

ETUDES CHIMIQUES

DE L'ACTION ANTIFALCEMIANTE DE FAGARA ANTHOXYLOIDES¹

A. LONSDORFER², A. DE RIBAS*, C. HAXAIRE**, et I. FOURASTE
avec la collaboration technique de E. LENORMAND*

I/ - INTRODUCTION

Les différentes espèces du petit arbre africain FAGARA (F. sp. RUTACEAE) sont bien connues comme entrant dans plusieurs préparations « antirhumatismales et antiphlogistiques » des Tradipraticiens (KHERHARO, J. ADAM, J.C. 1974). Or cette symptomatologie globale regroupe de nombreuses étiologies parmi lesquelles les crises douloureuses ostéoarticulaires de la Drépanocytose, expression clinique la plus usuelle de cette maladie dont on connaît l'incidence en Afrique, (5 à 7 % de la population). - Les chercheurs se sont donc interrogés sur les possibilités thérapeutiques du FAGARA X. pour cette hémoglobinopathie si répandue.

II/ - BUT DU TRAVAIL

Rappelons que la désoxygénation d'un sang de drépanocytaire provoque la falciformation ou déformation en faucille des globules rouges (drépanocytes), par polymérisation intraglobulaire de l'hémoglobine pathologique S ou C : On peut établir ainsi un taux de Falciformation qui rapporte le nombre de drépanocytes formés à la numération globale des hématies.

Des études de réversibilité d'une falciformation après adjonction de FAGARA ou encore de résistance à la falciformation de globules rouges préalablement incubés avec FAGARA furent effectuées à partir de 1971. Elles s'avèrent concluantes pour : EL-SAID, SOFOWORA et ISAACS (1971 à 1975) ; HEADING et Coll.

(1) DENEGUIOECK (Ouolof) ; WO ou OOU (Bambara et Malinké) ; ORINATA ou ATAR (Yoruba).

(2) Travail réalisé dans le cadre d'un contrat du Ministère de la Recherche Scientifique de la Côte d'Ivoire (CR n° 3506 et 3516) et d'un contrat de Recherche Libre de l'INSERM-FRANCE (CRL n° 805012). * Faculté de Médecine d'Abidjan ** Ecole de Pharmacie d'Abidjan.

(1975) ; EKONG et Coll. (1975) ; NATTA et Coll. (1979). - Mais furent infirmées à deux reprises par HONIG et Coll. (1975 et 1978). Devant ces résultats contradictoires obtenus à partir de protocoles irréprochables nous avons entrepris ce travail avec deux impératifs :

1) préparer un extrait selon une méthodologie proche de celle recueillie chez deux tradipraticiens du pays ;

2) tester l'efficacité du produit sur du sang total soumis in vitro à des pressions partielles d'O₂ variables.

III/ - METHODOLOGIE

A/ Préparation de l'Extrait

Les racines de FAGARA XANTHOXYLOIDES ont été prélevées sur un petit bosquet de la savane de LAMTO, au mois de septembre, (fin de la saison des pluies) après la fructification. Ecorce et bois de la racine ont été broyés séparément ; la poudre de racine totale utilisée pour préparer les solutions a été reconstituée (15 g. de poudre d'écorce et 35 g. de poudre de bois pour 50 g.). La décoction, mode de préparation le plus courant en médecine traditionnelle, a été testée : 650 ml d'eau distillée furent nécessaires pour 50 g. de poudre (étant donné l'abondance des mucilages) le liquide obtenu après une décoction de 30 minutes et filtration sous vide à chaud, est centrifugé pour éliminer les mucilages. L'extrait aqueux obtenu est lyophilisé.

B/ Tonométrie - Protocole -

La tonométrie nous permet de soumettre des échantillons sanguins à différentes pressions partielles gazeuses en O₂ de manière à obtenir une désaturation sanguine croissante et par conséquent un taux de Falciformation d'autant plus élevé. - Cette étude a été faite avec le sang

de 10 malades double hétérozygote SC, avant et après adjonction de FAGARA, le sang de chaque malade étant son propre témoin.

IV/ - RESULTATS

Nous rendons compte successivement :

1) de l'évolution globale, avec ou sans FAGARA, du pourcentage de drépanocytes apparus, en fonction de la saturation puis ;

2) plaçant nos échantillons en hypoxie majeure, à pO₂ 15 mmHg pendant 15 minutes, nous essaierons de préciser les éventuels effets liés à la dose, au solvant aqueux, à la tonicité extraglobulaire.

A/ Relation générale / taux de Falciformation / Saturation en O₂.

L'ajustement suivant une fonction exponentielle décroissante a été satisfaisant dans les deux cas et la courbe correspondant au sang additionné de FAGARA est inférieure à celle du sang témoin. Un test statistique non paramétrique permet d'estimer la réduction de la Falciformation après adjonction de FAGARA à 32 % par rapport au sang témoin placé dans les mêmes conditions.

B/ Les effets observés ci-dessous sont comparés au taux moyen de Falciformation obtenu, sous une pO₂ de 15 mm de Hg, avec les 10 échantillons témoins, soit 25,5 % + 5,2 drépanocytes formés par rapport à la numération globulaire totale.

B-1 : effet-dose : Si le sang est traité par une solution aqueuse de FAGARA aboutissant à 5 mg/ml de sang, le taux de Falciformation tombe à 19,7 % et si la solution est à 1 mg/ml de sang le taux tombe à 14,6 %. Ces deux résultats sont statistiquement très significatifs ($p < 0,001$) par rapport aux échantillons témoins dont le taux de Falciformation est de 25,5 %. Ainsi FAGARA provoque la réversibilité de la Falciformation. Mais on observe un effet-dose paradoxal : son efficacité diminue quand sa concentration augmente.

B-2 : effet lié au solvant aqueux : la seule addition d'eau réduit la Falciformation contre 25,5 % chez les témoins ($p < 0,001$). Il s'agit donc d'un mécanisme d'hydratation qui explique l'action plus marquée avec FAGARA à 1 mg. - Car l'hydratation diminue lorsque la concentration en FAGARA augmente, constatation qui pose également le problème de l'influence de la tonicité.

B-3 : influence de la tonicité extraglobulaire : le TABLEAU 1 résume les effets comparés de FAGARA en milieu plasmatique et en milieu aqueux. FAGARA repris dans du plasma entraîne une hypertonicité et favorise ainsi une augmentation de la falciformation.

. FAGARA repris dans l'eau altère les effets favorables de l'hydratation qui comme nous l'avons vu plus haut réduit nettement le taux de falciformation. Ainsi l'hypotonicité initialement provoquée par le milieu aqueux est diminuée lorsque FAGARA est rajouté.

V/ - COMMENTAIRES

La falciformation induite par une hypoxémie à 15 mmHg d'O₂ est :

- Significativement diminuée par rapport aux témoins lorsqu'une solution aqueuse de F.X. est rajoutée.

MAIS :

- le même effet est observé par la simple addition du solvant aqueux. BOOKCHIN (1976) ayant prouvé que l'hypotonicité du milieu extraglobulaire favorise l'hydratation du globule rouge et diminue la concentration intracellulaire d'hémoglobine réduisant ainsi la falciformation, on peut supposer que l'effet antifalcémiant de F.X. est dû, de même, à l'hypotonicité de la préparation rajoutée ; en effet, dans les 2 milieux que nous avons testés eau distillée (hypotonicité) et plasma (isotonicité) nous n'avons pas observé d'action antifalcémiant de F.X. en milieu isotonique. Dans les travaux menés avec DBA celui-ci est dissous dans du tampon pH 7,4 ; on peut se demander si les résultats contradictoires des auteurs, aussi bien à partir des lyophilisats de F.X. que du DBA ne relèvent pas de la préparation même du milieu ? - Mais à l'inverse on pourrait également incriminer l'impureté de notre extrait aqueux total de racines lyophilisé ; une étape de désionisation de l'extrait s'avère indispensable, F.X. est notamment riche en ions potassium (jusqu'à 20 meq/l. dans l'extrait aqueux total) : ainsi les propriétés antifalcémiants dues aux seuls principes actifs pourraient être valablement discutées.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier très sincèrement pour leur aide constante le Pr. R. CABANNES, Chef du Service d'Immuno-Hématologie ainsi que nos amis du service de Physiologie Madame Y. DOSO, le Dr. F. BOUTROS-TONI et Madame BAE Madeleine.

BIBLIOGRAPHIE

1 - EL SAID F., FADULU S.O., KUYE J.O., SOFOWORA E.A. Native cures in Nigeria II. The antimicrobial properties of the buffered extracts of chewing sticks. *Lloydia (Nigeria)* - 1971 - 34 : 172-174.

2 - SOFOWORA E.A. et ISAACS W.A. Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of FAGARA zanthoxyloides. Lloydia. 1971 - 34 : 383-385.

3 - SOFOWORA E.A., ISAAC-SODEYE w.A., OGUNKOLA L.O. Isolation and characterisation of an antisickling agent from Fagara zanthoxyloides root. Lloydia. 1975. 38,2 : 169-171.

4 - HEADINGS V.E., ABU S., ANYAIBE S., CASTRO O. Characteristics of the antisickling activity of Fagara zanthoxyloides extract. Proceeding of the international conference on sickle cells disease.

5 - EKONG D.E.U., OOGUN J.I., ENYENIHI Y.U., BALOGH-NAIR V., NAKANISHI K., NATTA C. New antisickling agent : 3,4-dihydro 2,2 dimethyl, 2H-1 benzopyran -6- butyric acid. Nature 1975, 258 : 743-745.

6 - NATTA Cl. DBA : Effects on sickle cells and sickle hemoglobin biosynthesis in development of therapeutic agents for sickle cells disease. INSERM Symposium n° 9 - 1979 : 169-177.

7 - HONIG G.R., FARNSWORTH N.R., FERENC C., VIDA L.K. Evaluation of Fagara zanthoxyloides root extract in sickle cell anemia blood in vitro Lloydia. 1975 - 38 : 387-390.

8 - HONIG G.R., VIDA L.N., FERENC C. Effets in vitro of the proposed antisickling agent OBA Nature 1978, - 272 : 833-834.

9 - BOOKCHIN R.M., SALAZS T., LANDAU L.C. Determinants of red cell sickling - Effets of varying pH and increasing intracellular hemoglobin concentration by osmotic shrinkage. J. LAB. CLIN. MEO. 1976 - 597-616.

	Falcif. %	
Sang Témoin	16,3	Pas de différence significative de la Falciformation ISOTONICITE ?
Sang + Plasma	19,1	
Sang + F.X. (1) repris dans plasma	28,5	Significative : HYPERTONICITE ?
Sang + H2O	6,6	Significative : HYPOTONICITE ? mais :
Sang + F.X. repris dans H2O	13,6	L'adjonction de F.X. en réduit les effets.

Tableau I
INFLUENCE DE LA TONICITE EXTRAGLOBULAIRE ?
(milieu plasmatique/aqueux)