

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION
NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)

Année universitaire: 2005-2006

N°...

TITRE :

Les lectines ayant une spécificité GalNac

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 2005 devant la Faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali

Par Monsieur **Kalilou Mahamane Ali Dit Boulo**

Pour obtenir le grade de DOCTEUR en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Professeur Moussa Harama

Membre : Docteur Guindo yacine Gakou

Co-Directeur : Professeur Drissa Diallo

Directeur : Professeur Anatole Tounkara

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 – 2006

ADMINISTRATION

DOYEN : Anatole TOUNKARA - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : Drissa DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR : Sekou SIDIBE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL -

CONTROLEUR DE FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie-Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo- phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mamadou Dembele	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E. R & PAR GRADE

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie–Traumatologie. Chef de D.E.R
Mr Kalilou OUTTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie- Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Filifing SISSOKO
Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Mamadou L DIOMBANA

Chirurgie Générale
Orthopédie – Traumatologie
Anesthésie - Réanimation
Orthopédie – Traumatologie
Ophtalmologie
Stomatologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Sadio YENA
Mr Issa DIARRA
Mr Youssef COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Zimogo Zié SANOGO

Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale et Traumatologie
Gynéco-obstétrique
Anesthésie -Réanimation
ORL
ORL
Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Tiemoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA

Anesthésie-Réanimation
Anatomie & Chirurgie Générale
Urologie
Orthopédie-Traumatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie- Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie-Traumatologie
Urologie
Gynécologie-Obstétrique
Odontologie
Odontologie
ORL

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Siné BAYO
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yéniomégué Albert DENBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Massa SANOGO

Chimie Générale & Minérale
Anatomie-Pathologie-Histoemryologie
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie- Mycologie
Chimie organique
Immunologie **Chef de D.E.R**
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Chimie Analytique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Mamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
MR Abdoulaye DABO	Malacologie-Biologie animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdourahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie-Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

Mr Mangara M. BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie moléculaire médicale
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie parasitologie
Mr Boubacar TRAORE	Immunologie
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie Chef de D.E.R
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie- Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIABATE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou B.CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Soungalo DAO	Maladies Infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Néphrologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE Chimie analytique, **Chef de D.E.R**

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie
Mr Alou KEITA Galénique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE Chimie Analytique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique
Mme Rokia SANOGO Phamacognosie

5. ASSISTANTS

Mr Saïbou MAIGA Législation
Mr Ousmane KOITA Parasitologie Moléculaire

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. MAITRE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A MAIGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie
Mr Oumar THIERO Biostatistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N’Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD	Pathologie Infectieuse
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie

Dédicace

A Allah le miséricordieux pour nous avoir donné par sa grâce la santé et le temps nécessaire pour réaliser ce travail.

Au prophète Mohamed (paix et salut à son âme)

A mon père Mr Kalilou Mahamane : Je n'oublierai jamais vos sages conseils qui m'ont beaucoup aidé dans tout ce que j'entreprends.

Je ne sais pas comment vous remercier.

Je pense que ce travail vous réconforterait

A ma très chère mère Fatouma Tiémogo : Ce travail est le fruit de vos tant d'années d'efforts que vous n'avez cessés de déployer pour la réussite de vos enfants.

Chère mère merci, merci pour tout.

A mes frères et sœurs : Marie, Haoua, Balkissa, Hamidou, Ibrahim, Youssouf, Ramatou.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réussite de ce travail, notamment :

Aux personnels du CNTS et de l'INRSP de Bamako (Mali)

A mes aînés du CNTS

A mes camarades du CNTS et du DMT : Tolo Mahamadou, Dembele Nagazanga, Berthé Fatoumata, Tangara Fatoumata, Traoré Hamidou, Coulibaly Djibril, Goita Abdoul-Karim, Diallo Ali, Dembele Aboubacar, Arama Dominique, Sidibé Oumar, Traoré Mariam Cheick, Guindo Issiaka, Diarra Yacouba, Mme_Diarra Mamou Diabaté, Siabana Abdoulaye, Sambo Halima Moumouni, Daddy Saadatou M, Niaré Aminata.

A mes cadets du CNTS

A la communauté estudiantine Nigérienne au Mali

A la famille Sadou M. Diallo

A la famille Aliou A. Maiga

A la famille Oumar A. Maiga

A la famille Seybou H. Diallo

A la famille Diabaté

A la famille Tangara

Aux familles : Bary, Sow, Dicko à Macina, Bamako et Niamey (Niger)

A la famille Daouda Baoua à Niamey

A mes grands parents, oncles, tantes, cousins et amis de Niamey

Mention spéciale

Au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS).

A l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

A l'Université de Bamako, notamment à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

A l'Université d'Oslo à travers le projet CNRST – NUFU Plantes Médicinales

Au Dr Adama Sangaré du laboratoire des infections sexuellement transmissibles de l'INRSP pour nous avoir aidé à l'extraction et la centrifugation des extraits.

A mon tuteur : Mr Sadou M Diallo.

A mes grands frères : Dr Aliou A Maiga, Dr Seybou H Diallo et Ibrahim E Guidado.

A mes voisins du Point G : Abdoulaye Dicko, Mourtala Assao et autres.

A ma tante Rahina Assogba

A mon cousin Bakari Doumbia

A mon petit frère Hamidou Kalilou

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury :

- Professeur **Moussa Harama**
- Professeur titulaire de chimie organique
- Chargé des cours de chimie organique

Avoir accepté de siéger à ce jury constitue pour nous un grand honneur.

Tout au long de votre enseignement, vos qualités d'homme de science et votre sens des relations humaines ont forcé notre admiration.

Recevez cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et Directeur de thèse :

- Professeur **Anatole TOUNKARA**
- Professeur titulaire d'Immunologie.
- **Elu Doyen de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.**
- Chef DER science fondamentale
- Responsable des cours d'immunologie.
- Directeur du Centre National de Transfusion Sanguine.
- Directeur du Projet Anti-VIH à la FMPOS.

Honorable maître vous nous avez accueilli à bras ouvert en nous confiant ce travail.

Vous n'avez ménagé ni votre temps, ni votre énergie pour nous guider dans sa réalisation.

Nous avons toujours apprécié votre rigueur scientifique et vos qualités humaines.

Veillez retrouver cher maître, notre profonde gratitude.

A notre maître et co-Directeur de thèse :

- Professeur **Drissa DIALLO**.
- Maître de conférence agrégé en pharmacognosie.
- Elu Vice Doyen de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
- Responsable des cours de pharmacognosie à la FMPOS.
- Chef du Département de Médecine Traditionnelle.

Epris du travail bien fait, vous n'avez ménagé aucun effort pour créer les conditions nécessaires à notre encadrement.

Votre rigueur dans le travail et votre désir de transmettre le savoir ont forcé notre admiration.

Recevez cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge

- Docteur **Guindo Yacine Gakou**
- Spécialiste en hématologie et immunologie
- Médecin de collecte au Centre National de Transfusion Sanguine

Nous avons bénéficié de vos précieux conseils et surtout apprécié votre sérieux dans le travail et votre entière disponibilité.

Trouvez dans ces lignes nos sincères remerciements.

Sommaire

Première partie :

Introduction	2
Objectifs	4

Deuxième partie :

Revue de la littérature	6
-------------------------------	---

Troisième partie : **Notre étude**

Matériels et Méthodes	27
Résultats et Analyses	43
Commentaires et Discussions	50
Conclusion	54
Références bibliographiques	56

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

Coll : collaborateur

GalNac : N-acétylgalactosamine

cm : centimètre

mm : millimètre

g : gramme

µg : microgramme

µg/ml : microgramme par millilitre

g/ml : gramme par millilitre

l : litre

ml : millilitre

µl : microlitre

km : kilomètre

m : mètre

cc : centimètre cube

% : pourcent

°C : degré Celsius

mn : minute

trs/mn : tours par minute

DMT : Département de Médecine Traditionnelle

INRSP : Institut National de Recherches en Santé Publique

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

Première partie

I INTRODUCTION

Les lectines sont des protéines d'origine animale ou végétale, capables de se fixer de façon spécifique et réversible aux résidus osidiques des membranes cellulaires sans pour autant exercer une activité enzymatique (Bruneton, 1993).

Notons que la toute première description des lectines fut faite en 1888 par Stillmark dans un rapport soumis à l'université de Dorpat en Estonie.

En effet, il mit en évidence l'activité agglutinante de la lectine du *Ricinus communis* sur des hématies humaines (Sharon, 1972).

A partir de ce moment, de nombreux travaux furent consacrés aux lectines.

Ainsi, en 1919, James mit au point la purification des lectines à partir de la concanavoline A ; ce qui facilita leur usage dans le domaine de la recherche (Sharon, 1972).

Ce n'est qu'en 1945 que Boyd et Reguera parvinrent à déterminer la spécificité des lectines à pouvoir agglutiner les globules rouges sanguins.

Ces derniers découvrirent la première lectine spécifique au groupe sanguin A, extraite des graines du *Phaseolus limensis* (Race et Sanger, 1970).

La subdivision du groupe sanguin A en sous-groupe A1(80%) et A2(20%) fut réalisée à l'aide de la lectine du *Dolichos biflorus* qui agglutine spécifiquement les hématies A1 (Bird, 1951).

Aussi, il a été démontré que certains sujets du groupe A2 peuvent avoir des anticorps anti A1 ; ces derniers ne doivent être transfusés qu'avec des globules rouges A2 (Chassaigne, 1980).

Au Mali, le Centre Nationale de Transfusion Sanguine réalise la recherche du groupe sanguin A2 à l'aide d'anticorps monoclonal anti A1 ou de lectine végétale (*Dolichos biflorus*) qui agglutinent fortement les hématies A1 et faiblement les hématies A2.

De ce fait, la recherche d'une phytoagglutinine plus sélective dans le groupe sanguin A à partir de la flore malienne pour renforcer les réactifs déjà utilisés ne pourrait qu'améliorer la qualité et la disponibilité des tests de groupage.

Surtout que la majorité des lectines végétales proviennent des légumineuses qui sont représentées par 17000 espèces réparties un peu partout dans les régions chaudes (Makela, 1957 ; Guignard, 1996).

Le Mali pourrait être une réserve riche en lectines à activité agglutinante vis à vis des hématies ou autres cellules humaines.

C'est pourquoi, nous avons entrepris cette étude réalisée en partie au Centre National de Transfusion Sanguine et au Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP dans le but de trouver dans la flore malienne des lectines à activité agglutinante sur les hématies humaines.

Pour y parvenir, nous avons envisagé d'étudier l'activité des extraits de quatre plantes sur des hématies du groupe A ; il s'agit de : *Arbrus precatorius*, *Erythrina senegalensis*, *Cassia alata* et *Swartzia madagascariensis*.

II Objectifs

1. Objectif Général :

Etudier l'activité hémagglutinante des lectines extraites de quatre plantes.

2. Objectifs spécifiques :

- Réaliser des extraits bruts de lectines ;
- Déterminer l'activité des extraits bruts sur les hématies du groupe sanguin A1 et A2 sélectionnées ;
- Purifier les extraits bruts ayant donné une hémagglutination des hématies A1 et A2;
- Identifier les scores d'agglutination des extraits bruts et purifiés.
- Indiquer la spécificité de la lectine en inhibant la réaction d'hémagglutination par des sucres simples.

Deuxième partie

Revue de la littérature

III Revue de la littérature sur les plantes étudiées et généralités sur les lectines et le groupe sanguin A :

1- Revue de la littérature sur les plantes étudiées :

Elle a concerné essentiellement les plantes suivantes : *Erythrina senegalensis*, *Arbrus precatorius*, *Cassia alata* , *Swartzia madagascariensis*.

1.1 *Erythrina senegalensis* DC :

1.1.1 Systématique : *Erythrina senegalensis* fait parti de :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Léguminosales
- Famille : Légumineuses
- Sous famille : papilionacées
- Genre : *Erythrina*
- Espèce : *senegalensis*

1.1.2 Dénominations locales :

- Français : arbre corail, erythrine du senegal
- Bambara : Béru, ntenbileni
- Peulh : Mototay

1.1.3 Caractères remarquables :

C'est un arbuste de 6 à 7 m de hauteur, à cime irrégulière et à écorce beige, liégeuse et crevassée.

Les feuilles sont glabres, alternes et trifoliolées avec des pétioles épineux légèrement cannelés par-dessus.

Les fleurs de couleur rouge vif, apparaissent en grappes pendant la saison sèche au moment de la défeuillaison.

Le fruit est une gousse monoliforme portant un long acumen (Arbonnier, 2002).

1.1.4 Habitat :

Il est disséminé dans les savanes boisées ou arbustives en zone soudanienne ou soudano-guinéenne (Adjanooun et coll, 1979).

1.1.5 Emplois :

Les racines sont utilisées en décocté contre les coliques, les dysenteries et les douleurs rénales (Iserin et coll, 2001).

Le macéré des écorces du tronc est recommandé en cas d'aménorrhées, de paludisme, d'atteintes hépato- biliaire et lors des affections oculaires (Kerharo et Adam, 1974).

Pour les usages domestiques : les feuilles servent d'aliment pour le bétail et le bois découpé en bûchettes est utilisé pour démarrer les feux (Arbonnier, 2002).

Au Mali, les extraits d'*Erythrina senegalensis* font partis des recettes traditionnelles utilisées contre le paludisme, les douleurs abdominales, et les dermatoses (www.pubmed.gov).

1.1.6 Drogue :

La partie de la plante étudiée est constituée par les graines.

Les graines sont ovales, long de 6 à 7 mm, de couleur rouge vif, d'aspect lisse et brillant (Kerharo et Adam, 1974).

1.1.7 Phytochimie :

Il a été identifié dans l'écorce du bois : des isoflavonoïdes, des alcaloïdes et une molécule de furanne (Tanaka et coll, 2001 ; Wandji et coll, 1995).

Les graines contiennent en plus des isoflavonoïdes d'autres substances, il s'agit de : érysodine, glucoérysodine, et hypaphorine (Wandji et coll, 1995).

Une étude analytique d'extraits obtenus à partir de 50g de graines a donné le résultat suivant : 9,2% de fraction lipidique, 19,1% d'extrait alcoolique, 0,06%

d'alcaloïdes libres, et 1,3% d'alcaloïdes totaux.

Des traces d'alcaloïdes ont également été retrouvées dans les racines de l'espèce guinéenne (Kerharo et Adam, 1974).

1.1.8 Pharmacologie :

Plusieurs espèces d'*Erythrina* ont montré des propriétés curarisantes dues à la présence de l'érythroïdine dans leurs graines (Kerharo et Adam, 1974).

Les extraits d'écorce ont une activité antipaludique faible, associée à des effets antalgiques et anti-inflammatoires plus importants (Saidu et coll, 2000).

Une étude de l'activité anti-bactérienne ayant portée sur 50 extraits bruts éthanoliques de plantes, a permis de déduire que ceux d'*Erythrina senegalensis* étaient les plus actifs (Kone et coll, 2004).

De même, des travaux récemment réalisés ont révélé cette activité anti-bactérienne avec les extraits aqueux et méthanoliques des écorces (Arama, 2005).



Figure N°1 : Photo d'*Erythrina senegalensis*



Figure N°2 : Photo des graines d'*Erythrina senegalensis*

1.2 *Abrus precatorius* L

Synonymes : *Abrus minor* Desv, *Abrus maculatus* Noronha.

1.2.1 Systématique : Elle appartient à :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Léguminosales
- Famille : Légumineuses
- Sous famille : Caesalpinacées
- Genre : *Abrus*
- Espèce : *precatorius*

1.2.2 Dénominations locales :

- Français : liane réglisse, arbre à chapelet, œil de paon.
- Bambara : N'de bléni

1.2.3 Caractères remarquables:

La plante est une liane volubile de 3 à 4m, ligneuse à la base, capable de s'enrouler autour des arbustes.

Les feuilles sont alternes, paripennées avec 7 à 10 paires de folioles.

Les fleurs sont de couleur rose, regroupées en courtes grappes pédonculées avec des bractées à la base du calice.

Les gousses mesurent environ 3 cm de long et contiennent 5 à 6 graines ovoïdes de couleur rouge vif comportant une tache noire (Boullard, 2001 ; Adjanohoun et coll, 1979).

1.2.4 Habitat :

C'est une espèce pantropicale, localisée dans les forêts denses et les galeries forestières en savane (Adjanohoun et coll, 1979).

1.2.5 Emplois :

Elle est considérée comme une plante toxique, son utilisation est surtout externe :

- Les graines sont écrasées pour traiter les abcès, les inflammations des bras et des jambes ;
- Le macéré ou décocté des feuilles est employé contre les conjonctivites ;
- Les feuilles sucrées sont aussi utilisées comme antitussif et antigestif (Kerharo et Adam, 1974).

Dans les ouvrages sacrés des Indes, les graines servaient de médicament contre les affections du système nerveux et des maladies de la peau (Kerharo et Adam, 1974). Elles sont aussi utilisées pour confectionner des chapelets d'où le nom d'arbre à chapelet donné à la plante (Arbonnier, 2002).

Au Mali, la plante est employée comme antitussif et aphrodisiaque (Adjanohoun et coll, 1979).

1.2.6 Drogue :

Elle est constituée par les graines.

Les graines sont ovoïdes, brillantes, bicolores : la région du hile est pourpre presque noire, le reste étant rouge (Bruneton, 1987).

1.2.7 Phytochimie :

On savait que les graines contiennent une phytoxine protéique : l'abrine qui est un acide aminé, le N-méthyltryptophane, constituée de l'albumine et la globine .

En plus de l'abrine, les graines renferment : de l'acide abrique, des terpènes, du β sitérol, du stigmastérol, de l'acide gallique, un alcaloïde, de l'acide polygalacturonique, du pentosane, des sucres réducteurs, un glucoside et une hémagglutinine qui se comporte comme enzyme lipolitique (Kerharo et Adam 1974).

Les racines, les tiges, et les feuilles sont riches en glycyrrhizine qui donne après hydrolyse deux molécules d'acide glucuronique (Iserin et coll, 2001).

1.2.8 Pharmacologie :

La toxicité de la graine n'est possible qu'une fois le tégument externe dur est enlevé, sinon elle échappe à la désintégration lors de la digestion et la toxine ne serait pas libérée (Kerharo et Adam, 1974).

D'après Diacono, l'extrait aqueux des graines récentes possèdent une toxicité plus élevée que celui des anciennes graines sur le cobaye (Desai et Sirsi, 1966).

Par contre les extraits alcooliques sont doués d'une activité antibactérienne sur : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*...

Cette activité antibactérienne est surtout élevée avec les extraits à base de tégument (Desai et Sirsi, 1966).

Par ailleurs des effets abortives et tératogènes de l'extrait des graines ont été observés après des essais histopathologiques sur des rats et des souris (Iserin et coll, 2001).



Figure N°3 : Photo d'*Arbrus precatorius*



Figure N°4 : Photo des graines d'*Arbrus precatorius*

1.3 *Cassia alata* L :

Synonyme : *Senna alata* L

1.3.1 Systématique : Elle appartient à :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Léguminosales
- Famille : Légumineuses
- Sous famille : Caesalpinacées
- Genre : *Cassia*
- Espèce : *alata*

1.3.2 Dénominations locales :

- Français: Dartrier
- Bambara : ko n'taba

1.3.3 Caractères remarquables :

Arbuste buissonnant, originaire d'Amérique tropicale, long de 2 à 3 m, ramifié à la base, portant des branches tendres et cassantes.

Il porte de grandes feuilles composées, pennées, ayant environ 10 paires de folioles opposées, arrondies aux extrémités.

Les fleurs sont jaunes très ornementales, situées à la cime où elles forment des grappes terminales.

Le fruit est une gousse droite à bordures parallèles, disponible presque toute l'année (Boullard, 2001; Lavergne et coll, 1989).

1.3.4 Habitat :

Plante originaire d'Amérique, introduite dans toutes les régions tropicales, spontanée ou procultivée, rarement retrouvée dans les agglomérations (Adjanooun et coll, 1983).

1.3.5 Emplois :

Les feuilles fraîches écrasées sont utilisées pour traiter les affections de la peau (Co, 1989).

Elles sont aussi considérées comme purgatif en préparation buvable (Quisumbing, 1978).

Pour le traitement des céphalées, on place autour de la tête un bandeau contenant un mélange de feuilles fraîches, d'écorce et de racines pilées (Kerharo et Adam, 1974).

Contre les douleurs articulaires, le décocté des feuilles est administré par voie orale ou utilisé comme bain (Kerharo et Adam, 1974).

Hormis le traitement des maladies, la plante possède d'autres usages :

- La plante entière sert de décor dans les jardins ;
- L'écorce est utilisée dans les tanneries pour confectionner le cuir ;
- Les feuilles servent à préparer un poison de pêche (Arbonnier, 2002).

1.3.6 Drogue :

La drogue utilisée est constituée par les graines.

1.3.7 Phytochimie:

La plante entière contient une quantité importante d'acide chrysophanique surtout dans les fruits et de l'acide cyanhydrique.

Hauptmann et Lacerda Nazario ont isolé des feuilles des anthraquinones réduites qui par oxydation de la rhénine produisent du glucose et du rhamnose.

Dans les graines, Tiwari et Coll ont mis en évidence la chrysophanol et fait l'analyse des lipides.

Bouquet caractérisa dans les feuilles et les écorces de l'espèce congolaise des saponosides et des quinones (Kerharo et Adam, 1974).

1.3.8 Pharmacologie :

L'usage de *Cassia alata* comme purgatif se justifie par la présence d'anthraquinones dans les feuilles (Quisumbing, 1978).

Le décocté des feuilles fraîches a une activité anti-fongique dans le traitement du *pityriasis versicolore*, de l'eczéma et le pied d'athlète.

En effet, l'acide chrysophanique trouvé dans plusieurs parties de la plante, produit une action curative sur les dermatoses (Co, 1989).

D'autre part, des études ayant porté sur les extraits bruts de feuilles ont prouvé des activités antalgiques et anti-inflammatoires de la plante (Villasenor et coll, 2002).



Figure N°5 : Photo de *Cassia alata*



Figure N°6 : Photo des graines de *Cassia alata*

1.4 *Swartzia madagascariensis* Dev :

1.4.1 systématique : Il fait partir de :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Léguminosales
- Famille : Légumineuses
- Sous-famille : caesalpinacées
- Genre : *Swartzia*
- Espèce : *madagascariensis*

1.4.2 Dénominations locales :

- Bambara : Samakara, samagara
- Peul : Gugirki, gugiriki

1.4.3 Caractères remarquables :

Arbuste de 5 à 6 m de hauteur ayant une écorce brune foncée, fissurée longitudinalement.

Les feuilles sont imparipennées avec des folioles alternes ou opposées.

Les fleurs sont blanches, parfumées avec de grands pétales et des étamines libres.

Le fruit est une gousse brune, cylindrique, légèrement arquée (Arbonnier, 2002 ; Adjanooun, 1979).

1.4.4 Habitat :

Répandu dans les savanes arborées sur les sols parsemés de gravillons ou de colluvions (Boudet et coll, 1986).

1.4.5 Emplois :

Les racines sont utilisées comme antilépreux et antisyphilitique.

Elles sont aussi employées en macéré contre les vers intestinaux.

Les écorces de la tige et des racines sont recommandées comme purgatif.

Les fruits grillés, pilés et séchés font une boisson contre les courbatures pour les hommes et comme abortif pour les femmes (Malgras, 1992).

Le bois convoité pour sa dureté, sert en ébénisterie, à la fabrication de poteaux et d'instruments de musique (Arbonnier, 2002).

1.4.6 drogue :

Elle est constituée par les graines.

1.4.7 Phytochimie :

Les gousses contiennent les substances suivantes : un pigment jaune flavonique dont l'hydrolyse donne une tétrahydroxyflavone, du rhamnose , du glucose, le swartziol, un saponoside, des tanins, des cendres riches en manganèse qui donne au fruit sa couleur.

L'effet insecticide du bois n'a pas révélé de la roténone, mais a permis de mettre en évidence de l'homoptérocarpine, du déméthylptérocarpine et de la ptérocarpine (Kerharo et Adam, 1974).

1.4.8 Pharmacologie :

Le péricarpe possède une propriété de lyse sur les hématies plus faible que celle des graines.

Cette activité hémolytique est liée à la présence de saponoside dont la teneur est plus élevée dans les graines (Pousset, 2004).

Gaudin et Vacherat ont montré que le digesté des fruits tue les poissons, mais s'avère peu toxique au cobaye (Kerharo, 1974).

D'autre part, l'extrait de fruit est utilisé pour détruire des populations d'escargot constituant l'hôte intermédiaire des schistosomes (Borel, 1987).



Figure N°7 : Photo de *Swartzia madagascariensis*



Figure N°8 : Photo des graines de *Swartzia madagascariensis*

2 Généralité sur les lectines et le groupe sanguin A :

2.1 Les lectines :

2.1.1 Définition :

Les lectines sont des protéines animales ou végétales capables de se fixer aux hydrates de carbone de la surface cellulaire et provoquer la liaison des cellules en amas (ABOVIE sur www.abovie.com).

D'autre part, les lectines sont considérées comme une famille hétérogène de récepteurs qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques et jouent un rôle majeur dans les processus d'interactions entre les cellules (Hebert, 2001).

2.1.2 Historique :

Les lectines ont été décrites pour la première fois en 1888 par Stillmark ; depuis lors, beaucoup de travaux furent consacrés aux lectines (Roken, 1948).

Ainsi des graines de céréale, la recherche des lectines fut élargie aux légumineuses, à la laiterie ... (D'Adamo, 1999).

Elles ont surtout été utilisées pour étudier la physiologie ou certaines activités immunologiques des cellules (Sharon, 1972).

Dans les années 40, la purification des lectines a permis leur usage dans la détermination des groupes sanguins (Bird, 1974).

La spécificité des lectines aux sucres fut vérifiée sur plusieurs formes de vie (animaux, insectes, mycètes) pour expliquer des phénomènes biologiques : défense des plantes contre les herbivores, insectes, mycètes (Pusztai et Ewen, 1999).

Ce n'est qu'au cours des années 70 que la recherche sur les lectines a commencé à augmenter dans le monde entier (Krispin, 1999).

2.1.3 Propriétés :

Les lectines sont des protéines hydrosolubles retrouvées surtout dans les graines des légumineuses (Etzer, 1994).

Elles ressemblent à des glycoprotéines de la membrane des cellules végétales et se comportent comme des anticorps en assurant un rôle défensif contre les bactéries et les champignons (Guignard, 1985).

Ce sont des substances thermolabiles, responsables de la toxicité de certaines plantes : ricin, jéquirity, haricot ... (Bruneton, 1993).

Elles sont aussi reconnues pour leur spécificité aux sucres, ce qui a permis leur usage dans la détermination des groupes sanguins (Bird, 1974) et à l'étude des structures osidiques de la membrane cellulaire, importantes pour élucider certains comportements de la cellule (Hebert, 2001).

2.1.4 Description de quelques lectines connues :

L'abrine et la ricine sont des lectines à activité hémagglutinante extraites respectivement de l'arbre à chapelet et du ricin, reconnues pour leur toxicité.

Elles sont constituées de deux fragments protéiques :

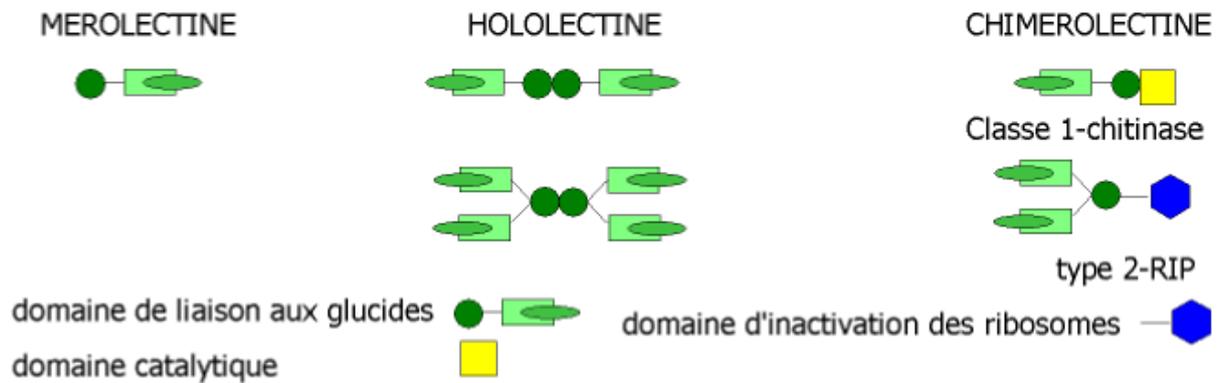
- une chaîne A : incapable de franchir les membranes cellulaires, inhibiteur de la synthèse des protéines ;
- une chaîne B : non cytoxique, assurant la reconnaissance des sucres membranaires et la fixation de la lectine sur le récepteur pour faciliter la translocation de l'unité A à travers la membrane (Bruneton, 1987).

La phasine est une phytoagglutinine provenant du haricot, spécifique aux hématies du groupe A, constituée de deux dimères canoniques rattachés par des liaisons bêta (Hamelryck, 1996).

En général, on distingue trois types majeurs de lectines végétales que sont :

- Les mérolectines incapables de se lier aux cellules (lectines des orchidées) ;
- Les hololectines capables d'agglutiner les cellules (lectines des légumineuses) ;
- Les chimérolectines qui se comportent soit en hololectines ou en mérolectines (ricine).

Ces différents types de lectines sont schématisés ci-après :



D'après PEUMANS W.J. et V. DAMME J.M., 1995.

-Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiology*, 109, pp 347-352.

2.1.5 Les groupes sanguins et les lectines:

Plusieurs lectines agglutinent les hématies, des fois avec une spécificité de groupe sanguin (Bird, 1974).

Bien qu'aujourd'hui, les anticorps monoclonaux ont remplacé les lectines dans la détermination des groupes sanguins, leur usage est encore nécessaire (Pusztai et Ewen, 1999).

La spécificité des lectines aux groupes sanguins est présentée dans le tableau 1 (Doumbia, 2004).

Tableau I : Les lectines spécifiques aux groupes sanguins les plus connus

Spécificités	Source de la lectine	Noms
Anti-A	Plante	<i>Phaseolus limensis</i>
Anti-A1	plante	<i>Dolichos biflorus</i>
Anti-B	Algue	<i>Ptita plumosa</i>
Anti-A+B	Plante	<i>Crotalaria striata</i>
Anti-H	Plante	<i>Lotus tetragonolobus</i> <i>Ulex europaeus</i>
Anti-M	Plante	<i>Iberis amaras</i>
Anti-N	Plante	<i>Vicia graminea</i>

2.2 Le groupe sanguin A :

2.2.1 Définition :

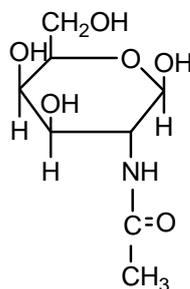
Les groupes sanguins constituent un ensemble d'antigènes allotypiques regroupés en systèmes génétiquement induits (Sultan, 1978).

Le groupe sanguin A est une composante du système ABO, caractérisé par un antigène non protéique, donc qui n'est pas un produit direct de gène, de nature glucidique : la N-acétylgalactosamine (Genetet et Muller, 1999).

2.2.2 Structure chimique :

Le groupe sanguin A comprend plusieurs variantes antigéniques ; en pratique courante, ce n'est que deux phénotypes qui sont recherchés : A1(80%) et A2 (20%) possédant 2 à 3 fois moins d'antigènes que A1 (Bastie, 1998).

L'expression phénotypique de l'antigène A est sous la dépendance du gène A responsable de la formation de l'antigène A dont la structure chimique est la N-Acetyl-D-Galactosamine (représenté ci-dessous).



N-Acetyl-D-Galactosamine

L'antigène A ainsi constitué est accolé à la substance H qui est la structure de base des groupes sanguins du système ABO (Najman, 1994).

2.2.3 Les lectines spécifiques au groupe sanguin A :

La spécificité de la lectine du *Phaseolus limensis* au groupe sanguin A est due à son affinité très élevée de liaison à la N-acétyl galactosamine (Hamelryck et coll, 1996).

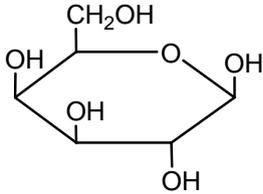
Cette lectine a une structure quaternaire semblable à celle de la phytoagglutinine de la *Glycine soja* qui agglutine en plus du GalNac, le galactose, et les glycoprotéines à galactose terminal (Sharon, 1972).

La lectine du *Dolichos biflorus* agglutine fortement les hématies A1 et très faiblement celles du type A2 (Chassaigne, 1984).

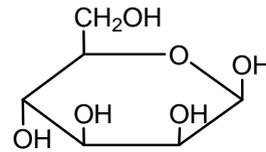
Cela s'explique par la préférence de cette lectine au trisaccharide GalNac α 1-3 Fuc α 1-2 Gal beaucoup plus retrouvé chez les hématies A1 (Hamelryck et coll, 1999).

Quelques structures chimiques de sucres simples de la membrane cellulaire et de lectines végétales :

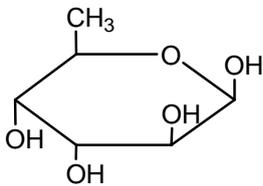
▪ Sucres



D-Galactose

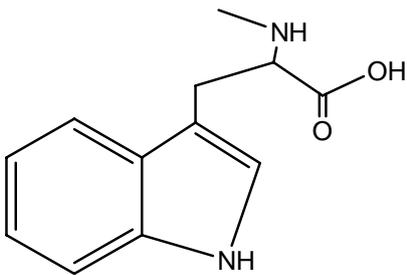


D-Mannose

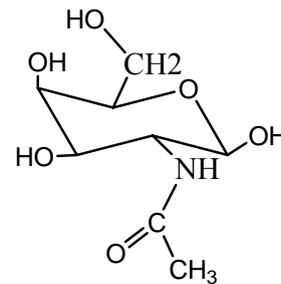


L-Fucose

▪ Lectines



L-Abrine



Lectine du soja

Troisième partie

Notre étude

Matériels et méthodes

IV Matériels et Méthodes :

Il s'agit d'une étude prospective réalisée aux laboratoires de phytochimie du DMT de l'INRSP et de sérologie groupage du CNTS.

1. Matériel :

1.2 Matériel végétal :

Nous avons utilisé les graines de quatre plantes répertoriées dans la flore Malienne, il s'agit de :

- *Erythrina senegalensis*
- *Arbrus precatorius*
- *Cassia alata*
- *Swartzia madagascariensis*

Les graines de *Cassia alata*, *Erythrina senegalensis*, et *Arbrus precatorius* ont été récoltées au jardin du Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP tandis que celles de *Swartzia madagascariensis* ont été collecté à Siby (localité situé à 50 Km de Bamako sur la route de la Guinée Conakry).

1.3 Matériel humain :

Les tests biologiques que nous avons effectués au Centre National de Transfusion Sanguine, ont été opérés sur des hématies humaines.

1.4 Matériel technique :

1.4.1 Liste des matériels et produits chimiques utilisés aux laboratoires de phytochimie du DMT de l'INRSP et de sérologie groupage du CNTS :

- Sachet plastique
- Spatule
- Balance électronique
- Bécher
- Epruvettes graduées (1litre , 500ml , 100ml , 10ml)
- Erlenmeyer

- rotavapor
- Support métallique
- Entonnoir
- Compresse
- Flacons (125ml , 50ml)
- Etuve
- Réfrigérateur
- Seringue 10cc
- Coton hydrophile
- Agitateur
- Eau distillée
- Na Cl
- Lyophilisateur
- Polyacrylamide gel (Sephacryl S-300)
- Pipette pasteur
- Tube à hémolyse en verre
- Pissette en plastique
- Crayon marqueur
- Embout
- Microscope
- Centrifugeuse
- Porte-tubes
- Lame pour microscope
- Plaque d'opaline blanche
- Hématies
- Réactif de groupage
- Arabinose

- Glucose
- Galactose
- Mannose
- Rhamnose
- Xylose
- Fucose
- N-acétylgalactosamine
- Eau physiologique
- Eau de javel
- Alcool.

2 Méthodes :

2.1 Protocole d'extraction :

Nous avons procédé à des opérations préliminaires, ensuite à l'extraction proprement dite.

2.1.1 Opérations préliminaires :

- **Triage :** Consiste à sélectionner manuellement les graines matures, non endommagées .
- **Broyage :** Ces graines ont été concassées à l'aide d'un marteau, puis réduites en poudre dans un mortier traditionnel.

2.1.2 Extraction :

- **Principe :** C'est une opération visant à récupérer les substances hydrosolubles et thermolabiles d'une poudre de graines à l'aide d'une solution saline.
- **Technique :** Une prise d'essai de 10g de poudre est dégraissée avec 50ml d'éther pétrole .

Le marc obtenu est macéré dans 100ml d'eau physiologique à 4°C, pendant 18 heures, puis filtré.

Le filtrat est recueilli pour être centrifugé à une vitesse de 1000 trs/mn pendant 20 mn à 4°C.

Le surnageant formé, représente l'extrait brut qui est d'abord testé sur des hématies, puis purifié.

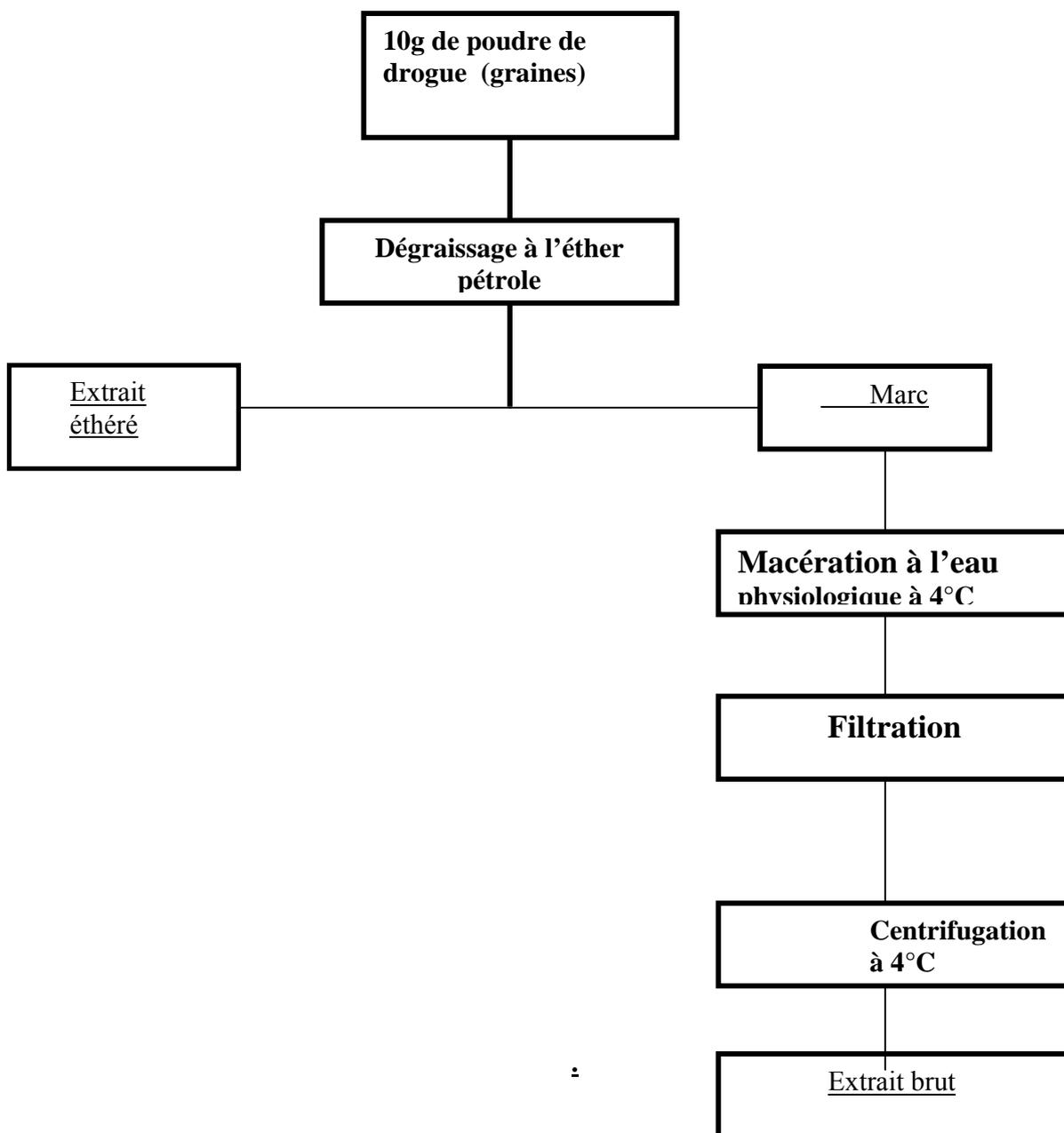


Figure N°9 : Schémas d'extraction des lectines à partir des poudres des graines des différentes plantes

2.2 Collecte des hématies :

Les hématies ayant servi aux tests d'agglutination ont été collectées au Centre Nationale de transfusion sanguine .

Ces hématies ont été choisies dans le groupe sanguin A subdivisé en sous groupes A1 et A2 .

2.2.1 Sélection des hématies du groupe A :

Les hématies du groupe A ont été testées à l'anticorps anti A1 : les hématies qui ont produit une forte agglutination sont du sous groupe A1 et celles qui ont donné une agglutination très faible ou un test négatif sont du groupe A2 .

Les hématies ainsi obtenues ont été au préalable soumises à un lavage puis à une dilution.

2.2.2 Lavage des hématies :

Nous avons disposé d'échantillons de sang du groupe A1 et A2 dans des tubes à essai différents.

Sur chaque échantillon de sang est mentionné le groupe correspondant.

Dans les tubes, il y a environ 3 cc de sang auquel, nous avons ajouté 1ml d'eau physiologique.

Après agitation, le mélange obtenu est soumis a une centrifugation (1000trs /mn) pendant 5mn.

Le surnageant formé est versé et le culot d'hématies obtenu est de nouveau mis en suspension sous agitation avec de l'eau physiologique.

Cette opération est reprise quatre fois de suite dans les mêmes conditions.

2.2.3 Dilution des hématies :

Elle est faite à 5%, soit une goutte d'hématies lavées pour 19 gouttes d'eau physiologique dans de nouveaux tubes portant le nom des sous groupes A correspondant aux hématies utilisées .

2.2.4 Tests d'agglutination :

Nous avons procédé à deux techniques dont une sur plaque et l'autre en tube.

2.2.5 Techniques d'agglutination :

▪ Technique en tube :

Nous avons utilisé deux tubes contenant respectivement trois gouttes d'hématies diluées à 5% du groupe A1 et A2, pour chaque extrait.

50µl d'extrait végétale est ajouté dans chacun des tubes.

Après 5mn d'incubation, le mélange est centrifugé à 1000trs/mn pendant 1mn.

Le culot d'hématies formé au fond du tube est lavé à 3 reprises à l'eau physiologique.

En cas de réaction positive, les hématies se présentent sous forme de lambeaux fins.

▪ Technique sur plaque :

Nous avons étalé sur une plaque d'opaline, une goutte de sang diluée à 5% des groupes A1 et A2.

A chaque goutte de sang est ajouté l'extrait végétal à volume égal .

Le mélange est ensuite trituré avec de l'extrémité inférieure d'un tube à hémolyse.

Après, la plaque est oscillée lentement pendant quelques secondes, puis laissée au repos.

Au bout de 2 mn, nous avons procédé à la lecture des réactions d'agglutination à l'œil nu.

Les tests négatifs sont contrôlés au microscope optique à l'objectif 10.



Figure N°10 : Photo présentant une Absence d'agglutination des hématies



Figure N°11 : Photo présentant une réaction d'Agglutination faiblement positive



Figure N°12 : Photo présentant une réaction d'Agglutination fortement positive



Figure N°13 : Photo présentant une Agglutination totale des hématies

2.3 Purification :

Nous avons utilisé la chromatographie par filtration sur gel pour purifier les extraits bruts.

2.3.1 Chromatographie par filtration sur gel :

2.3.2 Principe :

Elle consiste à faire passer une solution à travers un gel immobilisé sur une colonne, pour dans un premier temps recueillir les macromolécules, ensuite les petites molécules retenues par la diffusion.

2.3.3 Technique :

- **Montage du dispositif :**

La colonne est constituée par une seringue 10 CC, vidée de son piston, suspendue à un support de manière que l'extrémité portant l'embout auquel est fixé l'aiguille soit dirigée vers le bas.

- **Remplissage de la colonne :**

Nous avons d'abord placé au fond de la seringue un petit morceau de coton, sur lequel le sephacryl gel est coulé jusqu'à la moitié de la colonne tout en agitant pour homogénéiser et lavé 3 fois de suite le gel avec 30ml d'eau distillée à raison de 10ml par lavage.

- **Dépôt des échantillons :**

Nous avons versé l'extrait brut, lentement et en petites fractions dans la colonne.

- **Elution ou sortie du filtrat :**

Nous avons recueilli le filtrat au bout de la colonne.

L'extrait purifié ainsi récupéré est testé sur des hématies.

2.4 lyophilisation :

Nous avons utilisé les extraits purifiés.

2.4.1 Principe :

C'est une technique de déshydratation à basse température et sous vide qui consiste à transformer des extraits initialement liquide en poudre (lyophilisat).

2.4.2 Technique :

L'extrait purifié est d'abord congelé, puis placé au lyophilisateur.

2.4.3 Le rendement de l'extraction (R) :

$$R = \frac{\text{Masse du lyophilisat obtenu} \times 100}{\text{Masse de drogue utilisée}}$$

Le lyophilisat obtenu est testé sur des hématies à différentes dilutions.

2.6 Test d'inhibition :

Nous l'avons réalisé à l'aide des solutions du lyophilisat et des sucres suivants : galactose, arabinose, glucose, mannose, rhamnose, xylose, fucose et N-acétylgalactosamine.

2.6.1 Principe :

C'est une inhibition des réactions d'agglutination des hématies, exercée par un sucre en fonction de son affinité à se lier aux phytoagglutinines.

2.6.2 Technique :

A 150µl d'une solution de sucre dosée à 2g / ml est ajouté 20µl de solution d'extrait.

Ce mélange est agité et laissé au repos pendant 5mn puis testé à volume égal sur 50µl d'hématies diluées à 5%, étalées sur une plaque.

Ces hématies sont triturées ; après oscillation de la plaque , la lecture de l'agglutination est faite à l'œil nu dans les 2 à 3mn..

2.6.3 Interprétation :

Un extrait est considéré comme spécifique à un sucre dans le cas où ce dernier parvient à inhiber au préalable les réactions d'agglutination en agissant probablement avec les lectines sensées être dans l'extrait.

Résultats et Analyses

V Résultats et analyses

1.1 Rendement de l'extraction :

- Cas de l'extrait d'*Arbrus precatorius* :

$$R_a = \frac{3,34\text{g} \times 100}{10\text{g}} = 33,40 \%$$

- Cas de l'extrait d'*Erythrina senegalensis* :

$$R_e = \frac{1,32\text{g} \times 100}{10\text{g}} = 13,20 \%$$

- Cas de l'extrait de *Cassia alata* :

$$R_c = \frac{1,71\text{g} \times 100}{10\text{g}} = 17,1 \%$$

- Cas de l'extrait *Swartzia madagascariensis* :

$$R_s = \frac{2,33\text{g} \times 100}{10\text{g}} = 23,3 \%$$

1.2 Tests d'agglutination des hématies :

- **Tableau II** : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les extraits bruts :

Groupes sanguins	Extrait d' <i>Arbrus precatorius</i>	Extrait d' <i>Erythrina senegalensis</i>	Extrait de <i>Cassia alata</i>	Extrait de <i>Swartzia madagascariensis</i>
A1	++	++	---	---
A2	++	++	---	---

--- : absence d'agglutination

+ : agglutination faible

++ : agglutination forte

+++ : agglutination totale

Seuls les extraits *d'Arbrus precatorius* et *d'Erythrina senegalensis* ont produit des agglutinations ; tandis que ceux du *Cassia alata* et de *Swartzia madagascariensis* n'ont pas réagi.

Cependant l'extrait de *Swartzia madagascariensis* a provoqué une lyse des hématies.

- **Tableau III** : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les filtrats :

Groupes sanguins	Filtrat	Filtrat
	<i>d'Arbrus precatorius</i>	<i>d'Erythrina senegalensis</i>
A1	+++	+++
A2	+++	+++

... : Absence d'agglutination

+ : agglutination faible

++ : agglutination forte

+++ : agglutination totale

Les filtrats d'*Arbrus precatorius* et d'*Erythrina senegalensis* ont agglutiné les hématies sans qu'il n'est aucun globule rouge libre.

Les agglutinations obtenues avec le filtrat d'*Arbrus precatorius* étaient plus rapidement apparues et un peu plus forte que celles d'*Erythrina senegalensis*.

- **Tableau IV** : Résultats des agglutinations obtenues à différentes dilutions du lyophilisat d'*Erythrina senegalensis*.

Dilutions Hématies	160µg/ml	980 µg/ml	78.10 ² µg/ml	125.10 ² µg/ml	156.10 ² µg/ml
A1	+	+	++	++	+++
A2	+	+	++	++	+++

--- : Absence d'agglutination

+ : Agglutination faible

++: Agglutination forte

+++ : Agglutination totale

L'agglutination la plus faible est apparue à la dilution de 160µg/ml et la plus forte à partir de 156.10²µg/ml.

Le *Dolichos biflorus* : réactif de référence pour différencier A2 de A1 est disponible en solutions diluées contenant entre 4 et 20µg/ml d'extrait de lectine.

- **Tableau V** : Résultats des agglutinations obtenues à différentes dilutions du lyophilisat d'*Arbrus precatorius*.

Dilutions Hématies	44µg/ml	50µg/ml	19.10 ² µg/ml	25.10 ² µg/ml	39.10 ² µg/ml
A1	+	+	++	++	+++
A2	+	+	++	++	+++

... : Absence d'agglutination

+ : agglutination faible

++ : agglutination forte

+++ : agglutination totale

L'agglutination la plus faible a été visible à la dilution de 44µg/ml et la plus forte à partir de 39.10²µg/ml.

Notons que, le *Dolichos biflorus* : lectine de groupage anti A1 est présentée en solutions diluées variant de 4 et 20µg/ml d'extrait végétal.

1.3 Test d'inhibition :

Les sucres suivants: arabinose, glucose, mannose, rhamnose, xylose ; ont donné un résultat négatif.

Seuls les tests positifs sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Résultats des tests d'inhibition

Sucres Solutions	Galactose	N-acétylgalactosamine	Fucose
<i>Arbrus precatorius</i>	A1 : +++ A2 : +++	A1: ++ A2: ++	A1: + A2: +
<i>Erythrina senegalensis</i>	A1: --- A2: +	A1: + A2: +	A1: --- A2: ---

A1: hématies du groupe A1

A2 : hématies du groupe A2

--- : inhibition très forte

+ : inhibition forte

++ : inhibition faible

+++ : absence d'inhibition

Les agglutinations produites par les extraits d'*Arbrus precatorius* et d'*Erythrina senegalensis* ont été inhibées fortement avec le fucose et un peu moins avec la N-acétylgalactosamine.

L'inhibition avec le galactose sur les agglutinations de la solution d'*Erythrina senegalensis* a été totale sur les hématies A1 et partielle sur les hématies A2.

Commentaires et Discussions

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

Le travail que nous avons réalisé, rentre dans le cadre de l'étude de l'activité hémagglutinante des phytoagglutinines que sont les lectines.

Pour mener ce travail à bien, il nous a fallu adapter un protocole d'extraction et des techniques d'agglutination à nos conditions de laboratoire puisque la manipulation des extraits de lectine n'est pas aisée.

C'est pourquoi, nous avons tenu compte dans notre protocole d'extraction de la nature protéique des lectines en utilisant l'eau physiologique comme solvant à basse température.

Nous avons également procédé à une méthode d'extraction proche de celle d'Animashaun qui a beaucoup travaillé sur l'activité agglutinante des lectines sur les hématies (Animashaun, 1983).

Quand aux techniques d'agglutination que nous avons employées, elles ont été élaborées par Beth Vincent et permettent d'identifier des antigènes à la surface des hématies à l'aide d'anticorps ou de phytoagglutinines (Letonturier, 1996).

Nous avons observé l'activité hémagglutinante des extraits de quatre plantes dont deux ont donné un test positif, il s'agit des extraits d'*Erythrina senegalensis* et d'*Arbrus precatorius*.

Les extraits de *Cassia alata* et de *Swartia madagascariensis* n'ont pas agglutiné les hématies ; mais il est à noter que les extraits de *Swartzia madagascariensis* ont provoqué une hémolyse, comme cela a été précédemment annoncée par Pousset en 2004.

Cette activité hémolytique est due à la présence de saponoside dans les graines (Kerharo et Adam, 1974).

Dans le but d'améliorer l'activité hémagglutinante des extraits, nous avons procédé à leur purification par la chromatographie sur gel.

En effet, les filtrats obtenus à la purification ont eu une activité supérieure à celle des extraits initiaux.

Ce résultat pourrait insinuer que le filtrat contient moins d'impureté sans être un extrait pur de lectine, car comme l'a dit Bruneton : l'obtention d'extrait pur de lectine n'est pas facile à réaliser (Bruneton, 1987).

En tout cas, une augmentation de l'activité des extraits est importante pour la suite de nos investigations.

Ainsi, nous avons procédé à la lyophilisation des extraits actifs pour éviter leur détérioration lors de la conservation.

Aussi, les tests d'agglutination ont été opérés sur des hématies du groupe A dans les sous -groupes A1 et A2 ; ce qui a donné une activité plus élevée des extraits d'*Arbrus precatorius* par rapport à ceux d'*Erythrina senegalensis*.

Cela nous a amené à dire que les extraits d'*Arbrus precatorius* pourrait contenir plus de phytoagglutinine ou bien reconnaissent mieux ou plus d'antigène sur les globules rouges.

Pour lever cet équivoque, nous avons du point de vue quantitatif, observé que les agglutinations de l'extrait d'*Arbrus precatorius* nécessite une quantité de lyophilisat inférieure à celle utilisée dans le cas d'*Erythrina senegalensis* pour un même volume de solvant (en comparant les résultats du Tableau 4 et Tableau 5).

Cette évaluation quantitative n'est pas une indication précise parce qu'elle n'exprime pas directement les doses de lectine pure.

Sur le plan qualitatif, les tests d'inhibition des agglutinations ont permis de faire une évaluation des extraits relative à leur spécificité à des sucres témoins, portés par certains antigènes de groupe sanguin.

Ces sucres sont : -Le fucose qui appartient à l'antigène de base des groupes sanguins ou groupe O ;

-Le galactose caractérise le groupe B ;

-La N-acétylgalactosamine est l'antigène du groupe A (Nathan, 1972).

L'inhibition des extraits par le fructose peut indiquer leur pouvoir à agglutiner les hématies de tous les groupes du système ABO, puisque le fucose est la composante de l'antigène de base des groupes sanguins.

Cependant, l'inhibition des extraits par la N-acétylgalactosamine suppose une augmentation des capacités des extraits à agglutiner le groupe sanguin A.

Mais l'inhibition causée par le galactose exprimée sur les groupes sanguins A1 (inhibition totale) et A2 (inhibition partielle) agglutinés par l'extrait d'*Erythrina senegalensis* peut démontrer non seulement une augmentation du pouvoir d'agglutination du groupe B, mais surtout la différence antigénique entre A1 et A2.

En effet, les hématies A1 ont moins de galactose libres que A2 (d'où leur inhibition totale) ; ces deux sous-groupes ont respectivement 1 million et 250 000 antigènes (Najman, 1994).

En somme, notre étude est une contribution supplémentaire aux précédentes études dont la plus récente en 2004 est celle de Dombia.

La technique d'extraction devient optimisée et permet d'améliorer l'effet agglutinant des extraits.

Conclusion

VII CONCLUSION :

Nous avons supposé que la réaction d'héماغglutination par les extraits de graines observée et leur inhibition par un sucre simple, témoignent de la présence de lectine dans l'extrait concerné.

Au terme de nos investigations ayant porté sur les extraits de quatre plantes, seuls deux ont donné une activité héماغglutinante, il s'agit de ceux d'*Erythina senegalensis* et d'*Arbrus precatorius*.

Aussi, l'extrait d'*Arbrus precatorius* a donné une activité légèrement supérieure à celle d'*Erythina senegalensis*.

Ces derniers ont surtout montré leur pouvoir à agglutiner toutes les héματος sans spécificité de groupe sanguin dans le système ABO.

Seul l'extrait d'*Erythina senegalensis* a montré une spécificité de group sanguin A.

En effet l'héماغglutination des héματος de groupe A a été inhibée par la N-acétylgalactosamine.

De même, cet extrait nous a permis de constater la différence antigénique entre les sous-groupes A1 et A2.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques :

ABOVIE sur www.abovie.com.

Arbonnier M (2002), Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest, 2^{ème} édition CIRAD-MNHN, P 316-317.

Adjanohoun E J, Assi L A, Eymé J, Gassita J N, Goudoté E, Guého J, Ip F S L, Jackaria D, Kalachand S K K, Keita A, Koudogbo B, Landreau D, Owadally A W, Soapramanien A (1983), Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice, Rapport présenté à l'Agence de coopération culturelle et technique, P45.

Adjanohoun E J, Assi L A, Floret J J, Guindo S, Koumaré M, Ahyi A M R, Raynal J (1979), Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, Rapport présenté à l'Agence de coopération culturelle et technique, P25, 72, 91.

Animashaun T (19883), A galactomannan precipitating lectin from *sphenostylis stenocarpa* seeds, in Lectins: biology biochemistry clinical biochemistry vol 3, Edition T.C Bog Hansen and Spengler, Berlin, PP 639-44

Arama D (2005) Phytochimie et activité biologique de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles au Mali : *Anthocleista djalensis*, *Erythrina senegalensis* et *Heliotropium indicum*, thèse de pharmacie, Bamako.

Bastie J N (1998), Hématologie, édition du concours médical, Paris, P45.

Bird G (1951), Plant and other agglutinins in the study of human red corpuscles in extract of *Dolichos biflorus*, *Cun Sci*, 20-29.

Bird G (1974), Plant and other agglutinins in the study of some human erythrocyte anomalies, *Ann.N.Y.Acard.Sci*, 234-129.

Borel C, Hostettman K (1987), *Helvetica chimica Acta* 70,570.

Boudet B, Lebrun J P, Demange R, (1986), Catalogue des plantes vasculaires du Mali, édition IEMVT, P 120.

Boullard B (2001), Plantes médicinales du monde croyances et réalités, édition ESTM, Paris, P 15, 101.

Bruneton J (1987), *Element de phytochimie et pharmacognosie*, édition Technique et documentation Lavoisier, Paris, P 117.

Bruneton J (1993), *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*, édition Technique et documentation Lavoisier, Paris, P1889, 1992.

Chassaigne M (1984), *Transfusion pratique*, édition Doin, Paris, P125.

Co L L (1989), **Common medicinal plants of the Cordillera region**, **Bustamante press 49 : 1-23.**

D'Adamo P G (1999), 4 groupes sanguins, 4 régimes, édition Rosseau, Paris, P23.

Desai R V, Sirsi M (1966), Antimicrobial activity of *Abrus precatorius* Linn, Indian J.pharm, 28, n°6, p 164-165.

Desai R V, Sirsi M (1966), Chemical and pharmacological investigations on *Arbrus precatorius* Linn, India J. Pharm, P340.

Doumbia M (2004), Etude de l'activité hémagglutinante des lectines extraites des graines de la flore malienne, thèse de pharmacie, FMPOS, Bamako, 85P.

Etzler M E (1994), Isolement et caractérisation des sous-unités de D B 58, d'une lectine des et feuilles de *Dolichos biflorus*, Biochimie 33 : 9778-9783.

Genetet B, Muller J Y, (1999), Aide mémoire de transfusion, 3^{ème} édition Médecine-sciences Flammarion, P186.

Guignard J L (1996), Abrégé de botanique, 10^{ème} édition Masson, Paris, P23, 109.

Guignard J L, Cosson L, Henri M (1985), Abrégé de phytochimie, édition Masson, Paris, P 66.

Hamelryck, T.W., Dao-Thi, M.H., Poortmans, F., Chrispeels, M.J., Wyns, L., Loris, R (1996), The crystallographic structure of phytohemagglutinin L:, *J. Biol. Chem.*, **271**, 20479-20485.

Hamelryck, T. W., Loris, R., Bouckaert, J., Dao-Thi, M.-H., Strecker, G., Imberty, A., Fernandez, E., Wyns, L., Etzler, M. E (1999), Carbohydrate

binding, quaternary structure and a novel hydrophobic binding site in two legume lectin oligomers from *Dolichos Biflorionus*., *J. Mol. Biol.*, **286**, 1161/1177.

Hebert E (2001), Lectines membranaires et transduction du signal, médecine/sciences, 17: 486-9.

Iserin P et coll (2001), Encyclopédie des plantes médicinales Identification, préparations, soins, édition Larousse / VUEF, P 36, 84, 158, 206.

Kerharo J, Adam J G (1974), Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, édition Vigot, Paris P 267, 304, 435, 457.

Kone W M, Atindehou K K, Terreaux C, Hostettmann K, Traore D, Dosso M, (2004)

Traditional medicine in north cote d'Ivoire : screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity, *Journal of ethnopharmacology*, 93 (1), 43-9.

Krispin S (1999), The lectin report, *BMJ*, 318: 1023-1024.

Laverne R, Véra R (1989), Médecine traditionnelle et pharmacopée étude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à la Réunion, ACCT, P73.

Letonturier (1996), Immunologie générale 5ème édition Masson, Paris, P100.

Makela O (1957), Studies in hemagglutinins of *leguminosae* seeds, *Ann Med Exp.Biol.Suppl*, P 11-35.

Malgras D (1992), Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes, édition Karthala, Paris, p 222, 266, 284.

Najman A, Verdy E, Potron G, Isnard F (1994), Hématologie tome I, édition marketing, Paris, P 242-244.

Pousset J L (2004), Plantes médicinales d'Afrique, édition Edisud, Paris, P125.

Pusztai A, Ewen S W B (1999), Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine , Lancet 354(9187) : 1353-1354.

Quisumbing E (1978), Medecinal plants of the Philippines, Katha Publishing Co, Inc 31: 9-15.

Qurashi I, Khan M R (2001), Revised structures for *Erythrina senegalensis* and euchrenone b10, *Journal of natural products*, 64(10), 1336-1340.

Racer RR, Sanger R (1970), Les groupes sanguins chez l'homme, édition Masson, Paris, P 20.

Renkonen K O (1948), Studies on hemagglutinins present in seeds of some representative of the family of leguminose, Ann Med.Exp. Biol. Fenn, 26

Saidu K, Onah J, Orisadipe A, Olusola A, Wanbebe C, Gamaniel K (2000), Antiplasmodial, analgesic and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*, *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2), 275-80.

Sharon N, Lis M (1972), Lectins: cell-agglutinating and sugar specific proteins-science, P177-949.

Sultan C, Gouault-Heilmann, Imbert M (1978), Aide mémoire d'hématologie, édition Flammarion, Paris, P 229-239.

Tanaka H, Doi M, Etoh H, Watanabe N, Shimizu H, Hirata M, Ahamad M, Villasenor I M, Canlas A P, Pascua M P I, Sabando M N, Soliven L A P (2002), Bioactivity studies on *Cassia alata* Linn. Leaf extracts, *Phytoter. Res.* 16, S93-S96.

Wandji J, Awanchiri S S, Fomum Z T, Tillequin F, Libot F (1995), Isoflavones and alkaloids from the stem bark and seeds of *Erythrina senegalensis*, *phytochemistry*, 39(3), 677-81.

www.pubmed.gov

Annexes

Fiche signalétique :

Nom : KALILOU MAHAMANE

Prénom : ALI DIT BOULO

Titre de la thèse : Les lectines ayant une spécificité GalNac.

Année scolaire : 2005-2006.

Ville de Soutenance : Bamako.

Pays d'origine : Niger.

Lieu de dépôt : Bibliothèque Faculté de Médecine de Pharmacie et Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : Immunologie, Hématologie, Phytochimie.

Résumé :

Les lectines sont des protéines animales ou végétales capables de se lier aux sucres.

La plupart des lectines végétales proviennent des légumineuses dont nous avons réalisé l'extraction de quatre espèces : *Abrus precatorius*, *Erythrina senegalensis*, *Cassia alata* et *Swartzia madagascariensis*.

Après des tests sur des hématies, seuls les extraits d'*Abrus precatorius* et d'*Erythrina senegalensis* ont provoqué l'agglutination des hématies.

La purification des extraits bruts a permis d'augmenter leur activité hémagglutinante.

Ces tests d'agglutination ont été opérés sur des hématies des sous-groupes A1 et A2.

Des tests d'inhibition avec des sucres simples ont également été faits, ce qui nous a amené à la conclusion suivante : l'extrait d'*Erythrina senegalensis* a, plus montré une affinité au groupe sanguin A et permis de constater la différence antigénique des sous-groupes A1 et A2.

Mots clés : Lectine, phytohémagglutinine, hématie humaine, sucre simple, agglutination, spécificité, groupe sanguin.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !