



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

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

Caractérisation et évaluation *in vitro* de l'effet antifalcimiant des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) sur les drépanocytes à Abidjan - Côte d'Ivoire

Emma N'DRAMAN-DONOU^{1*}, Yvette FOFIÉ², Eusèbe ADJAMBRI^{3,4},
Marie France MÉLÈDJE⁴ et Duni SAWADOGO^{3,4}

¹Unité de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire.

²Département de Pharmacologie, Botanique, Faculté de Pharmacie, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Département d'Hématologie, Faculté de Pharmacie, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴Unité d'Hématologie, Laboratoire Central, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant ; E-mail : emmandraman@gmail.com; 13 BP 2516 Abidjan 13, Côte d'Ivoire.
Tél : +225 07 16 95 78.

RESUME

La drépanocytose est une maladie génétique qui constitue un problème de santé publique en Côte d'Ivoire. Etant donné les coûts onéreux du traitement, les patients s'orientent vers la médecine traditionnelle avec l'utilisation de plantes, parmi lesquelles *Cajanus cajan*. L'objectif de ce travail était de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer *in vitro* l'effet antifalcimiant des graines de *Cajanus cajan*. Cette étude expérimentale s'est effectuée en deux phases : une première consacrée à la caractérisation des graines et l'autre concernait l'étude de l'activité antifalcimiante *in vitro* de ces graines. L'étude de l'activité antifalcimiante s'est faite sur les prélèvements sanguins de 30 drépanocytaires homozygotes SSFA₂. Après induction de la falciformation des globules rouges, l'ajout de l'extrait aqueux de la plante a permis d'évaluer l'activité antifalcimiante par la recherche des drépanocytes au microscope optique. Les graines de *Cajanus cajan* contiennent des stérols, polyterpènes, polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes. Elles sont dépourvues de toute toxicité aigüe. L'extrait aqueux diminuait le taux de drépanocytes d'environ 50% après 30 mn de contact. Cette étude a permis de montrer que les graines de *Cajanus cajan* possèdent des vertus antifalcimiantes.

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Cajanus cajan*, phytochimie, activité antifalcimiante, drépanocytose, Abidjan.

Characterization and *in vitro* evaluation of the antisickling effect of the seeds of *Cajanus cajan* (Fabaceae) on sickle cells in Abidjan - Côte d'Ivoire

ABSTRACT

Sickle cell anemia is a genetic disease that constitutes a public health problem in Côte d'Ivoire. Given the high cost of treatment, patients in Africa turn to traditional medicine with the use of plants, including

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

2444-IJBCS

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.4>

Cajanus cajan. The objective of this work was to make a phytochemical study and to evaluate *in vitro* the antisickling effect of seeds of *Cajanus cajan*. This experimental study was carried out in two phases: the first was devoted to the characterization of the seeds and the other concerned the study of the *in vitro* antisickling activity of these seeds. The study was done on the blood samples of 30 SSFA₂ homozygote patients with sickle cell anemia. After induction of the sickling of red blood cells, the addition of the aqueous extract of the plant allowed the evaluation of the antisickling activity by the search for sickle cells under an optical microscope. *Cajanus cajan* seeds contain sterols, polyterpenes, polyphenols, flavonoids, tannins and alkaloids. They are without any acute toxicity. The aqueous extract reduced the rate of sickle cells of about 50% after 30 min of contact. This study made it possible to show that the seeds of *Cajanus cajan* have antisickling virtues.

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Cajanus cajan*, phytochemical, antisickling activity, sickle cell anemia, Abidjan.

INTRODUCTION

La drépanocytose occupe la première place des hémoglobinopathies dans le monde et touche environ 3 à 3,6% de la population. C'est une affection génétique héréditaire à transmission autosomique récessive caractérisée par sa grande fréquence, plus de 120 millions de personnes sont atteintes sur la planète (Weatherall et al., 2001). Encore appelée anémie à cellules falciformes ou sicklémie, la drépanocytose est due à une mutation unique et potentielle du gène bêta de la globine situé sur le chromosome 11 entraînant le remplacement de l'acide glutamique (Glu) présent dans l'hémoglobine (Hb) A par une valine (val) dans l'Hb S. Cela entraîne un changement total de la conformation spatiale de l'Hb (Koch et al., 2000).

Cette hémoglobinopathie est retrouvée dans toute l'Afrique noire et constitue un véritable problème de santé publique dans certains pays comme la Côte d'Ivoire où l'on enregistre une prévalence de 14% (Sangaré et al., 1998). C'est une maladie dont la gravité potentielle est liée à ses complications anémiques, ischémiques et infectieuses, sources de morbidité et de mortalité chez les drépanocytaires (Tsaras et al., 2009).

La physiopathologie de la drépanocytose fait intervenir deux modifications majeures : la gélification de l'HbS désoxygénée et la falciformation des globules rouges qui sont à l'origine de la crise douloureuse.

De nombreux travaux sont entrepris depuis lors par des chercheurs et par des tradipraticiens afin de mieux cerner cette affection et de rechercher les médications les mieux adaptées aux crises douloureuses. En effet, seul le traitement symptomatique était envisagé aussi bien par les médecins que par « les guérisseurs » appelés aujourd'hui tradipraticiens.

Mais depuis un certain nombre d'années, les recherches ont permis la découverte des plantes ayant une activité sur la structure de l'hémoglobine S, Hb anormale, ayant de ce fait un effet antifalcimiant. Parmi ces plantes recommandées par les tradipraticiens, figurent les graines de *Cajanus cajan*.

L'objectif de ce travail était de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer *in vitro* l'effet antifalcimiant des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) ou pois d'Angole utilisées dans l'alimentation et par certains tradipraticiens pour traiter la drépanocytose.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Il s'agit d'une étude expérimentale qui a eu lieu à Abidjan à l'Unité de Formation et de Recherches (UFR) des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques dans les Laboratoires de Pharmacognosie et de Pharmacologie pour les études phytochimiques et toxicologiques. L'évaluation de l'activité antifalcimiante a été réalisée à l'unité d'Hématologie du laboratoire central du Centre Hospitalier et Universitaire

(CHU) de Yopougon. L'étude a porté sur les graines contenues dans la gousse de *Cajanus cajan* parvenue à maturité. Les graines ont été récoltées en Octobre 2009 à la Riviera 2 (Abidjan, au Sud de la Côte d'Ivoire). La plante et les graines ont été identifiées par le professeur Aké Assi du Centre National de Floristique. Après la récolte, les graines ont été séchées à l'ombre au laboratoire à température ambiante puis broyées à l'aide d'un moulin afin d'obtenir une poudre. Des souris blanches femelles de souche non consanguine fournies par l'animalerie de l'UFR de Biosciences de l'Université de Cocody ont été utilisées pour l'étude de la toxicité aiguë. Les poids ont varié de 22 à 26 g. Pour l'évaluation de l'activité de la plante, après un consentement éclairé, le prélèvement de sang veineux de 30 drépanocytaires homozygotes majeurs SSFA₂ au niveau du pli du coude a été réalisé. Chaque échantillon a été recueilli dans un tube violet contenant de l'éthylène diamine tétracétate (EDTA).

Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé sur deux extraits : un extrait aqueux par infusion et un extrait par des solvants organiques (extraction chloroformique et extraction méthanolique).

- **Extraction par infusion**

Dans un erlenmeyer de 100 ml, 5 g de graines séchées puis pulvérisées grossièrement ont été macérés dans 50 ml d'eau distillée portée à 100 °C. Après 15 mn d'infusion, la préparation a été filtrée sur du coton. L'infusé obtenu constitue la solution n°3.

- **Extraction par solvants successifs**

Extraction chloroformique : Dans une fiole conique de 500 ml, à 20 g de graines séchées, grossièrement pulvérisées ont été ajoutés 60 ml de chloroforme. Une agitation manuelle a été réalisée pendant 15 mn et la solution a été filtrée. La même opération a été répétée 3 fois avec 60 ml de chloroforme en agitant manuellement pendant 10 mn. Par la suite, les 3 filtrats ont été réunis et concentrer

sur bain de sable. Cette série d'opération permet de constituer la solution n°1.

Extraction méthanolique : Elle consiste à extraire le marc préalablement séché avec deux fois 60 ml de méthanol (en deux fois 15 mn) puis à réunir les filtrats qui seront concentrés de sorte à obtenir 25 ml. Ce concentré constitue ainsi la solution n°2. Ensuite, la recherche de différents groupes chimiques que sont les stérols, les polyterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les substances quinoniques et les alcaloïdes, a été réalisée.

Pour l'étude de la toxicité et l'évaluation de l'activité antifalcimante de la plante, l'extrait utilisé a été obtenu en faisant bouillir un (1) kg de graines de *Cajanus cajan* dans environ 1,5 litres d'eau pendant 45 mn, ce qui a permis d'obtenir un litre de décocté. Ce décocté a été reparti dans des assiettes pour le sécher à l'étuve à une température de 70 °C pendant trois jours. Ceci a permis d'obtenir l'extrait sec.

La concentration à la limite de la solubilité (C_{max}) a été obtenue avec 1 g d'extrait sec pour 3ml d'eau distillée d'où C_{max} = 333,35 mg/ml.

Etude de la toxicité aiguë

Selon l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE) n°425, on détermine la mortalité après vingt quatre (24) heures sur un lot de 3 animaux lors d'une administration unique. Le critère le plus important est la dose létale (DL₅₀) : c'est la dose qui tue 50% des animaux. En cas d'absence de mortalité, l'opération est alors répétée avec un lot de 6 animaux. Si l'absence de mortalité est confirmée, alors le produit n'est pas toxique à C_{max} donc ne saurait l'être aux concentrations inférieures. Lorsqu'il y a un cas de mortalité, le produit est dit toxique à C_{max} et une dilution au 1/5 est effectuée. Si à cette dilution, aucune mortalité n'est observée, des dilutions intermédiaires au 1/2, au 1/4 sont réalisées en vue de déterminer une éventuelle mortalité.

En cas de mortalité au 1/5, on effectue une dilution au 1/10 et cela jusqu'à ce que la mortalité soit nulle.

La dose administrée est une dose unique de 0,6 ml pour 20 g de poids corporel de souris d'extrait des graines de *Cajanus cajan* à la concentration maximale (Cmax) de 333,35 mg/ml, ce qui équivaut à 10 g/kg de poids corporel.

Evaluation de l'activité antifalcimiante

L'évaluation de l'activité antifalcimiante de *Cajanus cajan* (Fabacées) sur les cellules de globules rouges (GR) s'est faite selon le protocole suivant :

- Etape 1 : Induction de la falciformation par le test d'Emmel : Il s'agissait donc de mélanger 10 µl de sang HbSSFA₂ et 20 µl de solution de métabisulfite de sodium à 2% sur une lame qui est recouverte avec une lamelle en évitant la formation de bulles d'air. L'observation 15 mn après (T0) au microscope au grossissement x 40 de la préparation permet de déterminer le pourcentage de globules rouges (GR) falciformes.

- Etape 2 : étude de l'activité antifalcimiante de l'extrait sec des graines de *Cajanus cajan* : A ce niveau, dans un tube à essai, le mélange de 50 µl de sang HbSSFA₂, 50 µl de solution de métabisulfite de sodium à 2% et 50 µl de l'extrait aqueux à la Cmax de 333,35mg/ml a été fait. Le tube à essai était fermé par du paraffine pour exclure l'air. L'observation d'une goutte de ce mélange entre lame et lamelle au grossissement x 40 après 30 mn, 1h, 1h30 mn, 2h et 2h30 mn ce qui correspond respectivement à T1, T2, T3, T4 et T5 a été réalisée pour déterminer le pourcentage de GR falciformes à ces différents temps sans oublier de refermer chaque fois le tube à essai avec le paraffine.

Un lot essai et un lot contrôle ont été réalisés par la suite afin d'évaluer la réversion de la falciformation sur du sang dilué au 1/20^{ème}. Dans le lot essai, il s'agissait de mettre en contact 50 µl du sang HbSSFA₂ dilué, 50µl du sérum physiologique et 50 µl de l'extrait de *Cajanus cajan* puis observer une goutte de ce mélange entre lame et

lamelle au grossissement x 40 aux temps T1 à T5 afin de noter les pourcentages de drépanocytes. Le lot contrôle consistait à mélanger 50 µl de sang HbSSFA₂ dilué, 50 µl de métabisulfite de sodium à 2% et 50 µl de solution saline puis à observer une goutte de ce mélange entre lame et lamelle aux différents temps afin de compter les GR falciformes.

Analyse des données

Les analyses des données ont été réalisées à l'aide du logiciel EXCEL 2007. Les données dans les tableaux et sur les figures sont exprimées en Moyenne ± écart type, et des comparaisons ont été faites.

RÉSULTATS

Screening phytochimique

Le screening phytochimique des graines sèches de *Cajanus cajan* a permis de mettre en évidence la présence de stérols, de polyterpènes et d'alcaloïdes dans les différents extraits. Des polyphénols et des flavonoïdes ont également été retrouvés seulement dans l'extrait méthanolique et dans l'infusé des graines sèches. Les flavonoïdes et des tanins sont des composés polyphénoliques, d'où leur absence dans l'extrait chloroformique des graines sèches de *Cajanus cajan*. Les tanins galliques n'étaient pas présents dans l'extrait méthanolique et dans l'infusé des graines sèches. Les résultats du screening phytochimique sont décrits dans le Tableau 1.

Etude de la toxicité aiguë

Vingt quatre (24) heures après ingestion d'extrait de graines de *Cajanus cajan* à la dose de 10g/kg de poids corporel, les neufs (9) souris de l'expérience étaient vivantes. Un état d'agitation temporaire suivi d'un calme (Tableaux 2 et 3) a été observé. Cette étude révèle que la graine de *Cajanus cajan* n'est pas toxique d'après l'interprétation de la DL₅₀. De ce fait, elle ne saurait l'être aux doses inférieures. Les graines de *Cajanus cajan* sont donc dépourvues de toxicité aiguë dans les conditions de l'étude.

Activité antifalcimiante des graines

Tests avec l'extrait sec

L'étude de l'activité des graines a révélé une baisse du pourcentage des cellules falciformes au cours du temps. Cette décroissance était accentuée entre T0 et T2 (Figure 1). Une comparaison de l'évolution du pourcentage des drépanocytes a montré que la décroissance du pourcentage des cellules falciformes était plus accentuée entre T0 et T1 donc en 30 mn pour les échantillons contenant

plus de 15% de drépanocytes au départ (Figure 2).

Lots essai et contrôle

L'analyse des résultats du lot essai montrait que plus le temps de contact entre la plante et le sang était élevé, moins il y avait de drépanocytes. Les résultats du lot contrôle ont révélé que le pourcentage de drépanocytes ne variait pas en fonction du temps de contact en l'absence de la plante (Tableau 4).

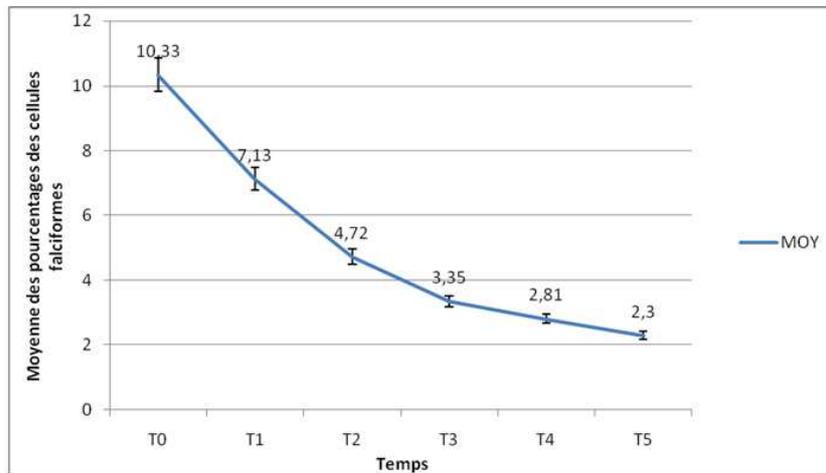


Figure 1 : Evolution du pourcentage des cellules falciformes au cours du temps. MOY : Moyenne des pourcentages.

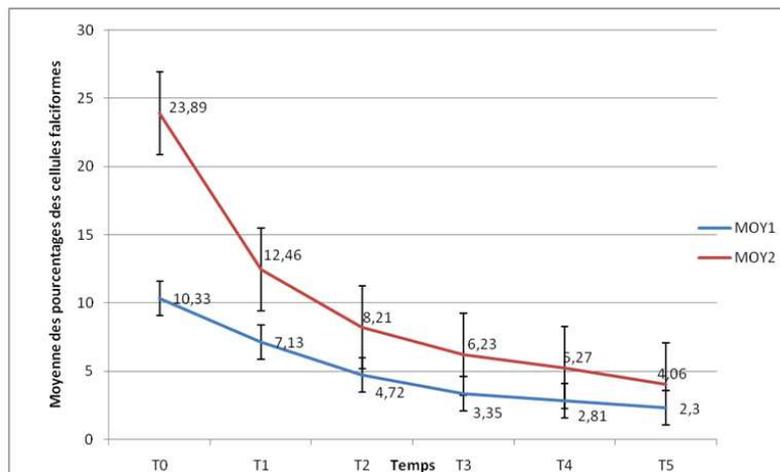


Figure 2 : Evolution du pourcentage des drépanocytes pour les échantillons contenant plus de 15% de drépanocytes à T0. MOY1 : Moyenne des pourcentages des drépanocytes de tous les échantillons de T0 à T5. MOY2 : Moyenne des pourcentages des drépanocytes pour les échantillons renfermant plus de 15% de drépanocytes à T0.

Tableau 1 : Composition chimique des graines sèches de *Cajanus cajan*.

Extraits	Groupes chimiques							
	Stérols Polyterpènes	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins		Substances quinoniques	Alcaloïdes	
				Gal	Cat		D	B
Extraits I (Chloroformique)	+	-	-	-	-	-	+	+
Extrait II (Méthanolique)	+	+	+	-	-	-	+	+
Extrait III (Infusé)	+	+	+	-	-	-	+	+

NB : -Gal = gallique ; Cat = cathéchique ; D = Dragendorff ; B = Bouchardat

- signe (+) : indique une réaction positive

- signe (-) : indique une réaction négative

Tableau 2: Evaluation de la toxicité le 1^{er} jour sur un lot de 3 souris.

Souris	1	2	3
Masse (g)	24	25	26
Volume d'extrait des graines (ml)	0,72	0,75	0,78
Résultat après 24h	Vivante	Vivante	vivante

Tableau 3: Evaluation de la toxicité le 2^{ème} jour sur un lot de 6 souris.

Souris	1	2	3	4	5	6
Masse (g)	26	25	24	22	26	25
Volume d'extrait des graines (ml)	0,78	0,75	0,72	0,66	0,78	0,75
Résultat après 24h	vivante	vivante	vivante	Vivante	vivante	vivante

Tableau 4 : Evolution des cellules falciformes en fonction du temps dans les lots essai et contrôle.

Temps	Lot	Moyenne \pm écart type	Minimum (%)	Maximum (%)
T1 (30 mn)	Essai	1,05 \pm 0,82	0	2,89
	Contrôle	2,45 \pm 1,76	0,2	6,5
T5 (2h30mn)	Essai	0,16 \pm 0,29	0	1,03
	Contrôle	2,41 \pm 1,77	0,19	6,72

DISCUSSION

Screening phytochimique

Cette étude phytochimique qualitative montre que tous les groupes chimiques identifiés au niveau des graines de *Cajanus cajan* sont extractibles par l'eau comme cela se voit avec l'infusé. Lors de la caractérisation du matériel végétal à partir des réactions en tube, il a été mis en évidence la présence des substances chimiques suivantes : des stérols et polyterpènes, des polyphénols, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Ces résultats se rapprochent de ceux d'Ogoda et al. (2002) qui ont mis en évidence des alcaloïdes, des composés phénoliques et des saponines.

Etude de la toxicité aiguë

L'usage des souris plutôt que des rats ou des lapins semble être plus intéressant dans l'étude de la toxicité aiguë du fait de leur coût peu onéreux, leur manipulation plus aisée et surtout leur grande disponibilité. Aussi les meilleurs et les plus utilisés des protocoles sont ceux qui permettent de sacrifier le moins d'animaux et d'avoir des résultats fiables pendant l'étude de la toxicité d'un produit (OCDE, 2001). C'est le cas du protocole qui a été utilisé dans cette étude. A partir de l'extrait du décocté de *Cajanus cajan* à la Cmax de 333,35 mg/ml, l'étude de la toxicité réalisée a montré que l'extrait aqueux était exempt de toute toxicité aiguë dans cette étude. Cela s'est vérifié par l'absence de signes cliniques et de souris mortes durant les deux jours d'observation.

Etude de l'activité antifalcimiante

Le lot essai a permis de constater que la baisse du nombre des drépanocytes de T1 à T5 était liée à la présence de *Cajanus cajan*.

Le faible taux de drépanocytes était dû à l'absence de métabisulfite de sodium. Dans le lot contrôle, le taux de drépanocytes était faible à cause de l'absence du métabisulfite de sodium. Ce taux était presque stable de T1 à T5 en l'absence de la plante.

Activité de l'extrait des graines

En présence de l'extrait sec des graines de *Cajanus cajan*, une baisse du pourcentage des cellules falciformes au cours du temps a été observée. La décroissance du taux des drépanocytes observée était très accentuée entre T0 et T1 et cette baisse de drépanocytes était de 50% (Figure 2). Ces résultats sont en accord avec ceux d'Ogoda et al. (2002) qui ont rapporté dans une étude *in vitro* que les extraits aqueux des graines de *Cajanus cajan* étaient capables à la fois d'inhiber la falciformation dans une solution de métabisulfite de sodium et de permettre aux érythrocytes falciformes de revenir rapidement à une morphologie normale. De même, une compagnie pharmaceutique basée au Nigéria a produit une préparation alimentaire appelée Ciklavit® à partir des extraits du *Cajanus cajan* qui aurait des propriétés antifalcimiantes et qui serait employé dans la gestion de la drépanocytose (Akinsulie et al., 2005). L'effet antifalcimiant de ce médicament a été confirmé par l'étude préliminaire de Iweala et al. (2010)

Chez les drépanocytaires, on note une baisse importante de tous les acides aminés en particulier les acides aminés essentiels, consécutive à l'augmentation de leur excrétion urinaire, ce qui permet d'expliquer en partie le retard de croissance des malades (Thauraux, 2008). Aussi, de nombreux auteurs ont montré que les acides aminés (Ogoda et al.,

2002), et en particulier les acides aminés aromatiques ont la possibilité d'inhiber la prise en gel de la désoxyhémoglobine S et d'empêcher partiellement la formation de cellules falciformes. Il en est de même pour les esters de la phénylalanine (Acquaye et al., 1982) et des peptides contenant de la phénylalanine (Vanderyagt et al., 1997).

Ainsi, dans une étude menée par Ekéké et al. (1990), l'analyse des acides aminés a montré que les extraits de solvants des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) contiennent comme acides aminés libres 26,3% de phénylalanine. Ce pourcentage estimé de la phénylalanine libre a montré que la présence de cet acide aminé seul pourrait représenter environ 70% de l'activité anti-drépanocytaire de *Cajanus cajan*. La quantité de phénylalanine a été évaluée dans les graines de *Cajanus cajan* à environ 5 mg par gramme selon une étude menée par Akojie et al. (1992). On note également la présence d'acides phénoliques (21 mg par gramme de graines). L'addition de graines de *Cajanus cajan* dans l'alimentation du drépanocytaire devrait permettre de compenser les pertes urinaires en acides aminés et en même temps de diminuer les crises douloureuses.

Conclusion

Les substances actives des graines de *Cajanus cajan* inhibent la falciformation et permettent aux drépanocytes de retrouver leur forme normale. L'action de la plante était d'autant plus importante que le taux de drépanocytes était élevé. A la Cmax de 333,35 mg/ml, un effet antifalcimiant de 50% en 30 mn était observé. La graine de *Cajanus cajan* a un effet antifalcimiant. De ce fait, son utilisation devrait être envisagée chez le drépanocytaire surtout que c'est une plante dont la culture est facile, très rependue et non toxique.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

EN'D-D a été responsable de l'évaluation de l'activité antifalcimiant de l'extrait sec des graines de *Cajanus cajan*, de l'exploitation des résultats et de la rédaction du manuscrit.

YF a réalisé le screening phytochimique. EA a contribué à l'évaluation de l'activité antifalcimiant de l'extrait sec des graines. MFM a été responsable de l'étude de toxicité aiguë et DS a initié et supervisé les travaux.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les responsables et le personnel de l'unité d'Hématologie du CHU de Yopougon sans oublier ceux des laboratoires de Pharmacognosie et de Pharmacologie de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody pour leur disponibilité et leur aide à la bonne réalisation des travaux. Des remerciements vont également à l'endroit de tous ces patients qui ont accepté de participer à cette étude.

RÉFÉRENCES

- Acquaye CTA, Young JD, Ellory JC, Gorecki M, Wilcher M. 1982. Mode of transport and possible mechanism of action of phenylalanine benzyl ester as an anti-sickling agent. *Biochim. Biophys. Acta*, **693**: 407-416.
- Aké Assi et al. 1977. Médecine traditionnelle et pharmacopée : Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à la Réunion. Réunion. Rapport ACCT. p 139.
- Akinsulie AO, Temiye EO, Akanmu AS, Lesi FE, Whyte CO. 2005. Clinical Evaluation of Extract of *Cajanus cajan* (Ciklavit®) in Sickle Cell Anaemia. *J. Trop. Pediatr.*, **51**: 200-205.
- Akojie FOB, Fung VM. 1992. Antisickling activity of hydroxybenzoic acids in *Cajanus cajan*. *Planta Medica*, **58**: 317-320.
- Ekéké GI, Shode FO. 1990. Phenylalanine is the predominant antisickling agent in

- cajanus cajan* seed extract. *Planta Medica*, **56**: 41 – 43.
- Iweala EE, Uhegbu FO et Ogu GN. (2010) Preliminary *In Vitro* Antisickling Properties of Crude Juice Extracts of *Persia Americana*, *Citrus Sinensis*, *Carica Papaya* and *Ciklavit®*. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, **7**(2): 113–117.
- Koch AA, Yang Q, Olney RS. 2000. Sick cell hemoglobin allele and sickle cell disease: a HuGE review. *Am J Epidemiology*, **151**(9): 839–845.
- OCDE. 2001. Acute oral toxicity-up-and-down procedure. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques n°425.
- Ogoda OJ, Akubue PI, Okide GB. 2002. The kinetics of reversal of pre-sickled erythrocytes by the aqueous extract of *Cajanus cajan* seeds. *Phytother Res.*, **16**(8): 748-50.
- Sangaré A, Koffi KG, Allangba O et al. 1998. Etude comparative du Ketoprofène et de la Buprenorphine dans le traitement des crises douloureuses drépanocytaires. *Medecine d'Afrique Noire*, **4**: 138–143.
- Tharaux PL. 2008. Une molécule utilisée dans l'hypertension artérielle pulmonaire pourrait aider à traiter la drépanocytose. Information presse < [http : www.inserm.fr/fr/presse/communiqués/ att0000373/cp_drepanocytose_030408. pd](http://www.inserm.fr/fr/presse/communiqués/att0000373/cp_drepanocytose_030408.pdf)> consulté le 17/03/09.
- Tsaras G, Owusu-Ansah A, Boateng FO, Amoateng-Adjepong Y. 2009. Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. *The American Journal of Medicine*, **122**(6):507–512.
- VanderJagt DJ, Kanellis GJ, Isichei C, Pastuszyn A, Glew RH. 1997. Serum and urinary amino acid levels in sickle cell disease. *J. Trop. Pediat.*, **43**: 220 – 225.
- Weatherall DJ, Clegg JB. 2001. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bulletin of the WHO.*, **79**: 704-712.