydrolysables ou tanins galliques sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (souvent le glucose) ou d'un nombre variable de molécules de types acide-phénol (acide gallique). Les Tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques. L'élément structural de base est un flavan-3-ol.



1, 2, 3, 4, 6 penta-O-galloyl- β -D-glucose

Figure 18: Exemple de tanin

Principe :

Les Tanins sont divisés en deux groupes :

Les Tanins galliques, dérivés de l'acide gallique, et combinés sous forme d'hétérosides hydrolysables et les Tanins catéchiques de nature non hétérosidique qui sont formés de polymères de catéchols sous forme condensée.

La caractérisation des tanins se fait par le réactif de Stiasny (Formol 30%, HCl concentré : 1/0,5).

Les tanins catéchiques sont précipités sous formes de flocons par chauffage et refroidissement, alors que les tanins galliques sont hydrolysés après ajout d'acétate de sodium. L'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 à 3% donne une coloration bleu-noir intense spécifique aux polyphénols indiquant la présence de tanins galliques.

Mode opératoire :

- Recherche des tanins catéchiques par la réaction de Stiasny

A 5 ml de chaque extrait évaporé à sec dans une capsule, ajouter au résidu 15 ml de réactif de Stiasny. Triturer l'extrait dans le réactif et renverser la solution dans un tube à essai. Le mélange dans le tube à essai est maintenu au bain-marie à 80°C pendant 30 mn. Sortie du bain marie, la solution dans le tube à essai est refroidie. L'observation de précipités en gros flocons caractérise les tanins catéchiques.

- Mise en évidence des tanins galliques

La solution précédente est filtrée et le filtrat est saturé d'acétate de sodium. Enfin ajouter trois gouttes de FeCl_3 à 2% pour provoquer l'apparition d'une coloration bleu-noir intense indiquant la présence de tanins galliques.

II-1-3-3 Recherche des flavonoïdes par la réaction dite à la Cyanidine

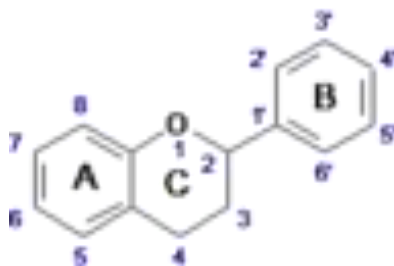
Définition :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Tel est le cas des flavonoïdes jaunes : chalcones, aurones, flavones jaunes ; des anthocyanosides rouges, bleus, ou violets. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment : flavone et flavonols incolore. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et

de ce fait possèdent le même élément structural de base : l'enchaînement 2-phénylchromane. Ils peuvent être regroupés en une dizaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central :

- 2-phénylbenzopyrilium anthocyanes
- 2-phénylchromones : flavonols et leurs dimères flavonones et difydroflavonols.

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, plus ou moins hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles. Dans les fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (**Figure 19**).



2-phénylchromane

Figure 19 : Squelette flavonoïdique

Principe :

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes très répandus dans le règne végétal. Ils existent sous forme d'hétérosides dont la génine dérive du noyau benzogammapyrone. La caractérisation des flavonoïdes se fait après hydrolyse par une solution d'alcool chlorhydrique. L'action d'ion magnésium sur la génine, aboutit à la formation d'un composé : le chlorure de cyanidine qui a une coloration rose-orangée ou violacée.

Mode opératoire :

A 2 ml de chaque solution évaporée à sec dans une capsule, reprendre après refroidissement, le résidu par 5 ml d'alcool chlorhydrique (1 :1 v/v). Ensuite

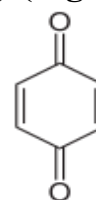
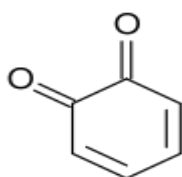
verser la solution dans un tube à essai puis ajouter 2 à 3 copeaux de magnésium (attention, dégagement de chaleur).

Nous pouvons noter la coloration rose orangée ou violacée obtenue. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique qui intensifie cette coloration confirme la présence de flavonoïdes.

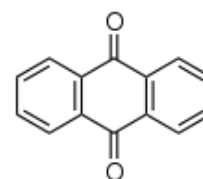
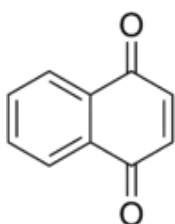
II-1-3-4 Recherche de substances quinoniques libres ou combinée

Définition

Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques et qui sont caractérisés par le motif 1,4-diacétocyclohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou, éventuellement par un motif 1,2-diacétocyclohexa-3,5-diénique (ortho-quinones). Les quinones naturelles sont généralement constituées d'un noyau benzénique (benzoquinone) ou d'un système aromatique polycyclique condensé (le naphthalène ou naphthoquinone) ou encore anthracène (anthraquinone). Les quinones étant issues de l'oxydation de phénols, le motif quinonique est retrouvé dans différentes classes de métabolites secondaires. Il se rencontre ainsi des flavonoïdes-quinones et d'assez nombreuses quinones à squelette terpénique (par exemple des quinones diterpéniques à squelette abétiane caractéristique des lamiaceae) (**Figure 20**).



1,2-Benzoquinone 1,4-Benzoquinone



Naphthoquinone Anthraquinone

Figure 20 : Exemple de noyaux quinoniques

Principe

La caractérisation des substances quinoniques est fondée sur le fait qu'elles donnent sous l'action d'une lessive alcaline (ammoniaque, soude, eau de chaux), une coloration rouge cerise. L'essai consiste à procéder immédiatement à l'hydrolyse des génines par l'utilisation de HCl au 1/5 puis à l'ajout de réactif de Borntraeger.

Mode opératoire

A 2 ml de chaque solution évaporée à sec dans une capsule, ajouter 5 ml d'acide chlorhydrique au 1/5 puis triturer le résidu. Ensuite porter la solution dans un tube à essai, une demi-heure, au bain-marie bouillant. Après refroidissement sur un courant d'eau froide, l'hydrolysate est extrait par 20 ml de chloroforme et mis dans un tube à essai. Enfin recueillir la phase chloroformique dans un autre tube à essai et y ajouter 0,5 ml d'ammoniaque diluée au demi. L'apparition d'une coloration allant du rouge au violet indique la présence de quinones.

II-1-3-5 Recherche des stérols, stéroïdes et des polyterpènes par la réaction de Liebermann

Définition

Les terpénoïdes sont rencontrés chez les végétaux et animaux. Ils constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires végétaux. Ils sont généralement lipophiles. Leur unité de base est l'isoprène (2-méthyl-1,3-butadiène) (**Figure 21**). En fonction du nombre d'unités d'isoprènes et du nombre d'atomes de carbones sont distingués :

- Les monoterpènes, à 10 atomes de carbones, substances odorantes et constituantes des huiles essentielles.

- Les sesquiterpènes, à 15 atomes de carbones, fractions lourdes des huiles essentielles.
- Les diterpènes, à 20 atomes de carbones, constituant souvent des résines.
- Les triterpènes, à 30 atomes de carbones, correspondant notamment aux stérols végétaux. Ils sont présents notamment dans les racines, les graines, les fruits, et les huiles végétales (carthame, tournesol, mais soja, olive,). Les principaux stérols végétaux sont le beta-sitostérol, le stigmastérol et le campstérol.
- Les tétraterpènes, à 40 atomes de carbones, constituant le groupe des caroténoïdes.

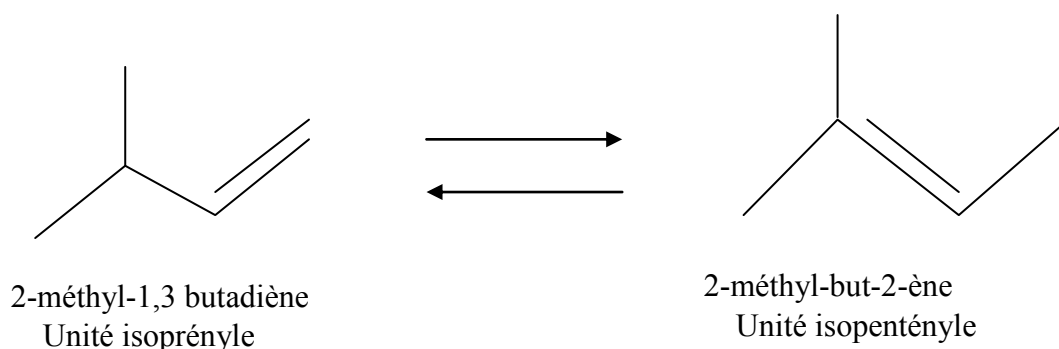


Figure 21 : Unité terpénique élémentaire

Principe

En présence d'acide sulfurique concentré ou réactif de Lieberman, les stérols et terpènes donne un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert.

Mode opératoire

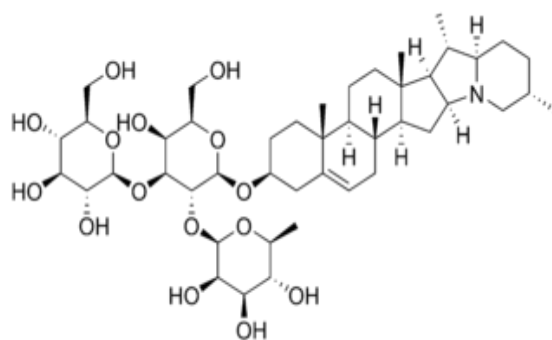
A 5 ml de chaque solution évaporée à sec dans une capsule, sans carboniser le résidu, nous ajoutons à chaud 1ml d'anhydride acétique-chloroforme (1 :1 v/v). Après dissolution du résidu, on verse la solution dans un tube à essai. Enfin nous ajoutons avec précaution 0,5 ml d'acide sulfurique concentré le long de la paroi

du tube, avec beaucoup de précaution. L'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, indique une réaction positive.

II-1-3-6 Recherche des saponosides

Définition

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes, très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives : ils se dissolvent dans l'eau en formant une solution moussante et constituent d'excellents émulsifiants. Les saponosides peuvent être classés en deux groupes en fonction de la nature de leur génine d'origine triterpénique. Les saponosides à génines stéroïdique ou sapogénines. Ces composés possèdent presque tous un squelette à 27 atomes de carbone qui comporte habituellement 4 cycles, fréquents dans le règne végétal. D'autres ont une génine triterpénique pentacyclique à 30 atomes de carbones. Ils sont présents dans tous les organes, surtout dans les racines et les graines (**Figure 20**).



Solanine

Figure 22 : Classe des saponosides

Principe

Les saponosides se dissolvent dans l'eau. Ils forment une solution moussante persistante par agitation. Cette propriété qu'ont les solutions de saponosides est utilisée pour les mettre en évidence et à déterminer les indices de mousse.

Mode opératoire

Dans une série de 10 tubes à essais de 16 mm de diamètre sur 16 cm de hauteur chacun et numérotés de 1 à 10, les aliquotes ont été réparties successivement de 1 à 10 ml. Ces volumes ont été ajustés, dans chaque tube, à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde (30 agitations).

Après 15 min, la hauteur de la mousse a été mesurée dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est persistante et égale à 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse suivant le rapport :

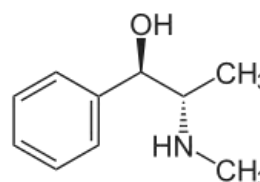
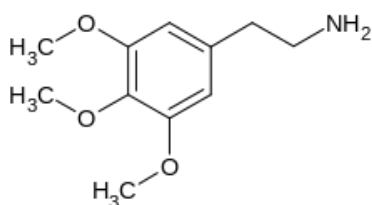
$$\text{Indice de mousse} = (1 / n^{\circ} \text{ tube}) * 100$$

II-1-3-7 Recherche des alcaloïdes

Définition

Les alcaloïdes sont des composés azotés plus ou moins basiques de distribution restreinte présentant généralement de puissants effets pharmacologiques. Ils donnent des réactions caractéristiques avec certains réactifs. Les types d'alcaloïdes, classés selon leurs structures, sont variés. Ils se rencontrent notamment chez les végétaux :

- Des alcaloïdes non hétérocycliques (proto-alcaloïdes) : c'est la mescaline et l'éphédrine présentée sur la **figure 23**.



Mescaline Ephédrine

Figure 23 : Alcaloïdes non hétérocyclique

- Des alcaloïdes hétérocycliques (alcaloïdes vrais) :
 - ✓ Alcaloïdes pyrrolidiniques
 - ✓ Alcaloïdes tropaniques
 - ✓ Alcaloïdes pyrrolizidiniques
 - ✓ Alcaloïdes pipéridiniques
 - ✓ Alcaloïdes quinolizidiniques
 - ✓ Alcaloïdes indolizidiniques
 - ✓ Alcaloïdes tétrahydroisoquinoliniques simple
 - ✓ Alcaloïdes phényléthylisoquinoliniques
 - ✓ Alcaloïdes indoliques
 - ✓ Alcaloïdes quinoléiniques
 - ✓ Alcaloïdes pyrroloindoliques
 - ✓ Alcaloïdes de l'ergot de seigle
 - ✓ Alcaloïdes imidazoliques
 - ✓ Alcaloïdes manzaminiques
 - ✓ Alcaloïdes marins
 - ✓ Alcaloïdes quinazoliniques
 - ✓ Alcaloïdes quinoléiniques
 - ✓ Alcaloïdes acridoniques
 - ✓ Alcaloïdes pyridiniques

- Des pseudo-alcaloïdes :
 - ✓ Alcaloïdes pipéridiniques
 - ✓ Alcaloïdes sesquiterpéniques
 - ✓ Alcaloïdes de l'Ephédra
 - ✓ Alcaloïdes aromatiques
 - ✓ Alcaloïdes terpéniques
 - ✓ Alcaloïdes stéroïdiques

Principe

Les alcaloïdes ont la propriété de se combiner aux métaux lourds (bismuth, mercure) et de se précipiter sous forme de sels lourds colorés. Le réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuth de potassium) a été utilisé pour leur caractérisation.

Mode opératoire

A 6 ml de chaque solution évaporée à sec dans une capsule, nous ajoutons 6 ml d'alcool à 60°. Après dissolution, l'ensemble est mis dans 1 tube à essai.

En présence de 2 gouttes de réactif de Dragendorff, l'apparition d'un précipité ou d'une coloration orangée indique la présence d'alcaloïdes.

II-1-3-8 Recherche des coumarines

Définition

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H)-1 pyranone-2 (**Figure 24**). Ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cis cinnamique oxygéné en C-2.

On distingue les:

- Coumarines simples
- Furanocoumarines
- Pyranocoumarines
- Dicoumarines (coumarines dimériques)
- Tricoumarines (coumarines trimérique)

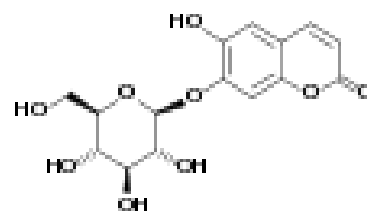
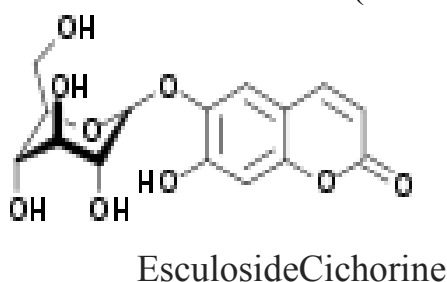


Figure 24 : Exemple de coumarines

Principe

En présence d'ammoniaque dilué au $\frac{1}{4}$ (NH_4OH 25 %), les coumarines donnent une fluorescence bleue ou verte à l'UV 366 nm.

Mode opératoire

L'extrait sec d'aliquote a été repris par 2 ml d'eau chaude. La solution a été répartie en deux tubes numérotés respectivement 1 et 2. Dans le tube 2, il a été introduit 0.5 ml de NH_4OH 25 %. L'observation d'une fluorescence intense sous UV 366 nm dans le tube 2 indique la présence de coumarine.

II-1-3-9 Recherche des mucilages

Définition

Les mucilages sont constitués de polysaccharides qui gonflent au contact de l'eau. Ils sont classés selon leur facteur de gonflement (**Figure 25**).

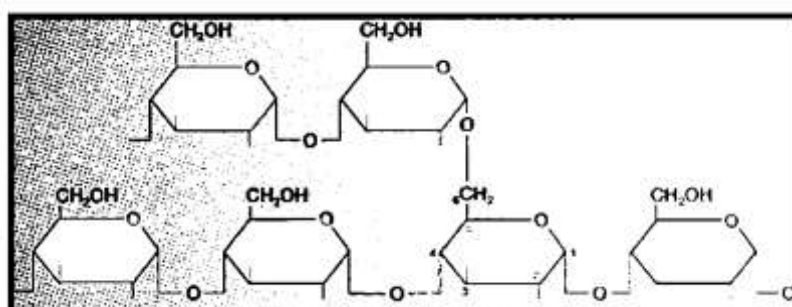


Figure 25 : Structure des mucilages

Principe

La caractérisation des mucilages se fait sous l'action de l'alcool. Ceux-ci, en présence d'éthanol, forment des flocons qui précipitent.

Mode opératoire

1 ml de chaque aliquote, dans un tube à essai, a été mélangé avec 3 ml d'alcool à 60°. L'obtention de précipité floconneux indique la présence de mucilage dans la drogue.

II-2 Etude hématologique

II-2-1-Electrophorèse d'hémoglobine

C'est la technique de base pour la mise en évidence des anomalies de l'Hb.

Principe

Lorsqu'un hémolysat est placé dans un champ électrique, les différentes Hb migrent en fonction de la charge des différentes fractions, du poids moléculaire de ces fractions et du pH du milieu. La charge des différentes Hb dépend des différents AA constitutifs. Les AA riches en résidus NH₂ ont une charge positive. Les AA porteurs à la fois de résidus NH₂ et COOH sont neutres.

Les techniques couramment utilisées au laboratoire pour le diagnostic de certitude sont l'électrophorèse de Hb à pH alcalin et à pH acide[2].

Mode opératoire (pH 8,6 ou pH 8,4)

Cette technique sert à faire un „screening“ des échantillons à tester. Elle permet de faire un premier tri et de ne conserver pour la suite de l'identification que les échantillons qui présentent une anomalie.

La migration se fait sur une plaque d'acétate de cellulose à 350 volts pendant 20 min. Cette technique permet d'individualiser quatre niveaux de migrations.

L'Hb A migre la première et elle est la seule à se retrouver le plus proche de l'anode. Plus en avant de l'Hb A vers l'anode, migrent certaines Hb appelées „Hb rapide“. Il s'agit principalement des Hb K, J, I et N, l'Hb F se situe en arrière de l'Hb A.

L'Hb S dont la migration est lente se retrouve en arrière de l'Hb F au même niveau que l'Hb D, Los Angeles, Lepore, D Penjab.

L'Hb C dont la migration est lente se situe au même niveau que l'Hb A₂, E, O Arabe, Ziguinchor, C Harlem, O Tchad (**figure 26**).

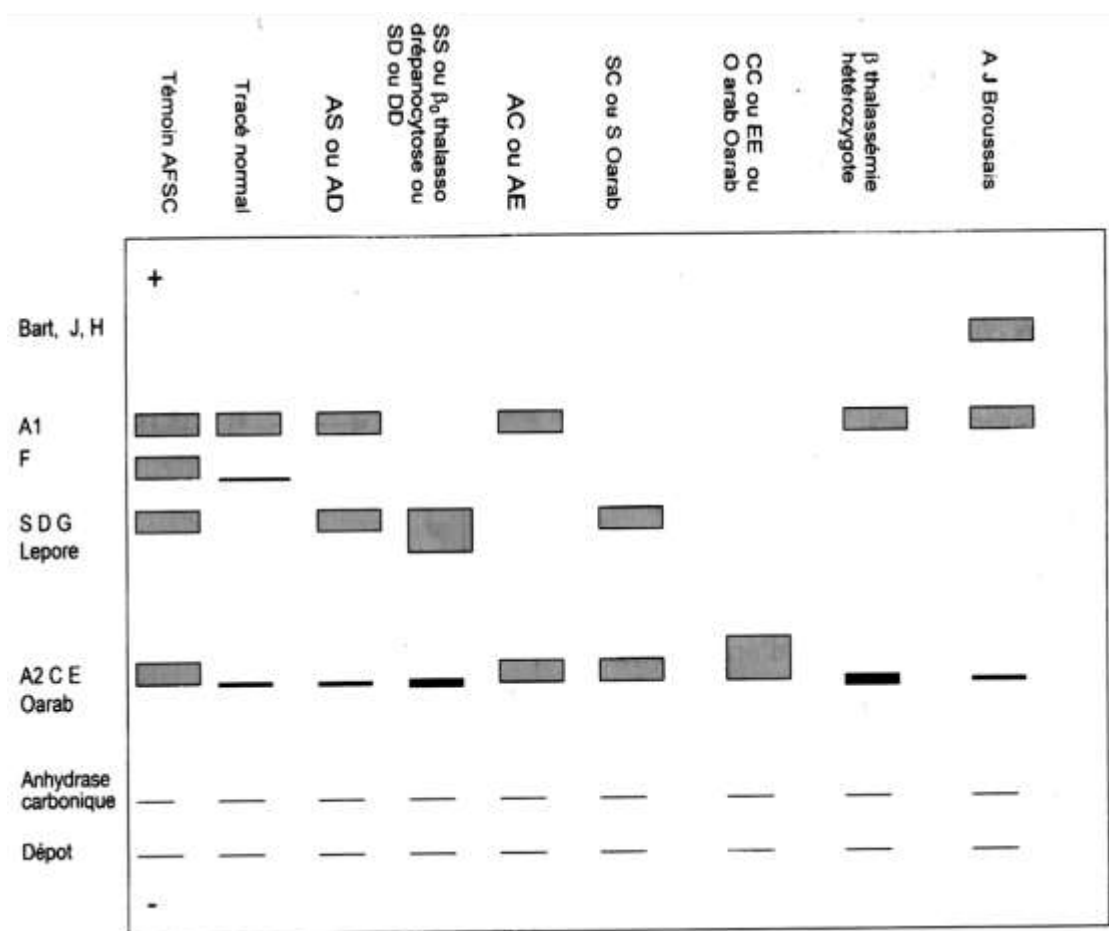


Figure 26: Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin, position des principaux variants selon Oliver [58]

II-2-2 Hémogramme

Principe

L'hémogramme encore appelé numération formule sanguine est réalisé dans notre étude par l'automate. Le Cell Dyn Ruby permet d'effectuer la mesure automatique du taux d'hémoglobine, la numération des éléments figurés du sang : GR, GB, PLQ, la détermination des constantes hématimétriques (VGM, TCMH, CCMH) et l'établissement de la formule leucocytaire approchée.

Les cellules en suspension dans un liquide conducteur passent l'une après l'autre à travers un micro-orifice séparant deux chambres munies d'électrodes. Ce passage entraîne une brève variation d'impédance, proportionnelle au

volume cellulaire. Le dénombrement et la mesure des volumes cellulaires sont effectués par le système électronique.

Mode opératoire

Les échantillons de sang recueilli, sont identifiés au préalable par un numéro d'ordre. Ils sont ensuite disposés dans des racks une fois enregistrés à l'ordinateur avant de passer à la lecture automatique au Cell Dyn Ruby.

Le Cell Dyn Ruby est capable d'analyser et de livrer les résultats de 24 paramètres d'un échantillon sanguin. Il réalise l'analyse du nombre total des leucocytes et des réticulocytes en utilisant un bloc détecteur photosensible dont le fonctionnement repose sur la méthode de cytométrie en flux et l'utilisation d'un laser à semi-conducteur.

Les taux d'érythrocytes et de PLQ sont analysés par le compteur de GR qui emploie la méthode de focalisation hydrodynamique.

L'Hb est analysée par le compteur de Hb sur la base de la méthode de détection de l'Hb.

L'affichage des données d'analyse a lieu au niveau de l'unité de traitement de l'information. Ensuite, les résultats sont imprimés (Annexe).

II-3-Recherche de l'activité antifalcimiante de *Cajanuscajan*

II-3-1-Préparation des réactifs

➤ Préparation des extraits de *Cajanuscajan*

Cajanuscajan a été mis sous forme de lyophilisat obtenu à partir de décocté préparé selon le procédé du tradipraticien. Ce lyophilisat a été solubilisé avec de l'eau distillée dont la quantité a été évaluée à partir de la concentration de la limite de la solubilité à 333,35mg/ml. Cette concentration est déterminée en utilisant un gramme d'extrait sec pour 3 ml d'eau distillée [49]. Ce sont ces extraits qui seront utilisés pour la réalisation des différents tests.

➤ Préparation des autres solutions

○ Solution de métabisulfite à 2%

La solution à 2% est obtenue en utilisant 100ml d'eau distillée pour 2 grammes de métabisulfite.

○ Solution saline isotonique

La solution saline est utilisée car elle ne contient aucune substance susceptible de modifier la forme des globules rouges.

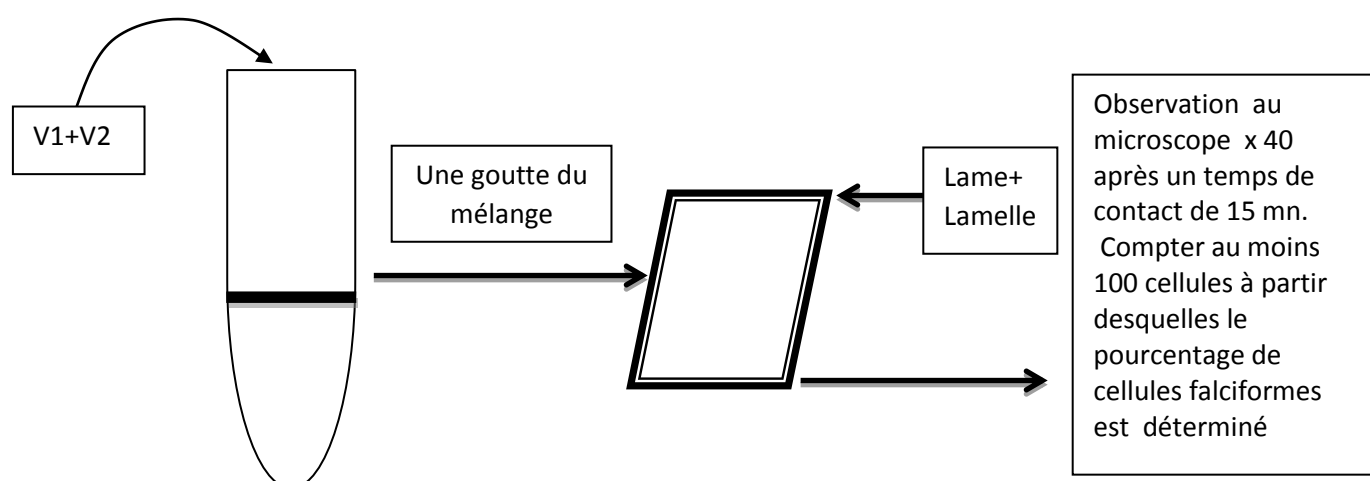
II-3-2 Test d'Emmel ou induction de la falciformation et lecture au microscope

• Principe

Consiste à mettre les hématies en conditions d'anoxie pour obtenir des drépanocytes.

• Mode opératoire

- Mélanger des volumes égaux de sang HbSSFA₂ et de solution de métabisulfite de sodium à 2 % dans un tube à essai refermé avec le bouchon (pour exclure l'air).
- Déposer une goutte de ce mélange sur une lame recouverte de lamelle et
- Observer 15mn après au microscope au grossissement x 40
- Déterminer le pourcentage de globules rouges (GR) falciformes en comptant le nombre de GR et de drépanocytes dans un champ.



V1 : volume de sang (20 microlitres)

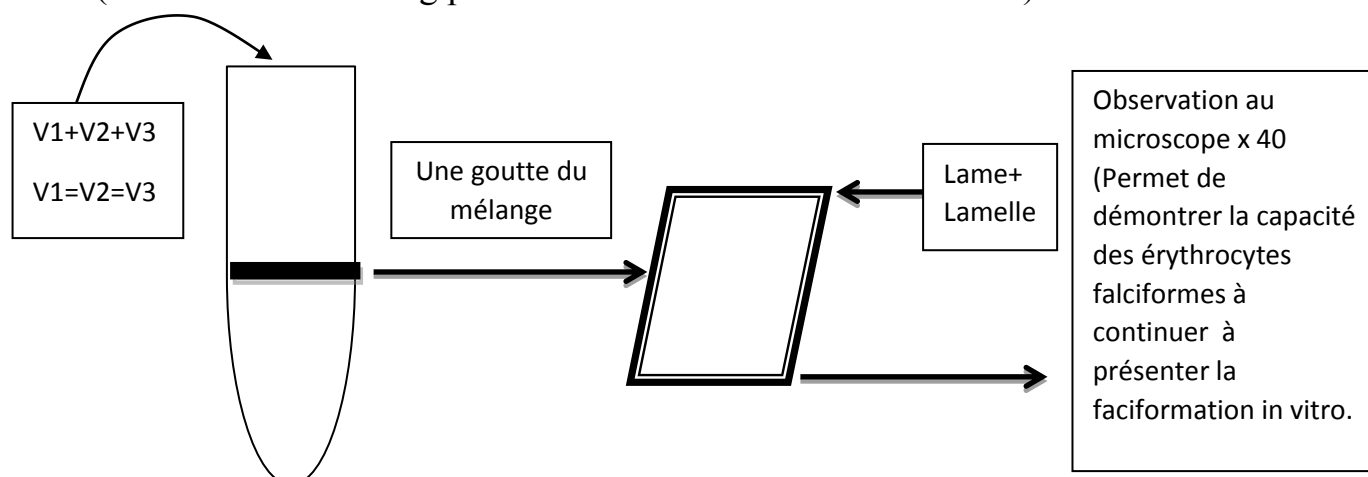
V2 : volume de métabisulfite de Na à 2 % (20 microlitres)

V1=V2

II-3-3-Inhibition de la falciformation

- Test sans l'extrait de *Cajanuscajan* : lot contrôle

Il faut diluer l'échantillon de sang à 1/10ème avec une solution saline normale (20 microlitres de sang pour 180 microlitres de solution saline).



V1 : Volume de sang SSFA₂ dilué (20 microlitres)

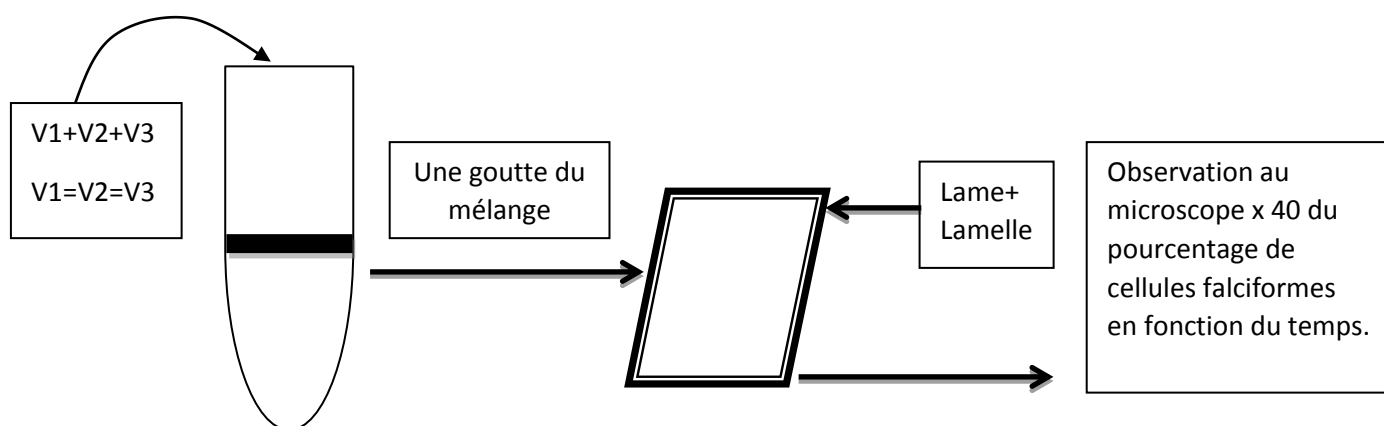
V2 : Volume de métabisulfite de sodium à 2% (20 microlitres)

V3 : Volume de solution saline (20 microlitres)

T1 : Pourcentage de drépanocytes après un temps de contact de 30 minutes.

T2 : Pourcentage de drépanocytes après un temps de contact de 60 minutes

- Test avec l'extrait de *Cajanuscajan* :



V1 : Volume de sang Hb SSFA₂ dilué avec de la solution saline normale

V2 : Volume de métabisulfite de Na à 2 %

V3 : Volume d'extrait de *Cajanuscajan*

V1=V2 =V3

T1 : Pourcentage de drépanocytes après un temps de contact de 30 minutes.

T2 : Pourcentage de drépanocytes après un temps de contact de 60 minutes.

II-4 Exploitation statistique des données

Les données biologiques ont concerné la numération globulaire qui correspond à la mesure des constantes hématologiques et des différents éléments figurés du sang et l'électrophorèse d'hémoglobine.

Les analyses statistiques des différents paramètres ont été réalisées à l'aide des logiciels EXCEL 2007 et SPSS 16.0.

Le test utilisé pour la comparaison de nos proportions est celui de t-student au seuil de signification $\alpha = 5\%$.

CHAPITRE II : RESULTATS

I- TRIPHYTOCHIMIQUE

Tableau VI :Tri-phytochimique des graines sèches

Groupes chimiques Extraits	Poly- phénols	Tanins		Flavo- noïdes	Qui- nones	Stérols et terpènes	Sapo- nosides**	Alca- loïdes	Couma- rines	Muci- lages
		Catéchique	Galique							
Solution mère	++	-	-	+++	+++	+++	25	+++	+	-
Acétate d'éthyle	++	-	-	++	++	++		+++	+	-
butanol	+++ (+)	-	-	+	++	+++		+++	+	-
Phase aqueuse	++	-	-	++	++	+++		+++	+	-

Saponosides

$T_1 = 0,1 \text{ cm}$ $T_2 = 0,4 \text{ cm}$ $T_3 = 0,5 \text{ cm}$ ** $T_4 = 1 \text{ cm}$ $T_5 = 0,9 \text{ cm}$

$T_6 = 1,2 \text{ cm}$ $T_7 = 1,2 \text{ cm}$ $T_8 = 1,2 \text{ cm}$ $T_9 = 1,5 \text{ cm}$ $T_{10} = 1,5 \text{ cm}$

T= tube

Coloration

Réaction positive : +

Intense : ++

Très intense : +++

Réaction négative : -

Le criblage phytochimique des graines sèches de *C. cajan* indique majoritairement la présence de composés chimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones, les polyphenols, les stérols et terpène dans tous les extraits. Les coumarines sont à l'état de trace dans tous les extraits. Les tanins et les mucilages sont inexistantes.

Les saponosides donnent un indice de mousse de 25.

Tableau VII : Calcul du rendement

Drogues	Prise d'essai (g)	Quantité obtenue (g)
<i>Cajanuscajan</i>	100,0115	3,90
	100,0068	3,70
	100,0170	4,10

Soit un rendement d'environ $3,9 \% \pm 0,2$.

Le calcul du rendement a pour intérêt la prévision d'une quantité de matière initiale suffisante pour mener toutes les expériences à terme.

II- ETUDE HEMATOLOGIQUE

Sur la période d'étude, nous avons recensé 32 patients drépanocytaires homozygotes SSFA₂.

II-1 Données épidémiologiques

➤ Age

Tableau VIII: Répartition des patients selon l'âge

AGE (an)	EFFECTIF (n)	POURCENTAGE(%)
[0-10[8	25
[10-20[11	34,37
[20-30[10	31,25
[30-40[3	9,75

L'âge moyen était de 15,22 ans (Ecart type =9,23) compris entre 2 et 39 ans. Il y avait autant d'adultes que d'enfants.

➤ Sexe

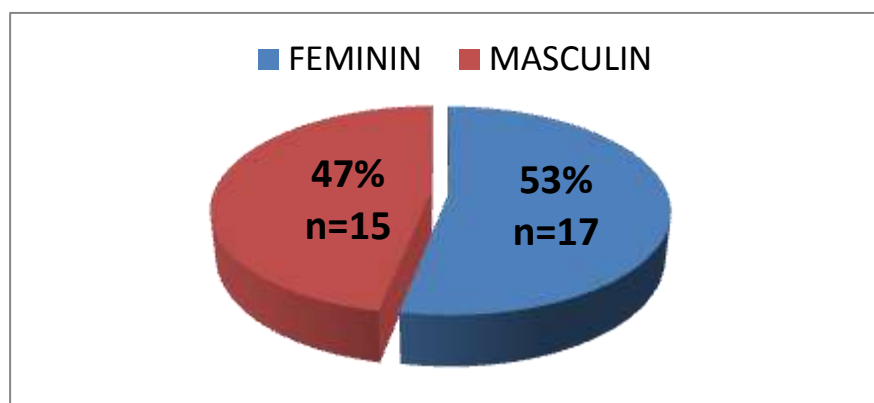


Figure 27: Distribution des patients selon le sexe

Nous avons noté une prédominance féminine avec un sex-ratio H/F de 0,88.

II-2-Données Biologiques

Tableau IX: Données de la numération globulaire

Paramètres	Moyenne± écart type	Minimum	Maximum
GR (10 ⁶ /mm ³)	2,77±0,53	1,69	4,2
Hte (%)	23,36±2,99	17,2	29,3
Hb (g/dl)	7,26±0,79	6,14	9,1
VGM (fl)	85,91±10,05	64,6	118
TCMH (pg)	28,84±11,96	18,4	90,6
CCMH (%)	31,23±2	26,5	36,4
GB (10 ³ /mm ³)	16,77±7,69	9,19	47,7
PQ (10 ³ /mm ³)	506,94±208,15	217	1068

Les patients ont présenté une anémie normochrome normocytaire associée à une hyperleucocytose et une thrombocytose.

III- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFALCIMIANTE DES EXTRAITS

III-1 Lot contrôle

Il était constitué du mélange sang dilué, métabisulfite de sodium et de solution saline.

Tableau X : Données sur le lot contrôle

CONTROLE	Moyenne ± écart type (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
T0	54,31±21,49	18,99	97,22
T1	49,65±10,72	27,19	70,23
T2	45,15±15,20	12,78	69,24

T0 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 15 mn

T1 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 30 mn

T2 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 60 mn

Après 30 minutes de contact entre le sang dilué, la solution saline qui sert de témoin et le métabisulfite de sodium, nous avons noté la présence de drépanocytes.

Lorsque cette incubation atteint 60 mn, la variation du nombre de drépanocytes au cours du temps n'est pas significative ($p=0,17$).

III-2-Test avec la plante

Ce test était constitué du mélange sang, métabisulfite de sodium et des différents extraits de la plante.

III-2-1-Avec l'acétate d'éthyle

Tableau XI : Données sur l'activité de l'extrait acétate d'éthyle

TEMPS (mn)	Moyenne± écart type (%)	Médiane (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
T0	54,31±21,49	48,73	18,99	97,22
T1	21,02±8,95	20,62	3,90	39,94
T2	17,57±8,53	16,79	4,57	33,61

T0 : Pourcentage de cellules falciformes après un contact de 15 mn entre le sang périphérique et le métabisulfite de sodium.

T1 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 30 mn entre le mélange sang, métabisulfite de sodium et l'extrait.

T2 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 60 mn pour le mélange.

Au bout de 30 mn de contact entre l'extrait acétate de la plante, le métabisulfite de sodium et le sang diluée, le nombre de drépanocytes a baissé de 54,31% à 21,02%.**(Tableau XI)**

Si le temps de contact passe à 60 min, le nombre de drépanocytes est encore plus bas. Cette diminution des drépanocytes de T1 à T2 est statistiquement significative ($p=0.006$).

Nous pouvons donc dire qu'au-delà de 30 min de contact l'extrait acétate d'éthyle de la plante continue d'agir sur les drépanocytes.

III-2-2-Avec le butanol

Tableau XII : Données sur l'activité de l'extrait butanolique

TEMPS (mn)	Moyenne± écart type (%)	Médiane (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
T0	54,31±21,49	48,73	18,99	97,22
T1	19,71±8,81	17,35	4,62	40,72
T2	19,16±9,06	20,18	2,65	33,25

T0 : Pourcentage de cellules falciformes après un contact de 15 mn entre le sang périphérique et le métabisulfite de sodium.

T1 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 30 mn entre le mélange sang, métabisulfite de sodium et l'extrait

T2 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 60 mn pour le mélange

Au bout de 30 mn de contact entre l'extrait butanolique de la plante, le métabisulfite de sodium et le sang dilué, le nombre de drépanocytes a diminué (**Tableau XII**).

A T2=60 min le nombre de drépanocytes est encore plus bas. Cependant cette baisse du nombre de drépanocytes observée de T1 à T2 n'est pas statistiquement significative car $p=0,58$ ($p>0,01$)

Nous pouvons donc dire qu'au-delà de 30 min de contact l'extrait butanolique de la plante semble ne plus avoir d'activité.

III-2-3-Avec l'extrait aqueux

Tableau XIII : Données sur l'activité de l'extrait aqueux

TEMPS (mn)	Moyenne± écart type (%)	Médiane (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
T0	54,31±21,49	48,73	18,99	97,22
T1	21,95±8,98	19,65	5,85	10,60
T2	20,40±8,93	19,61	3,11	34,33

T0 : Pourcentage de cellules falciformes après un contact de 15 mn entre le sang périphérique et le métabisulfite de sodium.

T1 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 30 mn entre le mélange sang, métabisulfite de sodium et l'extrait

T2 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 1h pour le mélange

Au bout de 30 mn de contact entre le reste aqueux, le métabisulfite de sodium le sang diluée, le nombre de drépanocytes a diminué de 54,31% à 21,95% (**Tableau XIII**)

A T2=60 min, le nombre de drépanocytes a encore baissé, cependant la différence du nombre de drépanocytes observé de T1 à T2 n'est pas statistiquement significative car $p=0,45$ ($p>0,01$).

Nous pouvons donc dire qu'au-delà de 30 min de contact le reste aqueux de la plante semble ne plus avoir d'activité.

III-2-4 Avec le totum sec aqueux

Tableau XIV : Données sur l'activité du totum sec aqueux

TEMPS (mn)	Moyenne± écart type (%)	Médiane (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
T0	54,31±21,49	48,73	18,99	97,22
T1	21,95±9,09	22,73	10,71	16,98
T2	19,38±9,15	18,25	4,32	37,70

T0 : Pourcentage de cellules falciformes après un contact de 15 mn entre le sang périphérique et le métabisulfite de sodium.

T1 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 30 mn entre le mélange sang, métabisulfite de sodium et l'extrait

T2 : Pourcentage des drépanocytes après un temps de contact de 60mn pour le mélange.

Au bout de 30 mn de contact entre le totum sec, le métabisulfite de sodium et le sang diluée, le nombre de drépanocytes a diminué de 54,31% à 21.95% (Tableau XIV). Si le temps de contact augmente et est de 60 min, le nombre de drépanocytes est encore plus bas. Cependant la baisse du nombre de drépanocytes de T1 à T2 n'est pas statistiquement significative car $p=0,26$.

Nous pouvons donc dire qu'au-delà de 30 min, le totum sec de la plante semble ne plus avoir d'activité.

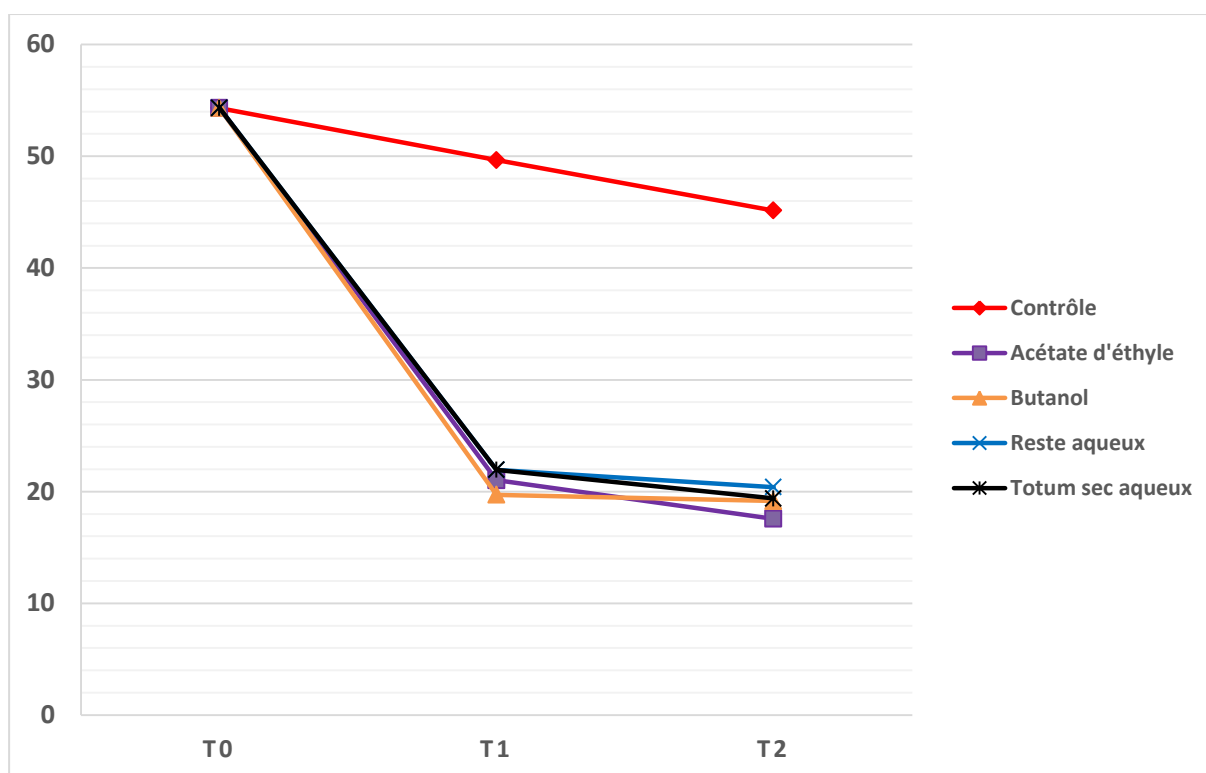


Figure 28 : Récapitulatif de l'activité des différents extraits

Les activités des différents extraits sont sensiblement égales.

DISCUSSION

I- ETUDE DU SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Le criblage phytochimique qualitatif montre la présence de plusieurs groupes chimiques à l'exception des tanins et des mucilages. Lors des réactions en tube, il a été mis en évidence la présence des substances chimiques telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les stérols et terpènes, les polyphénols en quantité considérable. Les coumarines sont à l'état de trace dans les extraits. Les mucilages, les tanins sont absents. Ces résultats sont superposables à ceux de Yannick T.M. et al [79] qui ont isolé au cours de leurs travaux sur les bulbes d'*Hypoxis angustifolia* et les feuilles de *Ipomea batatas* les mêmes groupes chimiques.

En effet Mpiana et al [53] au cours de leurs études ont trouvé que certaines plantes congolaises contiennent des anthocyanes en grande quantité. Ils ont également démontré que l'activité anti drépanocytaire de ces plantes serait due à la présence des composés anthocyaniques. D'autre part les études de Matar et al [52] sur les extraits de racines de *Leptadenia hastata* (*Asclepiadaceae*) ont mis en évidence l'action des flavonoïdes dans la réversion de la falciformation.

Il ressort de ce screening phytochimique que l'activité des graines de *C. cajana* serait liée à la présence des alcaloïdes, flavonoïdes [53] et des polyphénols [38].

Selon Ekeke et al [29], il y a une grande proportion d'acides aminés en particulier la phénylalanine (26,3%) dans les graines de *Cajanus cajan* qui serait responsable de l'activité antifalcémiant.

En 1991 dans une étude comparant les effets de la phénylalanine, de l'acide hydroxybenzoïque, et l'extrait total [5], il a été démontré que l'extrait total de *C. cajana* le même effet sur la falciformation des globules rouges que la phénylalanine mélangé à l'acide hydroxybenzoïque [57]. Cela laisse supposer que les composés actifs de *Cajanus cajan* seraient les deux cités précédemment (phénylalanine et acide hydroxybenzoïque).

II- ETUDE HEMATOLOGIQUE

II-1 Données Epidémiologiques

La population était constituée d'autant d'adultes que d'enfants avec une moyenne d'âge de 15,22 ans. Cette moyenne était superposable à celle rapportée par Yoffoua[80] dont la moyenne était estimée à 16 ans.

Cette répartition n'est pas en accord avec les études menées par Bassimbié et coll[11] ainsi que celles de Tada[73] qui ont montré une prédominance infantile chez les drépanocytaires majeurs SSFA₂. Par contre elle est en accord avec les études de Cabannes et coll[20] qui ont démontré que la drépanocytose homozygote se retrouve également à l'âge adulte.

L'âge maximum de notre population drépanocytaire était de 39 ans (**Tableau VIII**). Du fait de l'amélioration des conditions de prise en charge du drépanocytaire, on assiste à une augmentation de l'espérance de vie chez le drépanocytaire majeur SSFA₂. Les études menées par Platt et coll[65] en 1994 ont montré que 50% des patients drépanocytaires homozygotes vivent au-delà de 50 ans.

Les patients de sexe féminin (53%) prédominent dans notre étude. Cette prédominance féminine dans la drépanocytose est également rapportée dans leurs études par Bro[16] et Tanoh[75]. Contrairement à nos résultats, Aubry P. et Coll[9] ont signalé une prédominance masculine dans leurs études. Toutes ces différences étaient probablement dues à un biais d'échantillonnage. La maladie drépanocytaire est une maladie génétique à transmission autosomale récessive, elle n'est donc pas liée au sexe. Sa distribution s'effectue avec des particularités qui ne reflètent que la structure démographique de la population étudiée.

II-2 Données Biologiques

Les patients en général présentaient une anémie normochromenormocytaire (50%) ainsi qu'une hyperleucocytose et une thrombocytose (**Tableau IX**). Ces mêmes résultats ont aussi été relevés par Tada[73].

III- EVALUATION DE L'ACTIVITE DES EXTRAITS

III-1 Lot contrôle

Au niveau du lot contrôle nous avons constaté que le taux de drépanocytes est pratiquement stable, de T1 (49,65%) à T2 (45,15%) et que les drépanocytes n'avaient pas tendance à revenir à leur forme normale (**Tableau X**). Ces résultats se rapprochent de ceux de Lasme qui a trouvé un pourcentage de 2,45% à T1 et de 2,41% à T2. Cette variation de pourcentage pourrait être due à la dilution du sang qui était de 1/10^e dans notre étude et de 1/20^e dans celle de Lasme[49].

Le pourcentage de drépanocytes ne variait pratiquement pas au cours du temps.

III-2 Test avec les extraits de la plante

Il ressort des résultats obtenus que tous les extraits (acétate d'éthyle, butanolique, totum, extrait aqueux) sont actifs sur la réversibilité de la falciformation des globules rouges. Cette baisse du pourcentage des drépanocytes était très accentuée de T0 à T1 à environ 60%. Cependant de T1 à T2 cette baisse était non significative pour les extraits butanolique, le totum et l'extrait aqueux. Ces résultats sont superposables à ceux de Lasme[49] qui a trouvé une baisse des drépanocytes de 50% après 30 minutes de contact avec les extraits. Cependant seul l'extrait acétate d'éthyle a présenté une activité significative de T1 à T2. D'autres résultats comme ceux de Matar et al [52] ont

montré que c'était plutôt l'extrait méthanolique qui était plus actif avec une réversibilité de 80 % en 120 minutes. Les résultats du triphytochimique pourraient faire penser que l'activité de ces extraits serait due à la présence de groupes chimiques que sont les polyphénols, de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans ces extraits pourrait expliquer leur activité.

Dans une étude menée par Elekwa et al [30], il est ressorti que la phénylalanine qui appartient aux alcaloïdes stabilisait la membrane érythrocytaire des drépanocytes.

D'après une étude de 1978, la phénylalanine agirait en augmentant la solubilité de l'HbS (et donc en diminuant sa prise en gel) : à la concentration de 16 mM, la phénylalanine fait augmenter la solubilité de l'HbS de 7% et à la concentration de 32 mM de 12%. Lorsque la solubilité de l'HbS augmente, il y a moins de polymérisation et donc moins d'obstruction vasculaire [57]. Il semble également que la forme D de la phénylalanine présente le même type d'effet sur la solubilité ainsi que certains dipeptides : ceux associant la phénylalanine et le tryptophane et certains tripeptides [57].

Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes ont des propriétés anti-oxydantes qui peuvent s'avérer importante dans la drépanocytose qui est une maladie générant une quantité importante de radicaux libres [18, 50, 55, 77].

Ils agissent en diminuant l'oxydation de l'hémoglobine, la liaison des hémichromes à la membrane, protégeant la membrane de la peroxydation lipidique.

Quant aux anthocyanes qui sont des substances polyphénoliques, ils interagissent avec les protéines provoquant une réaction compétitive avec la réaction de polymérisation. Ce qui aurait pour conséquence le rétablissement de la forme normale des globules rouges [53].

Par ailleurs d'autres études ont montré que dans la graine de *Cajanuscajan* se trouve l'acide hydroxybenzoïque qui serait également doué d'activité antirépanocytaire[7].

CONCLUSION

Cajanus cajan a été décrite par les tradipraticiens de la pharmacopée africaine comme ayant des vertus thérapeutiques sur la drépanocytose.

Cette étude avait pour but d'évaluer l'activité des extraits acétate d'éthyle, butanolique, et l'extrait aqueux des graines de *Cajanus cajan* sur les cellules falciformes.

Le screening phytochimique réalisé montre que les alcaloïdes, les polyphénols, et les flavonoïdes pourraient être responsables de l'activité des extraits sur les drépanocytes.

Les tests biologiques ont également révélé que tous les extraits ont présenté une activité à la concentration obtenue à la limite de la solubilité, avec un taux de réduction d'environ 60 % au bout de 30 minutes. Cependant avec l'extrait acétate d'éthyle le nombre de drépanocytes est encore plus bas lorsque le temps de contact passe à 60 minutes. Cet extrait est le seul donc à continuer d'agir au-delà de 30 minutes.

Il ressort donc que les extraits des graines de *Cajanuscajan* ont une activité antidrépanocytaire. Ainsi les résultats corroborent l'utilisation ethnobotanique des graines de *cajanuscajan* et ces graines peuvent être conseillées aux drépanocytaires pour réduire les crises douloureuses.

Il est donc souhaitable qu'une étude soit réalisée sur ces différents extraits en vue d'évaluer l'activité antifalcimiant à l'aide d'autres tests biologiques.

Une étude plus approfondie serait d'étudier le rapport dose-effet de chaque extrait afin de déterminer l'extrait le plus actif.

RECOMMANDATIONS ET SUGGESTIONS

Aux partenaires techniques et financiers internationaux :

- Classer la drépanocytose parmi les priorités en matière de santé des populations et allouer des fonds aux pays émergents pour une prise en charge totale et gratuite des drépanocytaires.

Au ministère de la santé:

- Mettre en œuvre un programme national de lutte contre la drépanocytose et classer la drépanocytose parmi les priorités dans les actions du gouvernement en matière de santé ;
- Améliorer la fourniture des soins de santé : prise en charge clinique et au laboratoire à tous les niveaux du système de santé, dépistage néonatal, formation des professionnels de la santé, et mise au point de protocoles de traitement ;

Aux agents de santé :

- Eduquer les parents, en insistant sur les facteurs favorisant les crises vaso-occlusives, les règles hygiéno-diététiques, en particulier la nécessité d'une hydratation abondante, l'allaitement maternel ;
- S'assurer d'une bonne observance au traitement de la part des patients, en particulier l'antibioprophylaxie chez le plus jeune enfant, la chimioprophylaxie anti palustre et l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides, la prophylaxie anti anémique ;
- Prescrire systématiquement les vaccins contre au moins le pneumocoque, les salmonelles et le méningocoque aux patients ;

A la communauté :

- Favoriser une bonne insertion sociale des enfants drépanocytaires ;

- Aux parents de malades drépanocytaires : veiller à une bonne observance de la prévention des facteurs de risque et du traitement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- ADJANOHOUN E.J, AKE A, AHMED A et al

Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux Comores. Comores : rapport Paris : ACCT, 1979. P115

2- AGBA SD.

Profil lipidique du drépanocytaire de type SS_{FA2} en phase stationnaire. 118p Th Med.: Abidjan. UFR Sciences Médicales, 2004.

3- AKE A.

Médecine traditionnelle et pharmacopée Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à la Réunion : rapport Paris ACCT, 1977. P139

4-AKE A, GUINKO S.

Plantes utilisées dans la Médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest, Ed. , Bale : Roche-Basel, 1991.P151

5- AKOJIE F.O, FUNG V M.

Antisickling activity of hydroxybenzoic acids in *Cajanus Cajan* *Planta Medica*. 1992; 58: 317-319

6-ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. Saint Louis

An update of Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II *Botanical Journal of Linnean Society*.2003 ; 141 (4) : P399-436

7-ANNAIX V, THUILLIER A.

Le moniteur Internat hématologie.T3 Paris Ed. Groupe Liaisons, 2000, P1-36

8-ARBONNIER M.

Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest Paris : Editions QUAE, 2000.P 311-474

9-AUBRY P.

Etude comparée de la drépanocytose homozygote SS et du double hétérozygotisme SC chez l'adulte africain : à propos de 34 observations. *Med et Années*.1973;1 : 37-44

10-BARBOTIN M, DUCLOUX M.

Les Manifestations de la drépanocytose hétérozygote de l'adulte à Dakar. 6^{ème} conférence. Médecine Interne Afrique Oues, Abidjan. 1974.

11- BASSIMBIE J., FABRITUS H., SANGARE A. et al

Prévalence des hémoglobines S anormales dans la population infantile à Abidjan. Pub Med Afr. 1988; 90: P 23-26

12- BEET E A.

The genetics of sickle – cells trait in a Bantu tribale. Ann Eugenics. 1949; 14: P 275 –276

13- BEGUE P, ASSIMADI K.

Diagnostic de la drépanocytose et ses complications. In : La maladie drépanocytaire. Paris : Sandoz, 1984. P 78-95

14-BERNARD J., LEVY JP., VARET B.et al.

Abrégé d'hématologie. 5^{ème} éd. Revue. Paris: Ed. Masson, 1996 P 740-745

15- BEYEME O. M, CHIABI A.

Epidémiologie de la drépanocytose. Clinics in Mother and Child Health. 2004 ; 1 (1) : P6-8

16-BRO G.N

Bilan de coagulation de routine et dosage des facteurs de l'hémostase chez les drépanocytaires. 117p
Th. Pharm:Abidjan.UFR SPB, 2000, 456

17- BROU A. N.

Place des hémoglobinopathies dans l'étiologie des anémies chez les enfants de 6 mois à 14 ans suivis au CHU de Yopougon. 83p
Th. pharm: Abidjan: 2006, 1066.

18- BRUNETON J.

Phannocognosie : Phytochimie, Plantes médicinales
Paris : Editions Tee et Doc/ Lavoisier, 1999.1119p

19- BUNN H.F, FORGET B G.

Sickle cell disease. Clinical and epidemiological aspect; In: Bunn HF, and Forget BG, (Eds) Haemoglobin: molecular, genetic and chemical aspects.Philadelphia: WB Sanders Compagny, 1986. P 502

20- CABANNES R, SANGARE A, GARNIER A. et al

Physiologie de la drépanocytose. Méd Afr Noire. 1981 ; 28 (5) : 277 –284.

21- CHU DE YOPOUGON SERVICE D'HEMATOLOGIE CLINIQUE

Protocole de traitement des hémoglobinopathies. Abidjan, 2013

22- CLOSTRE F.

Physiologie de la drépanocytose. Objectifs Med. 1993 ; (121 – 122) :37-43.

23- DIALLO JS, WADE A. N'DIYE R et al

Manifestation oculaire de la drépanocytose. Paris: Sandoz, 1984. P 173 –178.

24- DIGGS L.V, AHMANN GF

The incidence and Significance of sickle cell trait.

Ann Intern Med .1933; 7: 767-768.

25- DIOP S., THIAM D., SENE A. et al

Association Drépanocytose-Déficit en G-6-PD : prévalence et influence sur le profil évolutif Méd. d'Afr. Noire, 2000; 47(7)

26-DOKEKIAS E.

Etude analytique des facteurs d'aggravation de la maladie drépanocytaire au Congo. Med. Afr Noire. 1996 ; 43 : 279-278.

27-DREYFUS B.

Hématologie. Paris : Flammarion, 1984. P276-278.

28- DUPONT A, BOUCHEZ P, LEBRAS M et al

La maladie drépanocytaire. Paris: Sandoz, 1984.P 203-207.

29- EKEKE G I, SHODE FO.

Phenylalanine is the predominant antisickling agent in Cajanus Cajun seed extract. Planta Medica. 1990; 56: 41-43

30- ELEKWA I, MONANU O.M., ANOSIKE O.E et al

Effects of aqueous extracts of Z.macrophylla roots on membrane stability of human erythrocytes of different genotypes Nigerian Society for Experimental Biology. 2005; 17 (1):7-12

31- EMBURY SH.

The Clinical pathophysiology of sickle cell disease.

Ann Rev Med; 1986, 37: 361-376

32- EMMEL V E.

A Study of the erythrocytes in case of severe anemia with sickle shape red blood corpuscles. Anch Inter. Med. 1993; 20:586-598.

33- ESSONO M.E, NKOA T.

Diagnostic et anomalies biologiques chez un drépanocytaire. Clinics in mother and child health. 2004; 1 (1): 12-20

34- FANY A, BONI S, ADJORLOLO C et al

La rétinopathie chez le porteur du trait drépanocytaire AS : mythe ou réalité ? J Tr Ophtalmologie 2004 ; 27. (Page consulté le 10- 11-2016)

< <File://G:\10/11/2016\ doc 10S02.ht ml>>.

35- FRENETTE, P. S. AND G. F. ATWEH et al

"Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise." J Clin Invest ,2007. 117(4): 850-858.

36- GENTILINI M.

Médecine tropicale. Paris : Flammarion, 1993.P 513-525

37- GENTILINIM, DUFO B.

Médecine tropicale Paris : Flammarion ,1996. P 460-469.

38-GHOSH D, SCHEEPEENS A.

Vascular action of polyphénols.

Molecular Nutrition and Food Resarch. 2009 ; 53: 322-331

39- GIROT R.

Les mesures thérapeutiques préventives dans la drépanocytose et le traitement de la crise drépanocytaire. Vie Méd. 1982 ; 16 : 23-25.

40- GIROT R,BEGUE P, GALACTEROS F et al

La drépanocytose .Paris : Editions John Libbey Eurotext, 2003.323p

41- HAHN EV, GILLEPSIE EB

Sickle cell anemia. Report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental Study of sickle cell formation.

Arch Intern Med. 1927; 39: 233 –234

42- HERRICK J.B.

Peculiar elongated and sickle shaped med blood corpuscles in case of sever anemia. Arch Inter Med. 1910; 6: P 512 – 517

43- HEYWOOD V.H.

Les plantes à fleurs-306 familles de la flore mondiale

Paris: Editions Fernand Nathan, 1996

44- INGRAM VM.

Gene in human haemoglobins III: The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobins. Biochim Biophys Acta .1959; 36: 402-411.

45- KAFANDO E, LENA D. les techniques du diagnostic biologique. Journées de formation des Médecins sur la drépanocytose, Ouagadougou 2012, P 36

46- KAPLAN E.

La drépanocytose: Effet antifalcimiant du vanadium associé à d'autres oligo-éléments. Afr Med. 1974 ; 13 : 311-316.

47- KOCH AA, YANG Q, OLNEY RS et al

Sickle hemoglobin allele and sickle cell disease: A HuGE review.

Am JEpidemiology. 2000 ; **151**(9): 839–845

48- LABIE D, WAJCMAN H.

Biologie de l'hémoglobine S. Epidémiologie et génétique. Physiopathologie. Biologie clinique. Diagnostic anténatal. Paris : editions sandoz, 1984. P 14-63.

49-LASME M.

Etude phytochimique et évaluation de l'effet antifalcimiant des graines de *Cajanus cajan* (fabacées), Une plante utilisée en médecine de tradition Africaine. 103p

Th. Pharm: Abidjan, UFR SPB, 2013, 1644

50- MARFAK A.

Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides.

Th Pharm : Limoge, 2003

51- MARIEB E.N, KATJA H.

Anatomie et physiologie humaine, Paris :

8^e ed. Nouveaux Horizons, 2010. P 731-736

52-MATAR S, CHEIKH S, PAPA M. G et al

Etude de l'activité antifalcémiant d'extraits de racines de *Leptadenia astata* Decne (*Asclepiadaceae*). International.

Journal of Biological and Chemical Sciences. Juin 2015; 1375-1383.

53- MPIANA P.T, MUDOGOK.N, NGOLUA D.S et al

In vitro Antisickling Activity of Anthocyanins Extracts from *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae), In: Gupta V.K., Singh G.D., Medicinal Plants: Phytochemistry, Pharmacology and Therapeutics.

Delhi: Daya Publishing house, 2010, P 330-337

54- NAGPA LKC, ASDOURIAN GK, PAHANAKOS D. et al

Proliferative retinopathy in sickle cell trait. Arch.

Intern Med. 1997; 137: 328-338

55- NAN W, KUANG F, YU-JIE F et al

Antioxidant activities of extracts and main components of pigeon pea *Cajanus cajan* (L.) leaves. Molecules. 2009; 14: 1032-1043

56- NEEL JV.

The clinical detection of the genetic carries of unherited disease.

Medicine. 1947; 26: 115-123.

57- NOGUCHI CT, SCHECHTER A.N.

Inhibition of sickle hemoglobin gelation by amino acids and related

American Chemical Society. 1978; 17 (25): 5455-5459

58- OLIVER M, RAGOT C, MOALIC J.L et al

Hémoglobinopathies.

Paris : Sandoz, 1984 : P78 – 95.

59- OLIVER M, WOLF A, ROCHE C, et al

Hémoglobinopathie. Diagnostic au laboratoire. Méd. Trop., 2011,71, P217-222.

60- OMS. Genève

Drépanocytose 59ème assemblée mondiale de la santé - point 11.4 de l'ordre du jour provisoire 2006, WHA59.20 (consulté le 11-10-2016)

<[http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf files/WHA59/A59 R20-fr.pclf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA59/A59_R20-fr.pclf)>

61-OMS. Genève

La drépanocytose dans la région africaine : situation actuelle et perspectives
Comité régional de l'Afrique 56ème session - point 8.11 de l'ordre du jour provisoire Addis Abéba, 2006, AFR/RC56/17 (consulté le 11-10-2016)

<<http://afrolib.afro.who.int>>

62-ONU. New York

La drépanocytose, priorité de santé publique

2008, N63/L.63/RES/63/237: (consulté le 20/03/2017)

<<http://jdaccessdds.un.org> >

63-OUA.Addis- Abeba

Pharmacopée Africaine :Méthodes générales d'analyses. Lagos : OUA, 1988.

(Consulté le 18/07/2017) <[http// : www.etnopharmacologia.or](http://www.etnopharmacologia.or)>

64-PAULING L, ITANO HA, SINGER SJ et al.

Sickle cell anaemia a molecular disease.Science. 1946; 110: P543-548.

65- PLATT OS, BREMBILLA DJ, ROSSE WF et al.

Mortality in sickle cell disease. Life expechancy and risk factors for early death.
Engl J Med. 1994 ; 330(23):1639-1644

66- POUSSET J-L.

Plantes médicinales d'Afrique. Comment les reconnaitre et les utiliser
Paris: Ed. Edisud, 2004. P57.

67-REYNAUD R.

Manifestations pathologiques liées au trait drépanocytaire.

Med Trops. Mars 1959 ; 19 : P542-549.

68-SANGARE A, KOFFI KG, ALLANGBA O et al.

Etude comparative du Ketoprofène et de la Buprenorphine dans le traitement des crises douloureuses drépanocytaires. *Med. Afr. Noire.* 1998 **4**: P138–143

69- SCHAFFLER, MENCE N.

Anatomie Physiologie Biologie. 2^{ème} éd. Paris : Maloine, 2004. P239

70-SEBAHOUN G.

Thalassemie, drépanocytose. *Rev Prat.* 1997 ; 47 : 18-20.

71- SERJEANT GR.

The liver. Sicle Cell Disease.

New York: Oxford University Press, 1985: P100-107

72- SOFOWORA A.

Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique.

Paris: Ed. karthala. 1996. P 378

73- TADA J.P.

Intérêt de la détermination de réticulocytes de stress chez les drépanocytaires majeures homozygotes en crise ou en phase stationnaire. 113p

Thèse Pharm: Abidjan. UFR SPB, 2009, 1320.

74- TAMINI S.F.B.

Techniques électrophorétique. Journées de formation des

Médecins du Burkina sur la drépanocytose. Ouagadougou 2012 : P45

75- TANOH EES

Etude des sous-populations lymphocytaires T CD3, CD4 et CD8 chez le patient drépanocytaire homozygote SSFA2. P179-198

Th. Méd: Abidjan, UFR Sc Méd, 2000, 2533

76- VOTANO JR. ALTERMAN J.

Potential use of bioromatic L. phenylalanyl derivatives as therapeutic agent in the treatment of sickle cell disease.

Proc – Natl Acad Sci. 1984; 81(10): 190-3194.

77-WEI L. U, YUJIE F.U, YUANGANG Z.U et al

Negative-pressure cavitation extraction for the determination of flavonoids in pigeon pea leaves by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Journal of Chromatography A. 2009; 1216: 3841-3850

78-WEATHERALL DJ, CLEGG JB.

Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bulletin of the WHO. 2001 ; 79: 704-712.

79- YANNICK T.M.

Activité anti drépanocytaire et stabilité physico-chimique des anthocyanes extraits des bulbes d'*hypoxis angustifolia* et des feuilles d'*ipomoea batatas*, P21 Mém. Licence Sciences Chimiques, Université de Kinshasa, 2011

80-YOFFOUAA.

Syndrome des antiphospholipides et drépanocytose : à propos de 100 sujets homozygotes SSFA2 suivis au CHU de Yopougon. 124p Th. Pharm: Abidjan. UFR Sc Pharm Biol, 2001, 650

ANNEXES

Tableau XV : Liste des patients

PATIENS	ETHNIE	AGE	SEXE	GROUPE SANGUIN	TYPE D'Hb	N° DOSSIER
1	Dida	16 ans	F			
2	Baoulé	9 ans	M			5152
3	Koulango	9 ans	M			4174
4	Baoulé	2 ans 4 mois	M			7856
5	Baoulé	7 ans	M			6313
6		11 ans	F			
7	djokavomé	7 ans	F			7500
8	Ibo	15 ans	M			
9	Bissa	13 ans	F			3785
10	Malinké	25 ans	F			
11	Bété	35 ans	M			1104
12	Attié	22 ans	M			7232
13	Peul	27 ans	F			5401
14	Malinké	11 ans 6 mois	F			7329
15	Yorouba	18 ans	F			5169
16	Guérré	21 ans	F			439
17	Agni	21 ans	M			2384
18	Baoulé	19 ans	M			1613
19	Malinké	20 ans	F			3033
20	Malinké	11 ans	F			7382
21	Mahouka	39 ans	M			7437
22	Baoulé	10 ans	M			7373
23	Baoulé	12 ans	F			
24	Ebrié	20 ans	F			1287
25	Agni	4 ans	M			
26	Yorouba	14 ans	F			6140
27	Baoulé	2 ans 4 mois	M			7539
28	Baoulé	22 ans	F			
29	Kotokoli	4 ans	M			
30	Sénoufo	25 ans	M			6443
31	Baoulé	16 ans	F			7518
32	Agni	31 ans	F			6851

Tableau XVI : Pourcentage des différentes fractions de l'hémoglobine

Patients	Fract F	Fract S	Fract A ₂
1	10,1	87,3	2,6
2	13,9	83,6	2,6
3	6,2	89,9	3,9
4	7,6	88,2	4,2
5	6,7	91,5	1,8
6	9,4	88,3	2,3
7	13	84	3
8	9,8	87,7	2,5
9	6,7	90,3	3,1
10	6,8	90,6	2,6
11	4,7	92,1	3,2
12	4,8	93	2,1
13	10,7	87,9	1,4
14	9,9	87,7	2,4
15	11,4	86,2	2,4
16	5,2	92,4	2,4
17	6,4	91,9	1,7
18	5,9	91,8	2,3
19	11,5	86,9	1,5
20	16,4	82,2	1,4
21	5,1	93,4	1,5
22	15,1	83,6	1,3
23	5,8	92,2	2
24	12,8	84,7	2,4
25	5,1	93,4	1,5
26	17	81,9	1,1
27	4,5	92,5	3
28	14,1	83,4	2,4
29	6,6	90,8	2,6
30	5,6	92,1	2,3
31	8,5	88,8	2,7
32	9,2	89,2	1,6

Tableau XVII : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps après ajout de l'extrait acétate d'éthyle.

Patients	T0	T1	T2
1	37,78	14,46	10,24
2	56,06	18,44	4,69
3	82,96	13,35	4,57
4	83,69	7,04	9,56
5	35,31	5,93	6,43
6	46,26	39,94	33,12
7	97,22	24,13	24,80
8	43,91	27,51	32,40
9	38,52	14,16	22,54
10	50,95	28,66	11,67
11	24,06	34,87	29,04
12	35,92	36,12	19,76
13	32,93	13,31	17,80
14	43,93	20,61	14,79
15	63,27	30,52	29,89
16	46,51	30,83	33,61
17	18,99	26,71	24,32
18	70,4	23,10	25,71
19	51,85	28,61	23,36
20	46,31	32,56	23,55
21	77,62	20,71%	18,11
22	83,42	24,40	10,34
23	22,88	11,71	18,18
24	56,06	15,31	10,65
25	78,51	19,63	16,59
26	70,92	19,47	17,00
27	75,92	20,64	11,48
28	91	20,64	9,85
29	45,53	17,73	13,95
30	24,6	15,14	16,43
31	61,33	12,67	11,67
32	43,58	3,90	6,41

Tableau XVIII : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps
après ajout de l'extrait butanolique

Patients	T0	T1	T2
1	37,78	17,49	7,43
2	56,06	5,66	2,65
3	82,96	10,92	5,52
4	83,69	12,42	4,80
5	35,31	7,28	6,91
6	46,26	24,54	20,11
7	97,22	25,65	20,25
8	43,91	23,42	18,64
9	38,52	31,60	31,27
10	50,95	12,85	18,83
11	24,06	30,57	25,08
12	35,92	27,89	25,14
13	32,93	16,77	26,28
14	43,93	15,42	29,06
15	63,27	30,25	33,21
16	46,51	40,72	28,93
17	18,99	24,31	27,02
18	70,4	22,25	23,19
19	51,85	28,82	24,80
20	46,31	29,85	33,25
21	77,62	27,89	19,80
22	83,42	15,81	11,73
23	22,88	25,61	24,44
24	56,06	19,90	21,74
25	78,51	15,74	22,48
26	70,92	12,65	16,56
27	75,92	15,97	15,07
28	91	17,22	16,36
29	45,53	16,00	25,36
30	24,6	15,93	18,22
31	61,33	4,62	2,76
32	43,58	4,67	5,57

Tableau XIX : Pourcentage des cellules falciformes en fonction du temps (contrôle)

Patients	T0	T1	T2
1	37,78	50,21	45,68
2	56,06	45,78	32,8
3	82,96	48,01	44,28
4	83,69	35,5	38,9
5	35,31	43,31	42,55
6	46,26	53,11	51,44
7	97,22	54,05	53,46
8	43,91	43,03	51,58
9	38,52	42,97	45,74
10	50,95	53,8	12,78
11	24,06	37,88	31,3
12	35,92	48,81	19,72
13	32,93	27,19	27,51
14	43,93	45,64	14,95
15	63,27	35,28	38,06
16	46,51	43,08	44,53
17	18,99	61,01	63,28
18	70,4	60,4	61,48
19	51,85	57,5	54,13
20	46,31	50,13	22,73
21	77,62	51,79	60,47
22	83,42	54,26	49,51
23	22,88	55,17	56,33
24	56,06	62,53	61,29
25	78,51	67,32	64,54
26	70,92	67,33	63,16
27	75,92	61,36	62,65
28	91	70,23	69,24
29	45,53	38,11	38,98
30	24,6	29,68	31,26
31	61,33	47,54	48,72
32	43,58	46,93	41,87

NOTICE D'INFORMATION DU PATIENT

« ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'EFFET ANTIFALCIMIANT DES EXTRAITS ACETATE D'ETHYLE, BUTANOLIQUE ET EXTRAIT AQUEUX DE GRAINES DE CAJANUS CAJAN (FABACEES), UNE PLANTE DE LA PHARMACOPEE TRADITIONNELLE IVOIRIENNE »

Madame/Monsieur/Chers Parents

Nous avons le plaisir de vous inviter à participer à une étude sur l'évaluation de l'effet antifalcimiant et étude phytochimique des graines de *Cajanus cajan* (Fabaceae) qui est une plante utilisée en médecine de tradition africaine. Avant de participer à l'étude nous souhaitons que vous preniez connaissance de ce document qui fournit toutes les informations relatives à son déroulement.

1. BUT DE L'ESSAI

Notre objectif est d'évaluer in-vivo l'effet antifalcimiant des graines du pois d'angole.

2. ENCADREMENT ET PROTECTION DES PATIENTS

Votre participation ou celle de votre enfant est libre. Vous pouvez à tout moment vous réserver le droit d'interrompre votre participation et/ou celle de votre enfant sans que cela n'affecte la qualité des soins auxquels vous ou votre enfant avez droit, ni votre relation avec votre médecin.

3. DEROULEMENT DE L'ETUDE

Si vous remplissez les critères de sélection pour cette étude et acceptez d'y participer, vous devrez signer le consentement éclairé ci-joint pour confirmer votre accord.

Voici la liste des examens qui seront effectués au cours de cette étude :

3.1 Examens

Les jours de la consultation un prélèvement de quelques millilitres de sang sera effectué pour une numération globulaire et une électrophorèse de l'hémoglobine.

La numération globulaire vous sera fournie gratuitement.

Vous ne toucherez aucune compensation financière pour participer à cette étude.

3.2 RECOMMANDATIONS PRATIQUES

Si actuellement, vous ou votre enfant prenez des médicaments, il est important que vous le signaliez au médecin.

4. CONFIDENTIALITE

Les informations médicales recueillies dans le cadre de cette étude seront traitées de façon anonyme et confidentielle. Seuls, le numéro de patient et vos initiales figureront dans votre dossier médical qui pourra être consulté, après accord du Directeur, seulement par des représentants du Ministère de la Santé et de la Lutte Contre le SIDA, à des fins de validation, d'audit ou d'inspection.

INVESTIGATEUR :

KOUAKOU JUSTIN STANISLAS

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

M. /Mme/Mlle

.....

Dr m'a proposé de participer à l'étude
« Etude phytochimique et évaluation de l'effet antifalcimiant des extraits acétate d'éthyle,
butanolique et extrait aqueux de graines de *cajanus cajan* (fabacees), une plante de la
pharmacopée traditionnelle ivoirienne».

J'ai compris après les informations reçues l'intérêt de cette étude.

J'en ai discuté avec le personnel médical et/ou paramédical qui m'a expliqué les avantages et
les contraintes de cette étude.

J'ai notamment bien compris que je suis libre d'accepter ou de refuser cette proposition, sans
en être inquiété(e) et en continuant à bénéficier des mêmes prestations de services dans la
structure sanitaire qui m'accueille.

J'accepte donc librement de participer à cette étude.

J'autorise que les données confidentielles qui me concernent soient consultées et analysées
par les personnes qui collaborent à cette évaluation et qui sont tenues au secret médical.

Fait à Abidjan le /.... /....

Code du patient :

Signature

Je soussignée, Mr....., certifie avoir expliqué à la
personne susnommée, l'intérêt et les modalités de participation à notre étude. Je m'engage à
faire respecter les termes de ce formulaire de consentement, les droits et libertés individuels
ainsi que les exigences d'un travail scientifique.

Fait à Abidjan le /.... /....

Signature

Fiche d'enquête

I-Données sociodémographiques

Nom : / Prénoms :

Âge : / Sexe : M/ F//

Région d'origine : / Profession :

Nationalité : / Ethnie :

Type d'habitation :

1-Etage ://2-RDC :// 3-Villa :// 4-Cour commune :

Profession du père :// Profession de la mère :

II-Données cliniques

1-Forme de drépanocytose : //2-Age de la découverte.....//

3-Facteurs déclenchant la crise : a-Froid :// b-Fièvre :// c-Effort :

4 : Fréquence des crises :

Année : a- Une fois :// b-Deux fois :// c-Trois fois :

5- Horaires de survenue :

a-Nocturne :// b-Diurne :// c-Type de crise :

d-Siège de la douleur :

6-Facteurs calmant la crise :

a-Antalgique :// b-AINS :// c-Dérivée morphique :

d-Traitement traditionnel :// Durée : e-Autres gestes :

7-Suivi :

a-Régulier : Oui.....// Non.....//

b-Nombre de consultations par an : a-Mensuel :// b-Semestriel :

Un médecin généraliste :// Un autre spécialiste :

Un infirmier :// Un hématologue :

III-Données du Laboratoire :

1-Hémogramme :

Paramètres	Valeurs	Valeurs normales	Unités
GR			
Hte			
Hb			
VGM			
CCMH			
TCMH			
PQ			
GB			
PNN			

IV-Données thérapeutiques :

A-Phase critique :

1-Transfusion sanguine :

a-Culot globulaire :// b :Sang total ://

2-Traitement de fond :

a-Paracétamol :// b-Dextropropoxyphene + Paracétamol ://

c-Tramadol :// d-Morphine ://

e-AINS :// f-Vasodilatateur ://

3-Anti-anémique :

a-fer :// b-fer+acide folique ://

V-Bilan de suivi :

1-Macroalbumine :// 2-Rx pulmonaire :// 3-Fond d'œil :/

Numération formule sanguine (NFS)

CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE YOPOUGON
LABORATOIRE CENTRAL

PLATEFORME TECHNOLOGIQUE ABBOTT

NB: Un résultat présenté sous la forme .X equivaut à 0.X

Page Routine

ID échant. 007

Nom patient AGULONU PRAISE

ID patient

Médecin

Commentaire

Type échant. Patient

Né(e) le

D/H prélèv.

Champ util.1

Champ util.2

Sexe Féminin

17/8/2015 0:00

Séq. n° 7090 ID op. Invité

Rép. 17/8/2015 9:48

Test CBC

Mode Ouvert Page 1

Limites Féminin (3)

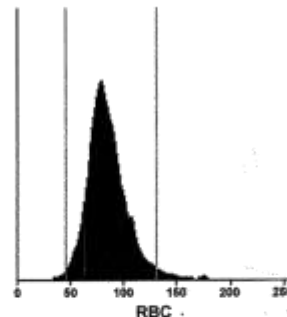
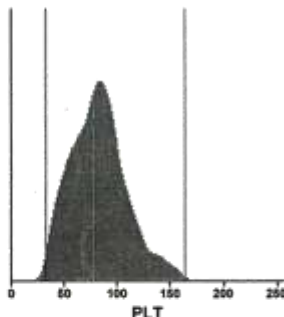
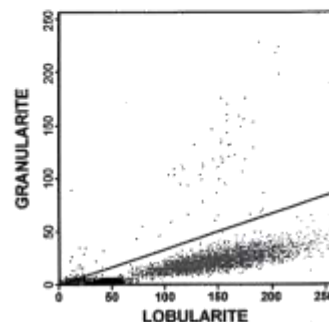
SUSPECT

WBC	<u>17.3</u>	10e3/uL	
NEU	<u>7.02</u>	<u>40.5</u>	%
LYM	<u>8.18</u>	<u>47.2</u>	% VAR LYM
MONO	<u>1.76</u>	<u>10.2</u>	% NWBC
EOS	<u>.102</u>	<u>.587</u>	%
BASO	<u>.265</u>	<u>1.53</u>	%

RBC MORPH

RBC	<u>2.71</u>	10e6/uL	
HGB	<u>7.96</u>	g/dL	
HCT	<u>24.3</u>	%	
MCV	<u>89.6</u>	fL	
MCH	<u>29.4</u>	pg	
MCHC	<u>32.8</u>	g/dL	
RDW	<u>19.0</u>	%	

PLT	<u>474.</u>	10e3/uL	
MPV	<u>6.83</u>	fL	



LIMITES

WBC	4.00-10.0	RBC	4.00-5.40	PLT	200.-400.
NEU	1.70-7.00	HGB	12.0-16.0	MPV	6.90-10.6
LYM	1.50-4.00	HCT	35.0-47.0		
MONO	.100-1.00	MCV	80.0-100.		
EOS	0.00-.400	MCH	27.0-31.0		
BASO	0.00-.050	MCHC	32.0-36.0		
		RDW	11.5-14.5		

INTERPRETATION

-----WBC-----RBC-----PLT-----

POPULATIONS ANORMALES SUSPECTEES :
Lymphocytes atypiques Morphologie RBC
NWBC

ANOMALIES DEFINIES PAR L'UTILISATEUR :

Leucocytose	Anémie	Thrombocytose
Neutrophilie	Anisocytose	Petites plaquettes
Lymphocytose		
Monocytose		
Basophilie		

RESUME

Justification : Maladie génétique, la drépanocytose ne peut être guérie que par une greffe de moelle osseuse. L'intérêt porté à la pharmacopée traditionnelle dans le traitement de la drépanocytose découle de la promesse de guérison faite par les tradipraticiens et du coût onéreux des médicaments.

Objectif : Evaluer l'activité antifalcimiante des extraits acétate d'éthyle, butanolique et de l'extrait aqueux de graines de *Cajanus cajan*.

Matériels et méthodes : Des extraits acétate d'éthyle, butanolique et extrait aqueux de graines de *Cajanus cajan* et des échantillons de sang frais prélevés chez 32 drépanocytaires homozygotes SSFA₂ ont été utilisés pour la réalisation du triphytochimique et l'appréciation de l'activité antifalcimiante en utilisant le test d'Emmel.

Résultats : Les extraits de graines de *Cajanus cajan* renferment de nombreux composés. Parmi ceux-ci, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les polyphénols seraient responsables de l'activité antifalcimiante observée.

A la concentration maximale de solubilité, tous les extraits ont présenté une réduction du taux de falciformation d'environ 60 % au bout de 30 minutes.

Cependant avec l'extrait acétate d'éthyle le nombre de drépanocytes est encore plus bas lorsque le temps passe à 60 minutes. Cet extrait est donc le seul à continuer d'agir au-delà de 30 minutes.

Conclusion : Dans les conditions expérimentales, les extraits acétate d'éthyle, butanolique et extrait aqueux ont démontré une activité antifalcimiante équivalente à celle de la solution mère. Ces résultats plaident en faveur de l'utilisation des graines de *Cajanus cajan* dans l'alimentation du drépanocytaire afin de réduire la survenue de crises douloureuses.

Mots clés :Extraits de *Cajanus cajan*- Drépanocytose - Antifalcimiant- Côte d'Ivoire.