

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABDERRAHMANE MIRA – Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Activité anti-hyperuricémique et anti-xanthine
oxydoréductase *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de
Fraxinus angustifolia

Présenté par :

M^{elle} ABDERRAHMANE Sarra

M^{elle} AMMAOUI Merbouha

Membre de jury :

Président : M^r ATMANI D.

Promotrice : M^{elle} AYOUNI K.

Examinatrice : M^{me} BERBOUCHA-RAHMANI M.

Examinatrice : M^{me} BENAIDA-DEBBACHE N.

Grade et lieu :

Professeur (U.A.M.B.)

M.A.A. (U.A.M.B.)

M.A.A. (U.A.M.B.)

M.A.A. (U.A.M.B.)

Année : 2012/2013



Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon père et ma mère pour tout le dévouement qu'ils portaient à mes études et en reconnaissance de l'éducation et de toute l'affection qu'ils ne cessent de m'apporter ;

A mes frères et sœurs pour leur soutien moral ;

A tous les enseignants du laboratoire de Biochimie Appliquée ;

A tous mes amis et particulièrement à Karima et Assia, sans oublier Katia, Nawal, Lynda, Yasmine, Hamid, Massinissa, Mazigh, Massina, Atmane, Hamza, Leïla, Lilia, Lydia, Ghania, Fatima, Salma, Kahina, Asma, Nabila, Wahiba, Naima, qui m'ont soutenu et à tous mes camarades de la promotion de Pharmacologie Moléculaire.

A tous ceux qui m'ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces longues années.

Sarra



Dédicace

Je dédie ce modeste travail d'abord à mon cher père Mehamed pour ses sacrifices, et sa contribution à devenir ce que je suis maintenant.

À ma merveilleuse maman Yamina pour son soutien quotidien tout au long de mon parcours d'étude.

Sans oublier une spéciale dédicace à ma grand-mère Mira.

À mes adorables frères : Mā Saïd, Billal, Kamel, et à mes belles sœurs qui grâce à leurs enthousiasme m'ont offert un soutien moral.

À ce lui qui ma toujours soutenu et beaucoup aider Mohamed.

À tout mes amies : Lamia, Kahina, Malika, Laldja, Sabiha.

À toute la promotion Pharmacologie Moléculaire 2013.

Merbouha

Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la santé afin de réaliser ce modeste travail.

Nos sincères remerciements à notre promotrice M^{lle} Ayouni K., pour son soutien, ses conseils, sa présence et son aide tout au long de cette expérience.

Nos vifs remerciements vont à M^r Atmani d'avoir accepté d'être président du jury et d'honorer notre soutenance.

Nous remercions M^{me} Berboucha M., et M^{me} Debbache N. d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

Nous remercions également tout ceux qui travaillent dans le laboratoire de Biochimie Appliquée et tous ceux qui nous ont aidé à réaliser ce modeste travail.

Sarra et Merbouha

Liste des Abréviations

ABCG2: ATP-binding cassette sub-family G member 2.

ABCG2m : ATP-binding cassette sub-family G member 2 messenger.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.

ARN: Acide ribonucléique.

ASC: Apoptosis-associated speck-like protein.

ATP: Adénosine Tryphosphate.

BSA: Bovine Serum Albumin.

EDTA : Ethylène diamine tétraacétique.

FAD : Flavine Adénine di-nucléotide.

Fe₂S₂ : Fer Soufre.

FEUA : Fraction d'excrétion de l'acide urique.

FF : Feuilles de *Fraxinus angustifolia* .

GLUT9 : Glucose Transporter.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

IC₅₀ : Inhibition Concentration 50%

IL1b, 1, 6, 8, 18 : Interleukine 1b,1, 6, 8, 18.

K₂HPO₄ : Di-potassium monohydrogène phosphate.

KCl : Chlorure de potassium.

KH₂PO₄ : Di-hydrogenophosphate de potassium.

Mo : Molybdoptérine.

mOAT1 : Organique Anion Transporteur 1.

NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH⁺ : Nicotinamide adenine dinucléotide réduit

NLRP3 : NLR family, pyrin containing 3.

O₂ : Oxygène.

O₂⁻ : Anion superoxide.

OP : Oxonate de Potassium.

OCT et OCTN : Organic Cation and Carnitine Transporters.

OTA4 : Organic Anion Transporter.

pH : Potentiel hydrogène.

ROS : Reactive Oxygen Spicies.

S.E.M. : Standard error of the mean.

TLR2/4 : TOLL-Like receptor.

TREM-1 : Myeloid cells express receptors.

U.I. : Unité internationale.

UMS : Urate Monosodique.

URAT1 : Urate Transporter 1.

URAT1m : Urate acide Transporter 1 messenger.

XDH : Xanthine Déshydrogénase.

XO : Xanthine oxydase.

XOR : Xanthine Oxydoréductase.

Liste des figures

Figure 01: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase et la xanthine déshydrogénase	03
Figure 02 : Structure des trois centres actifs de la XOR (1), Structure de la xanthine(2).....	03
Figure 03 : Mécanisme de génération des ROS par la XOR dans les tissus lors du processus d'ischémie/réperfusion.....	06
Figure 04 : Structure chimique de l'acide urique.....	07
Figure 05 : Synthèse et élimination de l'acide urique dans l'organisme	07
Figure 06 : Tophi au niveau des métacarpophalangiennes, des interphalangiennes proximales et distales (1) ; Tophi au niveau de l'hélix de l'oreille (2); Accès goutteux (3).....	09
Figure 07 : Activation des réponses cellulaires des voies dépendantes et indépendantes de l'inflammasome par les cristaux d'UMS	10
Figure 08 : L'action de l'Allopurinol.....	12
Figure 09 : Photographie de l'arbre et des feuilles réelles de <i>Fraxinus angustifolia</i> (Frêne).....	18
Figure 10: Schéma récapitulatif des étapes de la procédure d'extraction.....	20
Figure 11: L'effet de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> et l'allopurinol sur le taux d'acide urique dans le sérum chez les souris normales et hyperuricémiques traitées avec l'oxonate de potassium.....	25
Figure 12 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> sur l'activité XO/XDH chez les souris normales	27
Figure 13 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> sur l'activité de XO et XDH dans les foies des souris mâles hyperuricémiques.....	28

Liste des tableaux

Tableau I : Plantes à activité anti-hyperuricémique <i>in vivo</i>	13
Tableau II : Plantes à activité anti-xanthine oxydoréductase <i>in vitro</i>	14
Tableau III : Plantes à activité anti-xanthine oxydoréductase <i>in vivo</i>	14
Tableau IV : Les différents types des composés phénoliques de <i>Fraxinus angustifolia</i>	16
Tableau V : Répartition des différents lots et leurs traitements respectifs	21
Tableau VI : Résultats de l'activité et du pourcentage d'inhibition de la XO/XDH.....	26
Tableau VII : Les composés actifs extraits par différents solvants	30

Sommaire

Introduction	01
--------------------	----

I. Synthèse Bibliographique

I.1. L'hyperuricémie.....	02
I.1.2. L'uricémie et l'hyperuricémie	02
I.2. La xanthine oxydoréductase (XOR)	02
I.2.1. Structure de la XOR.....	03
I.2.2. Distribution et localisation	04
I.2.3. Propriétés enzymatique et mécanisme d'action	04
I.2.4. La conversion de la XDH en XO	04
I.2.5. Rôles physiologiques de la XOR	05
I.2.6. Les pathologies liées à la XOR	05
I.2.7. La XOR et la maladie de la goutte	06
I.3.L'acide urique	06
I.3.1. Synthèse de l'acide urique	07
I.3.2. Elimination de l'acide urique	08
I.3.3. Propriétés antioxydante de l'acide urique	08
I.3.4.La maladie de la goutte	09
I.3.5. Facteurs de risque de la goutte	09
I.3.6. Physiopathologie de la crise de goutte	10
I.3.7. Les traitements de la goutte.....	11
I.3.8. Traitement de l'hyperuricémie par les plantes médicinales.....	13
I.4. <i>Fraxinus angustifolia</i>	15
I.4.1. Description botanique	15
I.4.2. Propriétés.....	15
I.4.3. Principes chimiques	15

II. Matériels et Méthodes

II.1.Matériels	18
II.1.1.Matériel végétal	18
II.1.2.Matériel animal	18
II.1.3.Réactifs chimiques	18
II.1.4.Matériels divers.....	19

II.2.Méthodes	19
II.2.1.Préparation de l'extrait.....	19
II.2.2.Préparation des lôts	20
II.2.3.Prélèvement des échantillons biologiques	21
II.2.4.Préparation des sérums	21
II.2.5.Préparation des homogénats de foies.....	22
II.2.6.Dosage de l'acide urique.....	22
II.2.7.Activité inhibitrice de la xanthine oxydase et xanthine déshydrogénase	22
II.3.L'analyse statistique	23
III. Résultats et Discussion	
III.1. Résultats	24
III.1.1.Résultats de l'extraction	24
III.1.2.Effets sur le taux d'acide urique dans le sérum.....	24
III.1.3.Effets sur les activités XO/XDH	26
III.2.Discussion	30
III.2.1.L'extraction	30
III.2.2.Les taux d'acide urique et l'activité de la XO/XDH.....	30
Conclusion.....	35
Références bibliographiques	36
Annexes.....	I

Depuis l'antiquité, les Hommes se sont soignés avec des plantes car ils cherchaient parmi elles des remèdes à leurs maux, d'où est née la phytothérapie. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent ; les premiers peuples ont probablement découvert ces propriétés par hasard, religion, superstition ou par expérience au cours des siècles, et à chaque génération, ils ont ainsi accumulé des connaissances sur les plantes médicinales (**Neves et al., 2009**).

L'information sur les plantes a été mise par écrit et organisée sous forme de longs textes appelés pharmacopées, qui expliquent le mode de préparation de chaque plante et son emploi pour un traitement donné (**Hannewald, 2009**).

Pour faire face aux problèmes de santé publique, tels que les cancers, les maladies génétiques...etc, l'industrie pharmaceutique est continuellement à la recherche de nouveaux médicaments à base de principes actifs issus de différentes plantes (**Hannewald, 2009**).

De plus, les plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en voie de développement, car les populations se retrouvent face à des problèmes des coûts et /ou d'accessibilité, se qui les obligent à retourner vers la pharmacie traditionnelles et les herboristes (**Tardivon et Si-Mohamed, 2012**).

Plusieurs principes actifs peuvent agir comme inhibiteurs des différentes enzymes telles que la cyclogénase, la xanthine oxydase,.....La xanthine métabolise l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique, un excès d'expression de cette enzyme conduit à l'augmentation du taux d'acide urique dans le sang, causant ainsi l'apparition de plusieurs désordres métaboliques tels que l'hyperuricémie, un facteur de risque important dans l'apparition de la maladie de la goutte (**Van Hoorn et al, 2002**).

Fraxinus angustifolia est une plante très répandue en Algérie et utilisée en médecine traditionnelle mais aussi dans d'autres pays méditerranéens, elle est connue sous plusieurs noms communs : frêne oxyphylle, aslen, utilisée pour ses vertus antigoutteuse, antibactérienne et antirhumatismale (**Baba aissa, 1999**).

Ce modeste travail, consiste à étudier les effets anti-hyperuricémique et anti-xanthine oxydoréductase *in vivo* sur des souris normales et hyperuricémiques, de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante.

I.L'hyperuricémie :

I.1.L'uricémie et l'hyperuricémie :

L'uricémie normale est définie par un taux d'acide urique compris entre 50 à 60 mg/l chez l'homme, et entre 40 à 50 mg/l chez la femme. L'uricémie moyenne est de l'ordre de 700 à 800 mg /j en régime libre, et elle est d'environ 250 à 600 mg/j dans un régime hypopurinique (**Alaoui et al., 2010**).

L'hyperuricémie est une anomalie biologique ou biochimique fréquente, résultant d'une production excessive d'urate dû à l'enzyme xanthine oxydase (XO) et/ou d'une excrétion rénale diminuée d'acide urique. Elle correspond à la limite supérieur de l'uricémie au-delà de laquelle le risque de goutte devient notable, elle est de 70mg/l aussi bien chez l'homme que chez la femme (**Sware et Brulé, 1991; Izzedine et Deray, 2011; Hummel, 2012**).

La prévalence de l'hyperuricémie varie selon les pays et les populations. Dans la plupart des populations occidentales 3 à 5% ont une uricémie supérieure à 80 mg/l, 5 à 20% des sujets de sexe masculin ont une uricémie supérieure à 70 mg/l. Cette prévalence est beaucoup moins fréquente chez les femmes, seulement 0,5% ont une uricémie supérieure à 70 mg/l. Seul 10% des hyperuricémies évoluent vers une goutte et le risque augmente avec la durée et le degré de l'hyperuricémie (**Dédirot, 2012**). L'augmentation de l'hyperuricémie, par conséquent, a une thérapeutique significative, et la XO est la clé cible.

I.2.La xanthine oxydoréductase (XOR) :

La xanthine oxydoréductase (XOR) est un complexe molybdoflavoprotéique qui a été identifié pour la première fois dans le lait bovin (**Francois, 1973; Ball, 1938**). La xanthine oxydase (XO) et la xanthine déshydrogénase (XDH) sont des formes interconvertibles de cette même enzyme XOR. Elle est indispensable au métabolisme des purines, et catalyse l'oxydation de la xanthine et l'hypoxanthine en acide urique (**Ball, 1938**), et la production de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène (Figure 01) (**Berry et Hare, 2004; Ernst et Fravel, 2009; Doehner et Landmesser, 2011**).

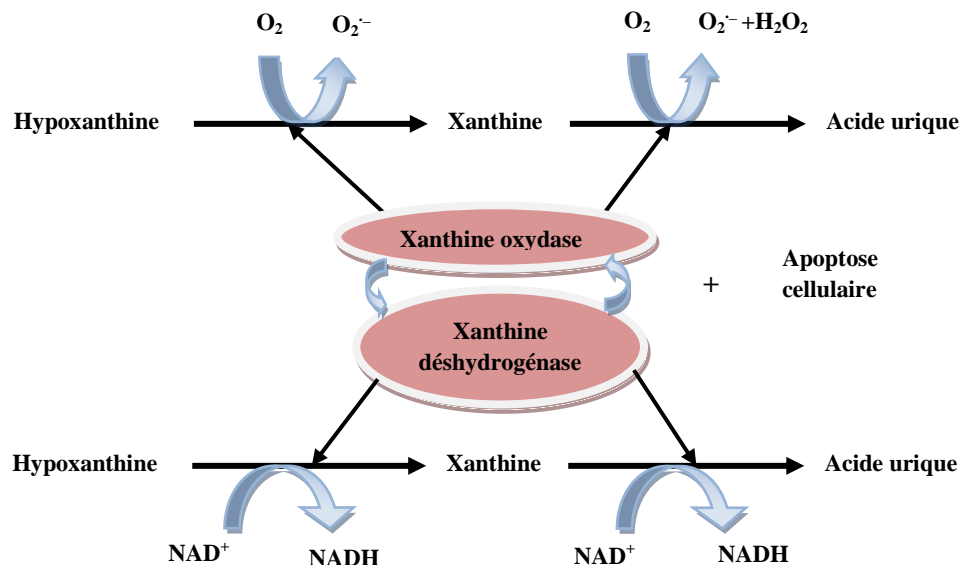


Figure 01 : Procéssus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase et la xanthine deshydrogénase (**Berry et Hare, 2004 ; Ichida et al., 2012**).

I.2.1. Structure de la XOR:

La XOR est une enzyme homodimère de 290KDa, composée de deux sous unités identiques. Chaque sous unité est organisée en trois domaines, chacun est associé à un cofacteur spécifique : le domaine N-terminal, contient deux centres le Fe₂/S₂, le domaine central FAD et le domaine C- terminal, contient un centre molybdoptérine Mo (**Montalbini, 2000 ; Harrison, 2002 ; Leimkübler et al., 2003**). Les structures de la XOR et son substrat sont représentées dans la figure.

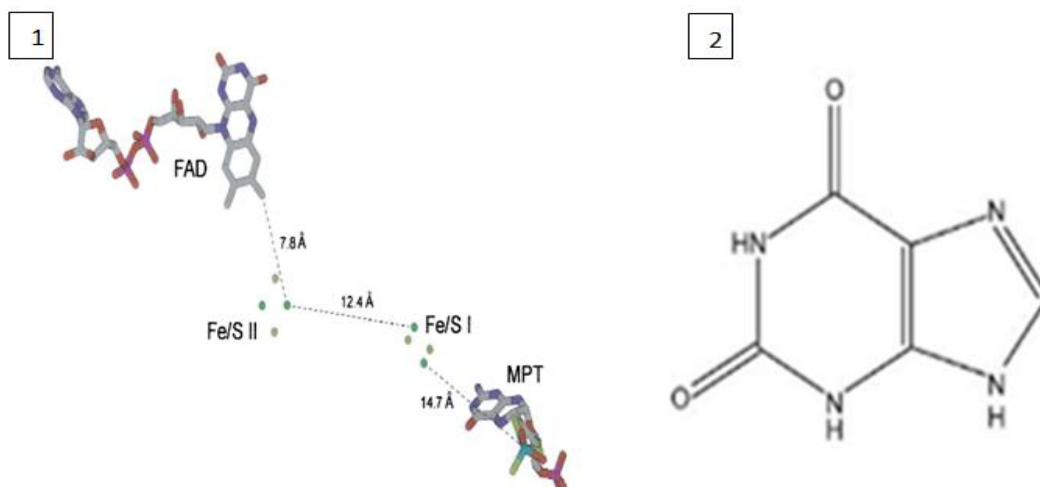


Figure 02 : Structure des trois centres actifs de la XOR (1) (**Harrison, 2002**), Structure de la xanthine(2) (**Danny et al., 2002**).

I.2.2. Distribution et localisation :

La XOR est distribuée dans la plupart des êtres vivants, comme les bactéries, les végétaux et l'Homme. Le gène de la XOR est hautement exprimée dans le foie et l'intestin grêle où elle a une forte activité, mais se trouve à des fortes concentrations dans le cytoplasme et au niveau de la membrane cellulaire, elle est très abondante dans le lait (**Hayden et Duke, 1979; Harrison, 2002; Berry et Hare., 2004; Korantzopoulos et al., 2012**).

I.2.3. Propriétés enzymatique et mécanisme d'action :

La XOR catalyse la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (**Bray, 1975**). L'oxydation de la xanthine et de l'hypoxanthine se fait au niveau du centre Mo de l'enzyme en lui donnant deux électrons, qui sont transférés au centre FAD par l'intermédiaire des centres Fe_2S_2 , considérés comme réservoirs d'électrons. Ensuite le NAD^+ , ou l' O_2 , accepte les électrons à partir du centre FAD. L'oxygène moléculaire (O_2) peut être réduit par la XO soit d'une manière bivalente pour donner le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ou d'une manière univalente pour donner le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). Le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) peut donc se former à partir de l' H_2O_2 . Par contre, le NAD^+ se fixe au centre FAD de la XDH, et donc deux électrons sont transférés au NAD^+ , pour le réduire de manière bivalente en NADH (**Okamoto et Nishino, 1995; Pritsos, 2000; McNally et al., 2003; Sato et al., 2011**).

I.2.4. La conversion de la XDH en XO :

La XOR existe sous deux formes: type D et type O. La forme dominante de la XOR qui se trouve *in vivo* est le type D. Celui-ci préfère la réduction du NAD^+ et le type O préfère la réduction de l' O_2 (**Bindoli et al., 1985**). La conversion de la XDH en XO se fait par deux voies différentes:

La première est due au traitement de la XDH par les protéases, comme la trypsine, la chymotrypsine ou la pancréatine, elle est donc irréversiblement transformée en XO. Ces enzymes provoquent une modification dans le groupe d'acides aminés (Phe 549, Arg 335, Trp 336, Arg 427) et donc l'interaction entre Phe 549 et Trp 336 est rompue, ce qui change la structure du site actif FAD et devient inaccessible au NAD^+ . Ce changement structural forme un canal facilitant le rapprochement de l' O_2 au site FAD (**Amaya et al., 1990; Panus et al., 1991; Silva et al., 1996; Pritsos, 2000**).

La deuxième conversion de la XDH est réversible, elle est dû à l'oxydation des groupements thiols de la Cys 535 et la Cys 992, par exposition aux agents sulfhydryls et l'exposition aux

conditions anaérobiques (Silva *et al.*, 1996; Nishino et Nishino, 1997; Pritsos, 2000; Ichida *et al.*, 2012).

I.2.5. Rôles physiologiques de la XOR :

En plus du rôle principal de la XOR dans le catabolisme des purines en acide urique, elle a aussi d'autres fonctions plus larges dans la physiologie de l'organisme telles que son rôle dans l'absorption du Fer au niveau de l'intestin et du foie. Des études ont pu montrer une activité antimicrobienne de la XOR du lait humain et bovin, qui inhibe la croissance bactérienne *in vitro*. *In vivo*, la XO a une action antivirale, pouvant inhiber la croissance virale empêchant ainsi la propagation de l'infection (Pritsos, 2000; Kahl et Elssaser, 2004).

I.2.6. Les pathologies liées à la XOR :

I.2.6.1. L'inflammation : Au cours de l'inflammation, la XOR est activée par différents interférons (TNF- α et C5a), qui provoquent la conversion de la XDH en XO. Alors, la production de ROS est élevée, ce qui active le NF-B régulateur de la production des cytokines (TNF- α , IL-1, IL-2 et IL-6). Les espèces réactive de l'oxygène (ROS) produites par la XOR peuvent également réagir avec les composés de la membrane cellulaire, tel que l'acide arachidonique, pour produire des neutrophiles amplifiant ainsi la réponse inflammatoire (Silva *et al.*, 1996; Pritsos, 2000).

I.2.6.2. L'ischémie / réperfusion : Les ROS produites par la XOR provoquent des lésions ischémiques (Van Hoorn *et al.*, 2002) dues au catabolisme de l'ATP pendant l'hypoxie, ce qui conduit à l'augmentation de la concentration d'hypoxanthine. Dans la réperfusion, la XO oxyde l'hypoxanthine accumulée en xanthine et la xanthine en acide urique, et réduit simultanément l'O₂ en O₂⁻ et H₂O₂. L'interaction entre ces deux molécules produit le radical OH[•], provoquant ainsi des lésions tissulaires (Pritsos, 2000), représentée dans la figure 3.

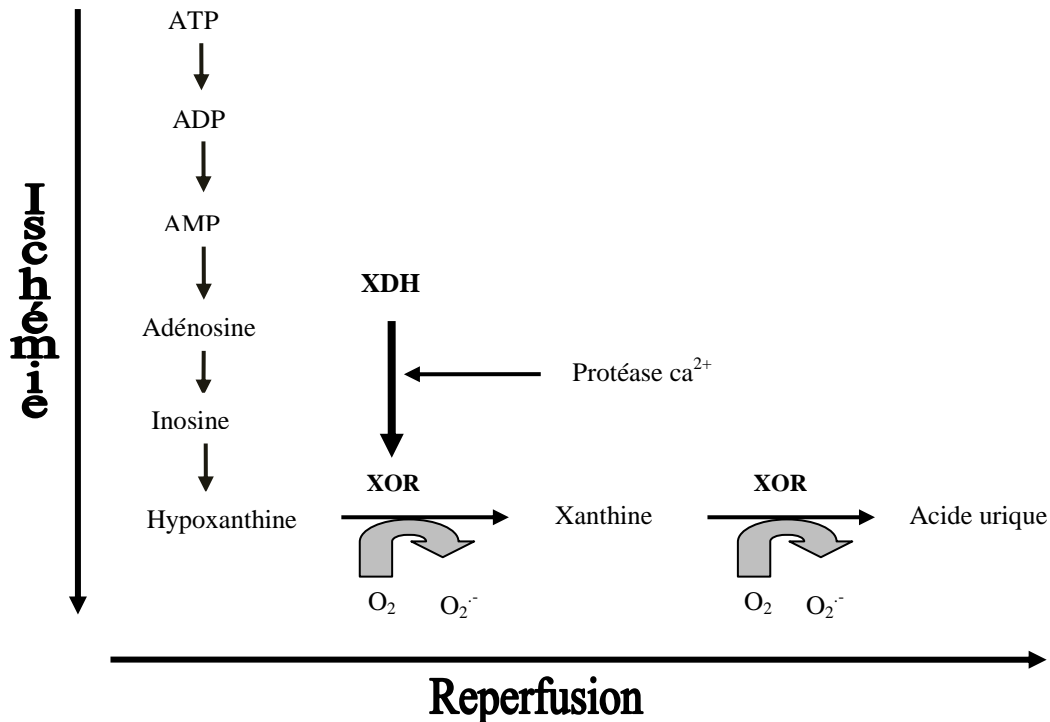


Figure 03: Mécanisme de génération des ROS par la XO dans les tissus lors du processus d'ischémie/réperfusion (Berry et Hare, 2004; Derbré, 2011).

Les ROS produits par la XOR peuvent provoquer plusieurs maladies telles que l'arthrite, l'athérosclérose, le Parkinson et l'Alzheimer (Behera et al, 2003). Il a été démontré que l'avancé en âge a été associée à une augmentation de l'activité enzymatique de la XO, que ce soit dans des muscles préférentiellement oxydatifs ou glycolytiques, avec production excessive de l'acide urique (Derbré, 2011).

I.3.L'acide urique :

L'acide urique est un déchet au stade final de la dégradation des protéines et, plus particulièrement de la famille chimique des purines intervenant dans la formation des acides nucléiques (ADN ou ARN) (Bossert et al., 2003; Létard et al., 2009). C'est un acide faible peu soluble à pH acide et se dissout complètement dans les urines basiques. Il se présente de façon prépondérante (98%) comme un anion urate au pH physiologique, alors qu'à pH 5-6 dans les urines il est sous forme d'acide urique. L'acide urique et son urate (sa base conjuguée) sont présents dans les liquides de l'organisme, leurs proportions dépendent du pH (Hurtes et Meria, 2011 ; Grassi et al., 2013).

L'acide urique de formule chimique C₅N₄O₃H₄ (Sekli-Belaidi, 2011), sa structure est représentée dans la figure 4.

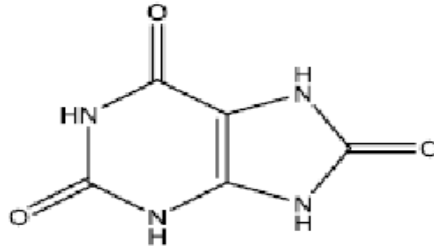


Figure 04: Structure chimique de l'acide urique (Sekli-Belaidi, 2011).

La concentration sanguine d'acide urique chez l'Homme est une des plus élevées des êtres vivants. Au cours de l'évolution, l'espèce humaine a perdu l'activité de l'uricase hépatique qui transforme l'acide urique en allantoïne, converti en allantoate et finalement en gloxylate et urée, ces produits sont beaucoup plus hydrosolubles (Many *et al.*, 1996; Bordier *et al.*, 2004; Sekli-Belaidi, 2011), selon la réaction suivante :



I.3.1. Synthèse de l'acide urique :

L'acide urique provient essentiellement du catabolisme des quatre purines : adénosine, guanosine, xanthine, hypoxanthine. Celles-ci ont un rôle majeur dans l'organisme, en tant que source d'énergie des réactions cellulaires (adénosine triphosphate), pour la transduction des signaux cellulaires et le codage des informations génétiques (Hurtes et Meria, 2011). La synthèse et l'élimination de l'acide urique sont représentées dans la figure suivante :

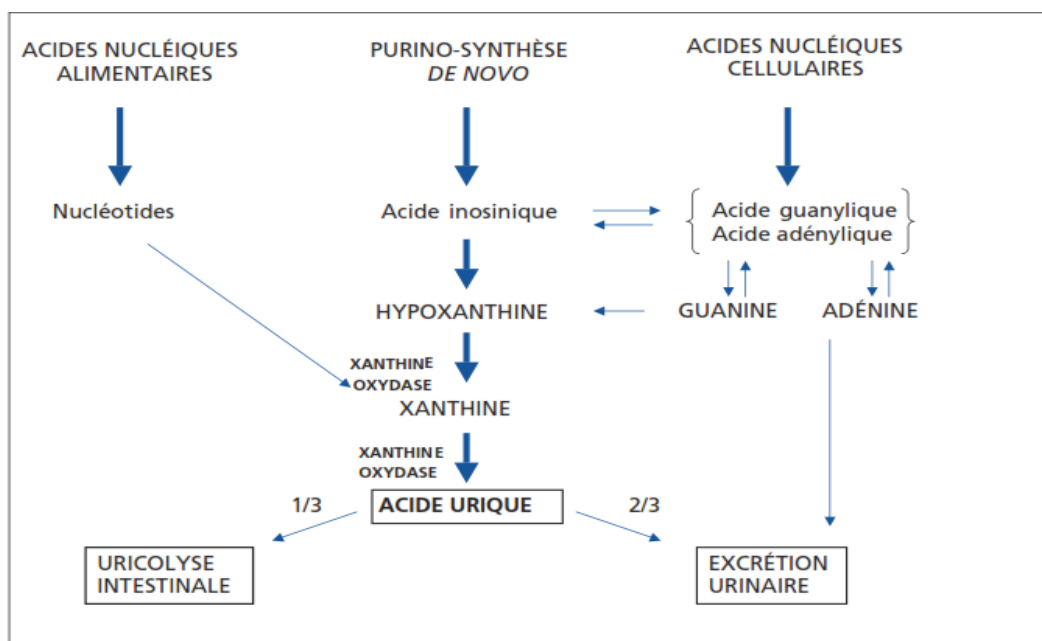


Figure 05 : Synthèse et élimination de l'acide urique dans l'organisme (Fox, 1981; Bordier *et al.*, 2004).

Ces purines sont également fournies à l'organisme par purinosynthèse hépatique de *novo* (formation des nucléotides à partir du ribose-5phosphate), dégradation d'acide nucléiques alimentaire (des cellules fournies par l'alimentation) (**Wilson et al., 1954**) et dégradation d'acide nucléiques cellulaires par destruction des noyaux des cellules (**Hurtes et Meria, 2011**).

I.3.2.Élimination de l'acide urique :

L'élimination de l'acide urique est mixte, elle se fait par voie digestive (1/3) et rénale (2/3). L'acide urique est déversé dans l'intestin par les sécrétions digestives (de 20 à 25%). Les bactéries coliques intestinales, équipées en uricase, transforment l'acide urique en allantoïne éliminé dans les selles (**Hurtes et Meria, 2011; Izzedine et Deray, 2011**).

L'acide urique est également éliminé au niveau rénal (750 mg/j), et la clairance de ce dernier chez l'adulte sain est seulement de 7 à 12 % du taux filtré (filtration par le glomérule), indiquant qu'il existe une nette réabsorption tubulaire par les transporteurs tubulaires proximaux (**Camponovo, 2011**). Parmi eux plusieurs peuvent être impliqués dans l'homéostasie de l'acide urique tel que l'URAT1, l'OTA4 et le GLUT9 (transporteur du glucose et du fructose). Ce dernier a comme rôle principal la régulation du taux sanguin d'acide urique. Enfin, l'excrétion dans la lumière tubulaire est réalisée principalement par les molécules NPT1, ABCG2 et MRP4 (**Izzedine et Deray, 2011**). Il existe ensuite une sécrétion luminale suivie d'une seconde réabsorption. Au total 95% de l'acide urique filtré est réabsorbé le long du tubule proximal (**Bordier et al., 2004**). La fraction d'éjection rénale de l'acide urique varie avec le sexe (8% chez l'homme contre 12% chez la femme), et diminue avec l'âge (**Hurtes et Meria, 2011**).

I.3.3.Propriétés antioxydante de l'acide urique :

Il est maintenant établi que l'acide urique est un réducteur puissant des radicaux libres permettant son implication dans les systèmes antiradicalaires. Il a été montré que l'acide urique réduit les radicaux peroxyde, hydroxyle, du monoxyde et du dioxyde d'azote, mais également un neutralisant puissant de l'ozone, de l'oxygène singulet, de l'acide hypochloreux et du radical superoxyde. L'acide urique présent à environ 179 µmol/L apporte les deux tiers de la capacité antioxydante du plasma (**Selki-Belaidi, 2011**).

Néanmoins, un excès de synthèse ou un défaut d'élimination urinaire conduit à l'hyperuricémie (**Osada et al., 1993**), qui est liée à l'apparition de plusieurs pathologies telles que le diabète, l'hypertension, maladies cardiovasculaires, les dysfonctionnements rénaux et la goutte (**Sekli-Belaidi, 2011**).

I.3.4. La maladie de la goutte :

La goutte est définie à la fois comme un trouble du métabolisme de l'acide urique (dyspurinie) et une arthropathie microcristalline, cette maladie est caractérisée sur le plan clinique par des épisodes aigus d'atteintes articulaires de caractère inflammatoire particulièrement du gros orteil, plus rarement de tissu conjonctif et par l'apparition de dépôts d'urates de sodium dans les cartilages et les synoviales aboutissant à une destruction articulaire, (figure 6) (Merriman et Dalbeth, 2010; Reginato et al., 2012). Ces mêmes dépôts au niveau du rein sont responsables d'une néphropathie chronique pouvant évoluer vers l'insuffisance rénale, les risques sont le passage à la chronicité avec destruction articulaire et insuffisance rénale (Kayembe et al., 1973).



Figure 06 : Tophi au niveau des métacarpophalangiennes, des interphalangiennes proximales et distales (1) ; Tophi au niveau de l'hélix de l'oreille (2); Accès goutteux (3) (Alaoui et al., 2010).

I.3.5. Facteurs de risque de la goutte :

Il existe un certain nombre de facteurs qui peuvent conduire à l'apparition de la goutte, toutefois elles peuvent résulter d'une prédisposition génétique ou de facteurs environnementaux. Le sexe et l'âge sont liés au risque de contracter la goutte puisque cette maladie tend à être plus fréquente chez les hommes que chez les femmes et plus courante chez les adultes que chez les enfants. La goutte aiguë peut être déclenchée par des événements comme une intervention chirurgicale, une crise cardiaque ou un traumatisme. L'usage de l'alcool ou l'emploi de certains médicaments (les diurétiques), certains aliments riches en purines comme : les poissons ; la viande ; ...etc. peuvent déclencher un accès de goutte (Lioté et al., 2009 ; Chalès, 2011).

I.3.6. Physiopathologie de la crise de goutte :

La présence d'une hyperuricémie conduit au dépôt de cristaux d'urates de sodium (UMS) dans le cartilage articulaire et la membrane synoviale. Ceux-ci peuvent se rompre et libérer des cristaux dans la cavité articulaire. Au niveau de la synovial les cristaux d'UMS sont endocytés par les cellules polynucléaires, monocytes et macrophages suite à l'interaction cristaux/cellules qui se fait directement avec les phospholipides ou via des récepteurs membranaires (TLR2/4 ou TREM-1), déclenchant ainsi le signal de la réaction inflammatoire par l'immunité innée (Lioté *et al.*, 2009).

Les cristaux d'urate lient les récepteurs membranaires, directement ou via les protéines/opsonines à leur surface. Ils activent de nombreuses voies de signalisation intra-articulaires (protéine G, tyrosine-kinases Src, MAPK) et semblent devoir activer la caspase-1 via l'inflammasome NLRP3. L'activation de celui-ci stimule les voies NF- κ B et AP-1, à l'origine de la production des médiateurs inflammatoires et des chimiokines (cox2, TNF α , IL1 β , IL-6, IL-8, IL18). La Pro-IL-1, clivée par la caspase-1 libère l'IL1 β , qui par une boucle d'auto-entretien et son récepteur membranaire, va augmenter la production de ces cytokines et chimiokines (Terkeltaub, 2009; Molto et Olivé, 2010; So et Busso, 2012), représentées dans la figure suivante.

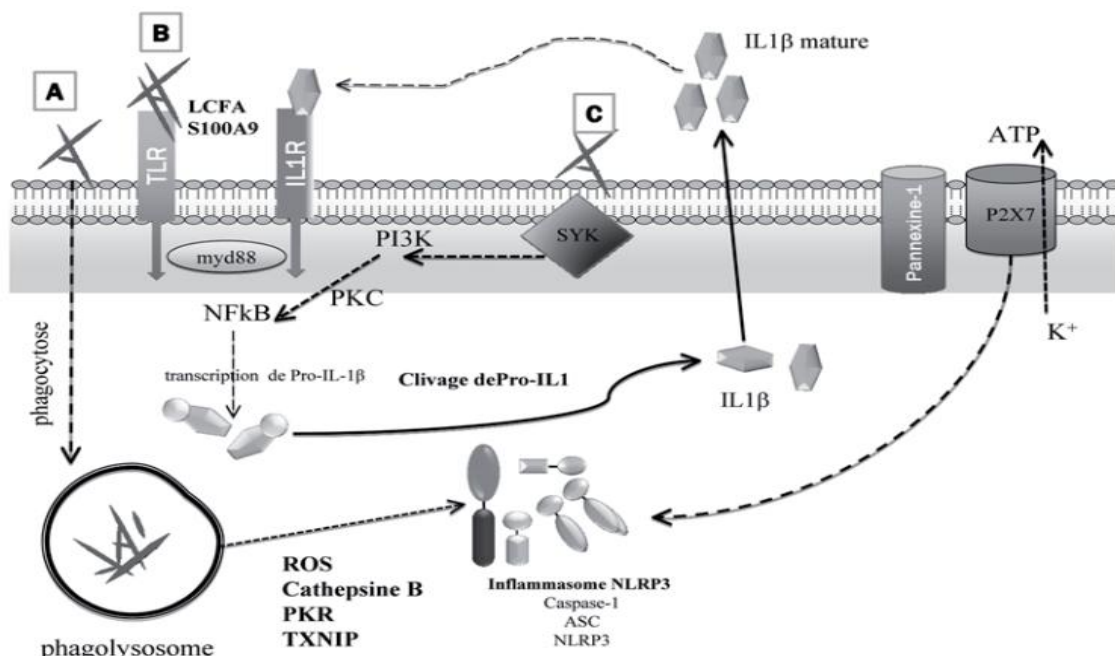


Figure 07 : Activation des réponses cellulaires des voies dépendantes et indépendantes de l'inflammasome par les cristaux d'UMS (So et Busso, 2012).

I.3.7. Les traitements de la goutte :

Un traitement symptomatique est nécessaire pour la prise en charge de l'accès aigu de goutte, on distingue deux types de traitements :

❖ Traitements non médicamenteux : Se résume en quelques règles hygiéno-diététiques, ces mesures favorisent la réduction de l'obésité et du surpoids et permettent également de réduire l'uricémie de 10 mg/l. Le régime antigoutteux est hypocalorique, hypopurinique pauvre en viandes, en abats, en crustacés, riche en laitage de faible teneur en graisse et également éviter les boissons alcoolisées fortes et la bière (**Lederer, 1978**).

❖ Traitements médicamenteux :

Cette thérapeutique fait appel à différents types médicamenteux dans le but de réduire le taux d'acide urique dans le sang, et soulager la douleur des crises d'arthrite, et traiter l'hyperuricémie pour éviter les complications à long terme (**Gariépy-Major, 2007; Boussellier et al., 2008**), on cite :

✚ La colchicine (Colchimax) : La colchicine est un alcaloïde extrait du *Colchicum autumnale*, c'est le médicament classique de la crise de goutte ; elle diminue la réaction inflammatoire en s'opposant à la migration des globules blancs pour phagocyter les cristaux d'acide urique. La colchicine doit être administrée après le début de la crise mais dans la plus part des cas elle provoque une toxicité digestive et diarrhée (**Fox Tarsac, 2008; Dubost et al., 2011; Laviolle, 2012**).

✚ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) : Constituent le deuxième choix en cas de crise de goutte, utilisés à la place de la colchicine. Les plus prescrits sont l'indométacine (Indocid^R) et le diclofénac (Voltarène^R). Néanmoins, il faut les utiliser à la posologie maximale au début puis diminué (en fonction des résultats) vue ses effets secondaires, notamment l'hémorragie digestive (**Dubost et al., 2011 ;Laviolle, 2012**).

✚ Les corticoïdes : Ils sont utilisés pour un traitement local après prélèvement évacuateur du liquide inflammatoire mais aussi permet l'analyse du liquide articulaire ; le plus utilisé est le cortivazol (Altim^R) (**Dubost et al., 2011; Guillot et Valeix, 2013**).

✚ Les anti-IL1 : Se sont des médicaments développés récemment, elles empêchent l'afflux des polynucléaires induits par les microcristaux. Leur inhibition semble être une approche alternative intéressante afin de bloquer l'inflammation (**Dubost et al., 2011**).

✚ Traitement hypo-uricémiant : C'est un traitement à long cours, qui a pour objectif de favoriser la dissolution des cristaux d'urate de sodium, et d'en prévenir la formation grâce au maintien de l'uricémie à moins de 60 mg/l, afin de permettre une réduction significative de la formation d'inhibiteurs de l'uricosynthèse :

- L'allopurinol (Zyloric®) : C'est l'analogue structurale de la xanthine (**Lin et al., 2002**), utilisé comme traitement de référence de la goutte chronique, a un rôle inhibiteur de la xanthine oxydase dont l'efficacité est rapide à dose dépendante et possède des effets indésirables, tels que des prurits, des éruptions érythémateuses, papuleuses et vésiculeuses mais peuvent parfois être graves et fatales avec des réactions de Lyell, de Stevens Johnson, d'érythème polymorphe, l'éruption allergique grave ou syndrome d'hypersensibilité; hépatite et néphropathie, en particulier chez les sujets âgés et les insuffisants rénaux sous diurétiques (**Urszula Gawlik-Dziki, 2012**). Il est contre-indiqué en cas de grossesse et d'allaitement, et possède plusieurs interactions médicamenteuses (la pénicilline A ; les antivitamines K) (**Torre et Montalbini, 1995; Perez-Ruiz, 2007; Boussellier, 2008**). L'action de l'allopurinol est représentée dans la figure qui suit :

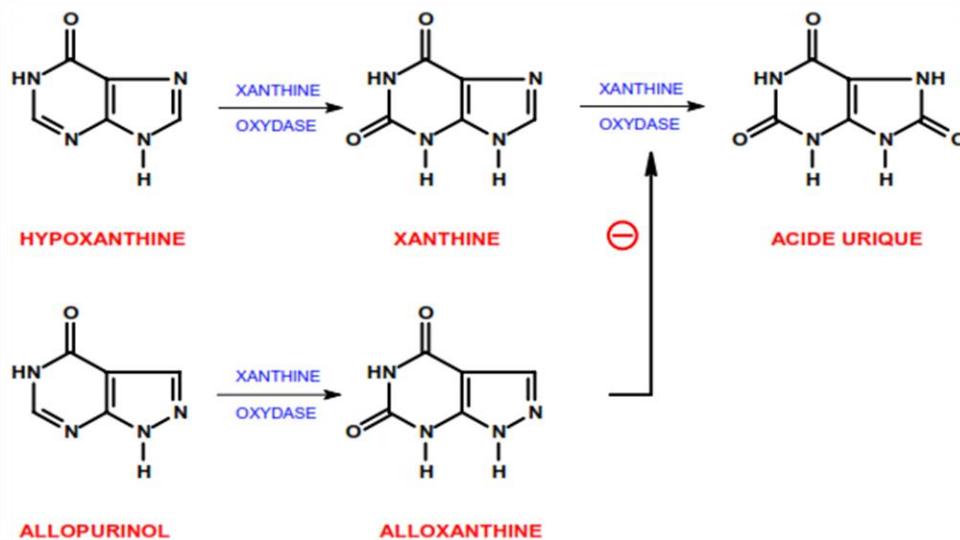


Figure 08: L'action de l'Allopurinol (**Le Treut, 2010**).

- Les uricosuriques : Cette classe thérapeutique est utilisée en cas d'échec réel ou d'allergie à l'allopurinol, ils abaissent l'uricémie par l'augmentation de l'élimination urinaire de l'acide urique en inhibant la réabsorption tubulaire des urates par action enzymatique. Ces médicaments induisent un risque de lithiase urique (**Boussert et al., 2003; Bardin, 2004**).
- Les uricolytiques : La rasburicase (Fasturtec^R) est une uricase recombinante à prescription hospitalière, présente une puissante action uricolytique en catalysant l'oxydation

enzymatique de l'acide urique en allantoiné, son principal inconvénient était la survenue des réactions allergiques (Bardin, 2004; Ea, 2012).

Les effets secondaires de ces médicaments de synthèse ont poussé les chercheurs à trouver des substituts naturels d'origine végétale, susceptibles d'avoir une activité anti-hyperuricémique et anti-XOR afin de remplacer les molécules de synthèse. Les composés d'origine naturelle issus des plantes, sont depuis toujours une source habituelle de remède sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Il est donc logique que les plantes ou les extraits végétaux existant sur place soient susceptibles de s'ajouter avec profit à la liste nationale des médicaments, ou même de remplacer certaines préparations pharmaceutiques qui doivent être achetées et importées.

I.3.8. Traitement de l'hyperuricémie par les plantes médicinales :

Beaucoup d'études ont été réalisées sur l'activité antihyperuricémique de différentes plantes médicinales, prenant différents modèles animaux pour réaliser ces expériences *in vivo* et *in vitro*. Les tableaux suivants illustrent quelques plantes traditionnelles ayant une activité anti-hyperuricémique *in vivo* et anti XOR *in vitro* et *in vivo*.

Tableau I : Plantes à activité anti-hyperuricémique *in vivo*.

Les Plantes	Partie utilisée	Extrait	Concentrations	Résultats	Référence
<i>Lychnophora trichocarpa</i>	Partie aérienne	Ethanolique	125mg/kg 250mg/kg	Réduit le niveau d'urate, agent promoteur pour le traitement de l'arthrite de goutte, inhibent XOD <i>in vitro</i> .	De Souza et al., 2012
<i>Smilax china</i>	racines	Ethanolique	125 mg/kg	Augmente le niveau d'excrétion d'acide urique, inhibe l'activité de XOD.	Chen et al., 2011
<i>Phyllanthus niruri</i>	feuilles	Méthanolique	50mg/kg	Inhibe l'enzyme de la xanthine oxydase, réduit le taux d'acide urique dans le sang, augmentation de l'excrétion urinaire de l'acide urique.	Murugaiyah et Chan, 2009.
<i>Hibiscus sabdariffa L</i>	feuilles	Méthanolique	0,1mg/100ml 0,2mg/100ml 0,5mg/100ml.	Inhibition de l'activité des radicaux libres, diminue le taux d'acide urique dans le sang	Kuo et al., 2012
<i>Orthosiphon stamineus</i>	feuilles	Aqueux de méthanol	2g/kg	Augmentation du volume de l'excrétion urinaire en facilitant le déplacement des petits cristaux ; Réduire la possibilité de développement de ces cristaux ; diminue la production d'acide urique.	Arafat et al., 2008
<i>Ramulus Mori</i>	Rhizom	Ethanolique	507, 1014, 2028mg/kg	régulation de l'expression rénale des gènes mURT1, mGLUT9, mOAT1, réduction de niveau d'urate	Hu et al., 2010

Tableau II : Plantes à activité anti-xanthine oxydoréductase *in vitro*

Espèce	Partie utilisée	Extrait utilisé ou substance étudié	Concentration d'inhibition IC ₅₀ (µg/ml)	Références
<i>Eugenia uniflora</i>	Feuilles	Ethanolique	50	Schmeda-Hirsschmann et al., 1987
<i>Erythrina stricta</i>	Feuilles	Hydrométhalonique	44,9	Umamaheswari et al., 2009
<i>Erythrina indica</i>	Ecorce	Méthanolique	52,75	Dharmar et al., 2012
<i>Fraxinus americana</i>	Feuilles	Méthanolique	100	Owen et Johns, 1999
<i>Coccinae grandis</i>	Feuilles	Aqueux	32,34	Umamaheswari et al., 2007
<i>Olea europaea</i>	Feuilles	Ethanolique	42	Flemmig et al., 2009
<i>Lonicera hypoglauca</i>	Feuilles	Ethanolique	48,8	Chien et al., 2009
<i>Salvia mitorrhiza</i>	Racine	Acide lithospermique	5,2	Liu et al., 2008
<i>Vitex negundo</i>	Feuilles	Aqueux	88,00	Umamaheswari et al., 2007

Tableau III : Plantes à activité anti-xanthine oxydoréductase *in vivo*.

Espèce	Partie utilisée	Extrait ou composé	Effet inhibiteur	Références
<i>Salvia mitorrhiza</i>	Racines	Acide lithospermique	+++	Liu et al., 2008
<i>Lychnophora trichocarpa</i>	Parties aériennes	Extrait éthanolique	+++	De Souza et al., 2012
<i>Pistacia integerrima</i>	Feuilles	Extrait aqueux	+++	Ahmad et al., 2008
<i>Balanophora laxiflora</i>	Fleurs	Ethanolique	+++	Ho et al., 2012
<i>Semecarpus amacardium</i>	Graines	Tetrahydroamentoflavone	+++	Arimboor et al., 2011

Différents principes actifs issus des plantes médicinales ont montré un effet antihyperuricémique telle, que les flavonoïdes, les polyphénols, les tanins et les coumarines (Owen et Johns, 1999). Ces dernières se retrouvent chez différentes plantes telles que *Fraxinus angustifolia*.

I.4. *Fraxinus angustifolia* :

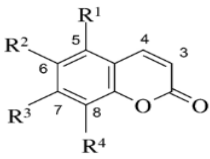
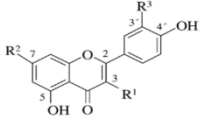
C'est une plante utilisée en médecine populaire depuis les temps les plus anciens comme diurétique et ayant aussi des propriétés antirhumatisme et antigoutteuse (**Berboucha et al., 2010**). Cette plante est appelée communément frêne et localement Aslen, Taslen, Tabouchicht (nom kabyles ou targui) ou Dardar, Mesharoune, Lessan el acefour (Nom vernaculaire arabe) (**Baba-Aissa, 1999; Beloued, 2009**). Selon Wallander (2008) elle appartient au règne plantae, division Magnoliophyta, classe des Magnoliopsida, famille des Oleaceae, genre *Fraxinus* et de l'espèce *Fraxinus angustifolia*.

I.4.1. Description botanique : Cette plante est commune dans les régions humides (aux bords des eaux, bords des bois et des habitations), dans toute l'Algérie septentrionale (**Baba- Aissa, 1999**). Sa fructification est en avril-juin. C'est un arbre ou arbuste, à feuilles adultes grandes de 12 à 25 cm, glabres de 5 à 13 folioles, de 4 à 9 cm de long sur 1,5 à 2,5 cm de large, dentées de scies, toutes semblables, ovales-lancéolées, bourgeons brunâtres, inflorescences en grappes allongées, ramifiées, longues de 3 à 7 cm. Fruits ovales, lancéolés, aigus au sommet, ayant l'aspect de langue de passereaux ; graine bien plus longue que l'aile. (**Beloued, 2009**).

I.4.2. Propriétés : Les feuilles en décoction, sont efficaces pour la régulation des selles et contre les parasites intestinaux, ayant aussi des propriétés diurétiques, antirhumatisme, astringents, fébrifuge, laxatifs. Les semences en infusion, possèdent des propriétés antirhumatisme et antigoutteuses. L'écorce est utilisée contre les hémorragies passives, la goutte atonique, la lithiase biliaire et surtout contre les fièvres intermittentes. La manne du frêne est utilisée comme laxative, la mannite, qui en est un dérivé, est considérée comme un excellent rafraichissant, possédant aussi une activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante (**Marinova et al., 1994; Baba-Aissa, 1999; Beloued, 2009; Kostova et Iossifova, 2007; Berboucha et al., 2010**).

I.4.3. Principes chimiques : Les feuilles contiennent de la fraxoside hydrolysable en fraxétole (glucosides), des acides organiques, des tanins (en grande quantité dans l'écorce), des flavonoïdes (dans les feuilles), des huiles essentielles, des sucres et une faible quantité de coumarines (**Beloued, 2009**). Quelques coumarines, flavonoïdes et autres composés phénoliques répertoriés chez *Fraxinus angustifolia*, sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau IV: Les différents types des composés phénoliques de *Fraxinus angustifolia* (**Zhou et al., 2008; Kostova et Iossifova, 2007**).

Les coumarines								
	Esculetine	Esculine	Cichoriine	Scopoletine	Isoscooletine	Fraxetine	Fraxine	Fraxinol
R ₁	H	H	H	H	H	H	H	OMe
R ₂	OH	OGLE	OH	OMe	OH	OMe	OMe	OH
R ₃	OH	OH	OGLE	OH	OMe	OH	OH	OMe
R ₄	H	H	H	H	H	OH	OGLE	H
Les flavonoïdes								
	Rutine		Astragaline			Nicotiflorine		
R ₁	O-Glc ⁶ -Rha		O-Glc			O-Glc ⁶ -Rha		
R ₂	OH		OH			OH		
R ₃	OH		H			H		
Les lignanes								
Pinoresinol				8-Hydroxypinoresinol-4-O-β-D-Glycopiranoside				
Pinoresinol-4-O-β-D-Glucopyranoside				Fraxiresinol-8-O-β-D-Glycopiranoside				
Phénylethanoides glycosides								
Oleoside-7, 11-Dimethylester				Fraxicarboside A				
Oleuropein				Fraxicarboside B				
Ligstrosides				Fraxicarboside C				
10-Hydroxyligstroside				Methylated Secoiridoid Glucosides				
10-Hydroxyoleuropein				Secoiridoids GI-3				
Angustifolioside A				Secoiridoids GI-5				
Angustifolioside B				Oleobutyl				
Angustifolioside C				Ligstrobutyl				
Neuzhenide				Ligstral				

Ces différents composés ont été rapportés pour leur implication dans divers activités biologique tels que antioxydante par les flavonoïdes (Van Hoorn et al., 2012), anti-xanthine oxydase *in vitro* (Li et al., 2011) ...etc.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de ce travail qui consiste à évaluer l'activité hypouricémique via l'inhibition de la XO *in vivo* par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*.

II.1. Matériels :

II.1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est *Fraxinus angustifolia* précisément les feuilles (Figure 10), qui ont été récoltées en juin 2012 dans un endroit naturel (Chemini, wilaya de Béjaïa), loin de la pollution pour éviter toute modification dans la composition chimique de l'espèce.



Figure 09 : Photographie de l'arbre et des feuilles réelles de *Fraxinus angustifolia* (Originales).

II.1.2. Matériel animal :

Dans cette étude des souris males albinos, pesant chacun entre 20 ± 2 g sont utilisés, ces dernières sont fournies par l'institut Pasteur d'Alger. L'expérimentation s'est réalisée au niveau du laboratoire d'expérimentation animale de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa. Les animaux ont été mis sous des conditions favorables pour respecter leur cycle biologique (12h de nuit/12h de jours). Ils sont logés dans des cages avec accès libre à la nourriture et à l'eau.

II.1.3. Réactifs chimiques :

Plusieurs réactifs chimiques ont été utilisés dans cette expérience, parmi ces produits :

✚ Tampon phosphate (constitué de Di-hydrogenophosphate de potassium « KH_2PO_4 » et de Di-potassium monohydrogène phosphate « K_2HPO_4 » et Ethylene Diamine Tetraacetic Acid « EDTA ») ; Chlorure d'hydrogène (HCl, 12N) ; Eau distillée stérile ; Eau distillée ; Eau physiologique ; Carboxyméthylcellulose « CMC » (Sigma) ; La xanthine (Sigma : $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$) ; NAD^+ (Sigma-Aldrich) ; L'Oxonate de potassium ($\text{C}_4\text{H}_2\text{KN}_3\text{O}_4$) (Sigma-Aldrich)

; NaOH; L'Allopurinol (Sigma); Chlorure de potassium « KCl »; Réactif de Bradford (Albumine Bovine Serum : Biochem Chemopharma) ; Réactif de l'acide urique (Kit d'acide urique contenant de l'eau distillée avec enzymes lyophilisées et un standard, Spinreact).

II.1.4. Matériels divers :

✚ Spectrophotomètre UV-Vis (SHIMADZU) ; Étuve (Binder) ; Centrifugeuse (Sigma) ; Sonicateur (Raypa) ; Balance de précision (RADWAG, Max=600g, d=0,001g) ; Balance analytique (RADWAG, Max=220g, d=0,1mg) ; Plaque chauffante agitatrice ; pH mètre ; Cages ; Homogénéisateur ; Bêchers, Entonnoirs, Erlenmeyers, Tubes à essais, Eppendorf, Spatule, Eppendorfs ; Micropipettes ; Mortier en porcelaine ; Seringues ; Sonde de gavage.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Préparation de l'extrait :

L'extraction à partir des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est réalisée selon le protocole de Chiang et *al.*, (1994), avec quelques modifications. Elle consiste à séparer les composés des feuilles dans diverses phases polaires et apolaires, selon les solvants utilisés. L'extrait aqueux de chloroforme est sélectionné pour faire l'objet de cette étude; le schéma suivant résume toutes les étapes de l'extraction.

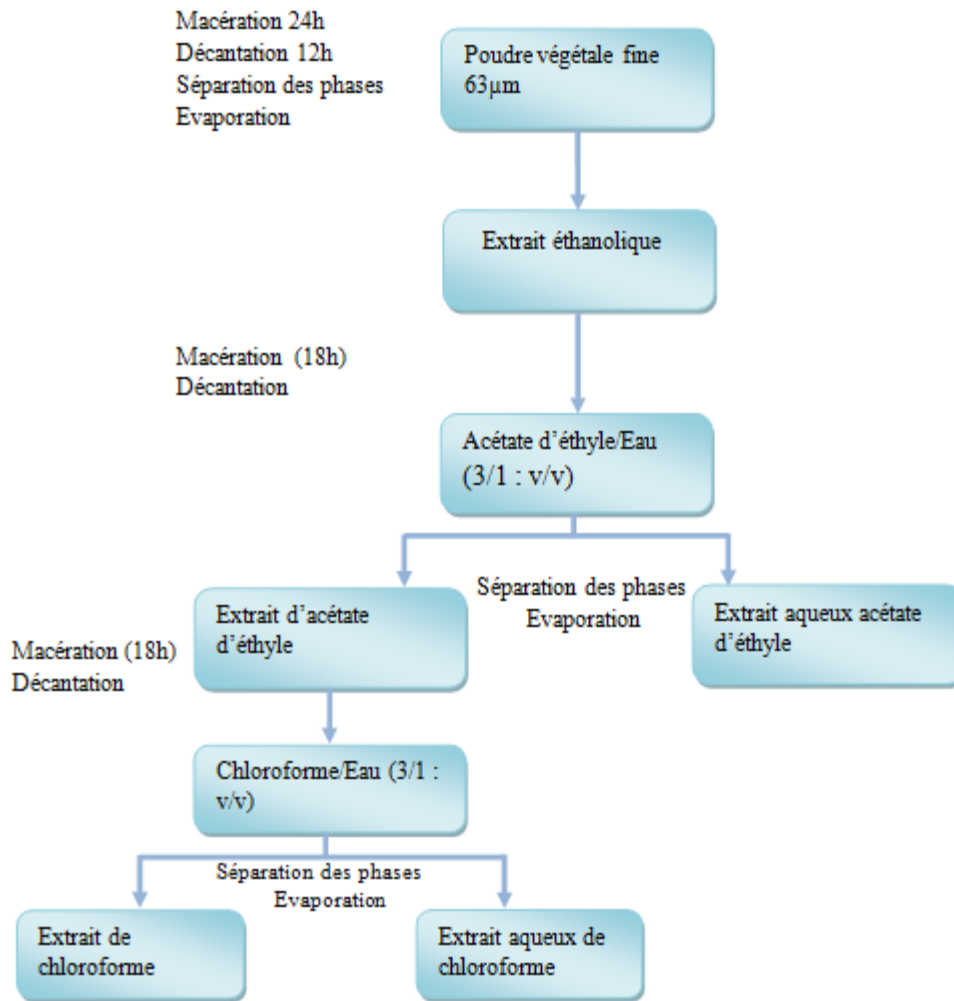


Figure 10 : Schéma récapitulatif des étapes de la procédure d'extraction.

II.2.2.Préparation des lôts :

Dix lôts de 6 souris, homogène en poids corporel, ont été préparés pour la réalisation de cette étude. Ces animaux ont été privés de nourriture 1h30 avant de recevoir les différents traitements. Le gavage par le CMC, l'allopurinol et les solutions d'extraits à différentes concentrations a été réalisé une heure après l'injection intra-péritonéale d'eau distillée stérile pour les groupes témoins et la solution d'oxonate de potassium (250mg/Kg) pour les groupes hyperuricémiques (Test). Ces traitements ont été répétés pendant trois jours successifs d'après Hall et *al.*, (1990) ; Zhu et *al.*, (2004) et Haidari et *al.*, (2008), avant de sacrifier les souris. Les différents lôts et leurs traitements respectifs sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Répartition des différents lots et leurs traitements respectifs.

Nombre de lots	Injection intra-péritonéale	Gavage	Dose (mg/kg)
1 ^{er}	Eau distillée	CMC	---
2 ^{ème}	Eau distillée	Allopurinol	10
3 ^{ème}	Eau distillée	FF	50
4 ^{ème}	Eau distillée	FF	100
5 ^{ème}	Eau distillée	FF	200
6 ^{ème}	OP	CMC	---
7 ^{ème}	OP	Allopurinol	10
8 ^{ème}	OP	FF	50
9 ^{ème}	OP	FF	100
10 ^{ème}	OP	FF	200

II.2.3. Prélèvement des échantillons biologiques :

Une heure après le dernier gavage des souris, ces dernières ont été sacrifiées, le sang est récupéré dans des tubes Eppendorf secs. Une dissection rapide des souris a permis l'excision des foies qui ont été rapidement lavés dans une solution KCl, séchés pesés et approvisionnés à -80°C.

II.2.4. Préparation des sérums :

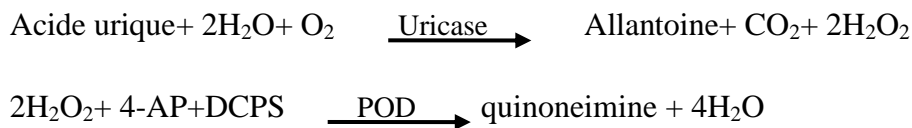
Le sang est laissé coaguler pendant 1 heure à température ambiante, puis centrifugé à 5000g pendant 10 minutes et les sérums sanguins sont ainsi délicatement récupérés et destinés pour le dosage de l'acide urique.

II.2.5. Préparation des homogénats de foies :

Les tissus des foies ont été homogénéisés dans du tampon Phosphate (0,05M, pH 7,5, EDTA, 0,05M), pour donner 10% (p/v) d'homogénat du foie. Les homogénats ont été centrifugés à 5000g pendant 10 minutes à 4°C, puis éviter la couche lipidique avant de récupérer le surnageant, qui a été recentrifugé à 5000g pendant 10 minutes. Le surnageant récupéré a été utilisé pour étudier l'activité de la XO/XDH dans les foies des souris.

II.2.6. Dosage de l'acide urique :

L'acide urique est oxydé par l'uricase en l'allantoïne et en peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂), sous l'influence de la peroxydase (POD), 4- aminophenazon et 2-4Dichlorophenol sulfonate (DCPS) qui forme un composé rouge la quinoneimine, selon les deux réactions suivantes :



L'intensité de la couleur rose violacé formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon, mesurée à une longueur d'onde de 520 nm. La réaction consiste donc à ajouter 25µl de chaque sérum à 1 ml du réactif de dosage, suivie d'une incubation de 10 minutes à T° ambiante. L'absorbance à 520 est converti en mg d'acide urique grâce au même dosage réalisé pour une solution standard à une concentration d'acide urique connue (6mg/dl) :

$$[\text{Acide urique dans le sérum}] = \frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Standard}} \times 6 \text{ (mg/dl)}$$

II.2.7. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase et la xanthine déshydrogénase :

L'activité inhibitrice de la xanthine oxydase et la xanthine déshydrogénase a été réalisée selon la procédure de Hall et *al.*, (1990), Zhu et *al.*, (2004), Haidari et *al.*, (2008) avec quelques modifications. Dans des tubes à essais un volume de 3,5 ml de la solution tampon ajoutée à 0,1 ml d'homogénat du foie, 1ml d'oxonate (et 0,5 ml de NAD⁺ uniquement pour le test XDH) ont été pré-incubés 15 minutes à 37°C. 1ml de xanthine est ajouté pour initier la réaction, qui est ensuite arrêtée par 0,5 ml de HCl après une incubation de 10 minutes. Après une centrifugation de 5000xg pendant 5 minutes, l'absorbance de chaque échantillon est enregistrée par spectrophotomètre UV-Vis à 290 nm. Afin d'exprimer chaque absorbance en

terme d'activité spécifique de la XO et XDH (U/mg de protéines). Un dosage de protéines a été réalisé par la méthode de Bradford.

II.3.L'analyse statistique:

Tous les résultats sont exprimés par une moyenne \pm S.E.M. Dans cette étude l'analyse statistique, est réalisée par le logiciel Graph Pad Prism de l'analyse de la variance avec un seul facteur. La différence entre les témoins et les différents tests a été obtenue par le test de comparaison multiple Dunnett's ($\alpha=0,05$; $P<0,05$, $P<0,01$, $P<0,001$).

III-1- Résultats :

III.1.1.Résultats de l'extraction :

Le protocole d'extraction choisi est un protocole à plusieurs solvants de polarités variables. Il a été choisi afin d'établir une extraction plus sélective, en comparaison à une extraction par un seul solvant. Il permet une séparation des différents composés entre les solvants utilisés et ceci selon le degré de polarité, permettant ainsi le fractionnement de l'extrait éthanolique brut. Le séchage, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine dans le but d'optimiser l'extraction.

Les rendements de l'extraction sont de : 12.72% (éthanol), 35.28% (éthyle d'acétate), 50.02% (eau), 81.96% (chloroforme), 14.87% (Eau). Le pourcentage d'extraction dépend d'un solvant à l'autre mais aussi de la partie de la plante utilisée. L'éthanol est sensé extraire le maximum de composés, notamment ceux visés par notre étude. Concernant les deux dernières séparations entre hexane et eau ainsi qu'entre chloroforme et eau, on constate des taux élevés dans les phases organiques, faibles dans les deux phases aqueuses des feuilles.

Il n'existe pas de méthode uniforme ou complètement satisfaisante pour une extraction optimale de tous les composés phénoliques ou une classe spécifique de composés contenus dans les végétaux. Le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'eau, l'éthyle acétate sont les plus fréquemment utilisées.

III.1.2.Effets sur le taux d'acide urique dans le sérum sanguin:

L'annexe N°1 montre les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, et de l'allopurinol sur les taux d'acide urique chez les souris normales et hyperuricémiques. Le taux d'urate chez les souris normales et hyperuricémiques ont été étudiés après trois jours d'administration de l'extrait par voie orale. Les résultats de l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sont représentés dans les histogrammes A et B respectivement dans la figure 11.

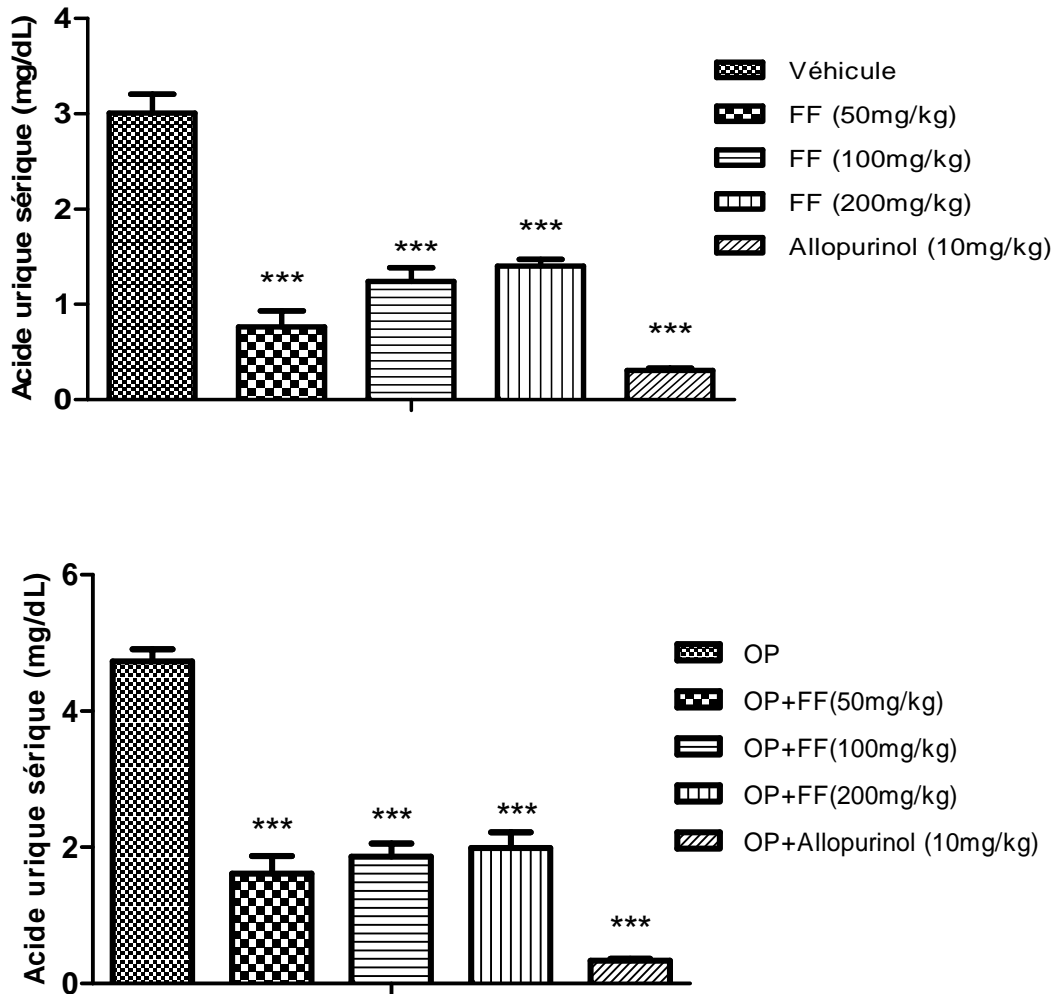


Figure 11 : L'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et l'allopurinol sur le taux d'acide urique dans le sérum chez les souris normale et hyperuricémique traitées avec l'oxonate de potassium. Les données représentent la moyenne (\pm S.E.M) des groupes animaux (n=6).

Le taux d'acide urique chez les souris normales ayant reçus comme traitement l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est de $0,764 \pm 0,168$; $1,240 \pm 0,144$ et $1,403 \pm 0,072$ mg/dl représentés dans l'annexe N°1, à des doses de 50, 100 et 200 mg/Kg, respectivement, montre une différence significative par rapport au véhicule dont le taux d'acide urique est de $3,01 \pm 0,194$ mg/dl, voir la figure 11 ci-dessous. L'allopurinol comme contrôle positif à la dose de 10mg/kg, a réduit le taux d'acide urique à $0,307 \pm 0,026$ chez les souris normales, d'une manière hautement significative, représenté dans la figure 11, montrant une efficacité plus importante que l'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* à des doses de 50, 100 et 200 mg/kg.

L'oxonate de potassium est un inhibiteur d'uricase, administré par injection intra péritonéal (IP à 250 mg/Kg) pour les groupes control, augmente le taux d'acide urique dans le sérum sanguin à $4,73 \pm 0,180$ mg/dl, comme l'indique la figure 11. Le traitement des souris hyperuricémiques par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, à des doses de 50,100 et 200 mg/kg, a réduit significativement ($P < 0,001$) le taux d'acide urique dans le sérum sanguin de $1,61 \pm 0,26$; $1,86 \pm 0,20$ et $1,99 \pm 0,23$ mg/dl, respectivement, comparées au groupe contrôle positif (hyperuricémique). En outre, l'allopurinol à 10 mg/kg montre un très bon effet comparant à l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, en réduisant le taux d'acide urique à $0,337 \pm 0,026$ mg/dl chez les souris hyperuricémiques.

III.1.3.Effets sur les activités XO/XDH :

En vue d'exprimer l'activité XO et XDH des homogénats des foies de souris traitées, un dosage de protéines a été réalisé selon la méthode de Bradford dont la courbe d'étalonnage et représentée dans l'annexe N°2. Les résultats sont rapportés dans la figure 12, montre les histogrammes des activités XO et XDH dans les homogénat du foie du groupe des souris normales.

Le tableau VI montre les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, de l'oxonate et de l'allopurinol sur l'activité et le pourcentage d'inhibition de la XO/XDH et les pourcentages d'inhibition par les extraits sont rapportés dans le tableau VI chez les souris normales et hyperuricémiques.

Tableau VI : Résultats de l'activité et du pourcentage d'inhibition de la XO/XDH.

	U/mg de protéines		% d'inhibition	
	XO	XDH	XO	XDH
Véhicule	$27,16 \pm 0,89$	$25,19 \pm 0,67$	-	-
FF 50 mg/kg	$23,91 \pm 1,43$	$17,96 \pm 1,80$	11,16	28,70
FF 100 mg/kg	$34,75 \pm 3,12$	$27,31 \pm 0,80$	-	-
FF 200 mg/kg	$30,88 \pm 2,11$	$23,47 \pm 1,16$	-	06,82
Allopurinol	$5,66 \pm 0,595$	$5,99 \pm 0,87$	79,16	76,22
OP	$27,48 \pm 1,79$	$33,44 \pm 3,93$	-	-
OP+ FF 50 mg/kg	$23,14 \pm 1,24$	$18,5 \pm 2,74$	15,79	45,33
OP+FF 100 mg/kg	$21,45 \pm 0,98$	$18,71 \pm 1,51$	21,94	44,04
OP+FF 200 mg/kg	$21,48 \pm 1,86$	$17,73 \pm 1,25$	21,83	46,97
OP +Allopurinol	$08,90 \pm 1,86$	$08,90 \pm 2,02$	67,35	73,38

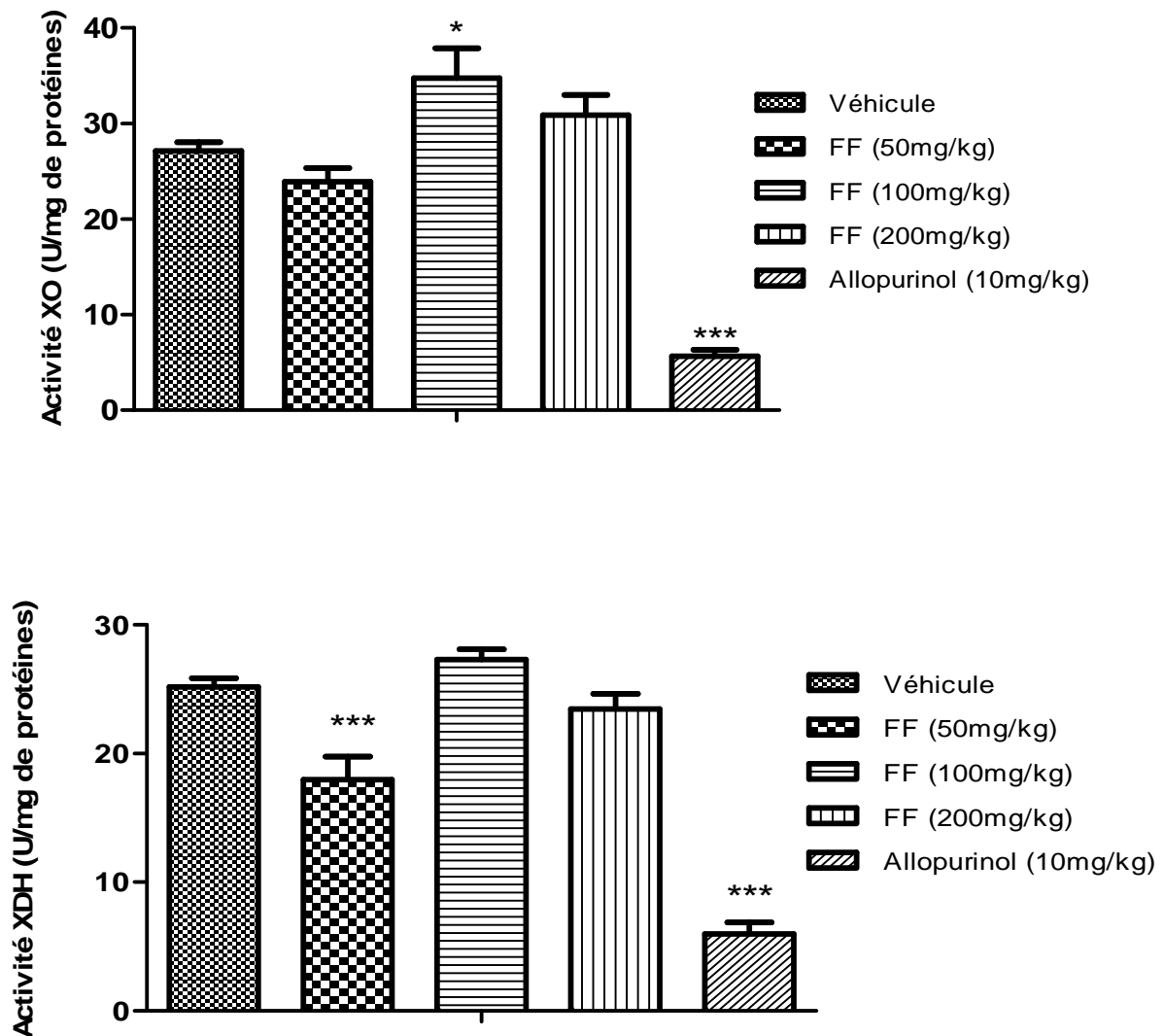


Figure 12 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sur l'activité XO/XDH chez les souris normale. Les données représentent la moyenne (\pm SEM) de l'activité XO/XDH dans le foie des souris mâle.

Chez les souris normales, comparées au groupe du contrôle négatif, l'activité de XO dans le foie de souris n'est pas significativement inhibée à la dose de 50 et 200 mg/kg, par contre à la dose de 100 mg/kg, l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* n'a pas inhibé cette enzyme. L'activité de XDH chez les souris normales a été inhibée d'une façon significative ($P < 0,001$) à la dose de 50 mg/kg, mais à la dose de 200 mg/kg, l'extrait n'inhibe pas l'XDH. Le pourcentage d'inhibition de la XO est de 11,16 % après traitement avec l'extrait aqueux de *Fraxinus angustifolia* à la dose de 50, mais l'activité XO n'a pas été inhibée à une dose de 100 et 200 mg/kg. Le pourcentage d'inhibition de la XDH dans le foie est de 28,70 et 06,82% à la dose de 50 et 200 mg/kg, respectivement, de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, voir le tableau VII précédant.

L'administration de l'allopurinol a inhibé d'une façon significative ($P<0,001$) l'activité de XO/XDH de 79,16 et 76,22% respectivement. Cependant, il n'y a pas une différence significative entre le traitement par l'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* à 50 mg/kg et l'allopurinol à 10 mg/kg.

L'oxonate a légèrement augmenté les activités enzymatiques de la XO/XDH, l'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg pendant 3 jours exercé à des effets inhibiteurs des activités de XO/XDH.

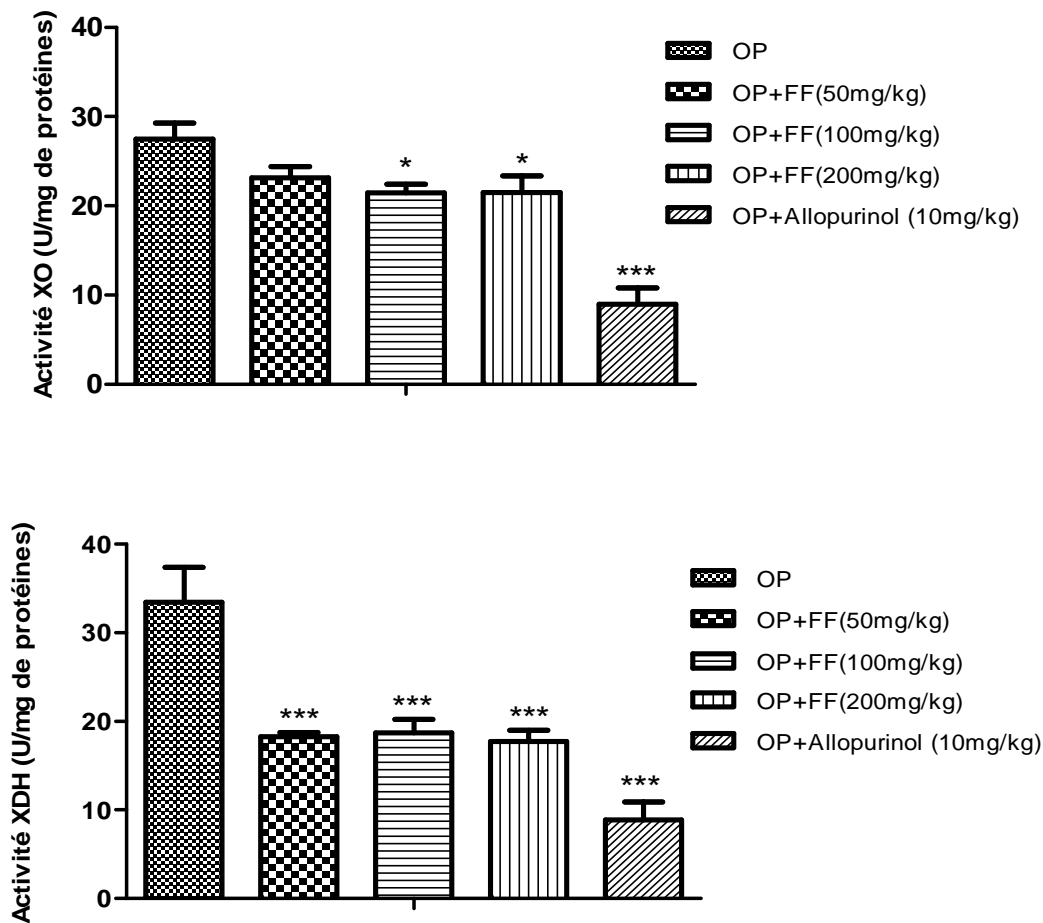


Figure 13: Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sur l'activité de XDH et XO dans les foies des souris mâles hyperuricémiques. Les données représentent la moyenne (\pm SEM) des activités XDH/XO dans le foie des souris.

L'inhibition de l'activité de la XO chez les souris hyperuricémiques par l'extrait aqueux de *Fraxinus angustifolia*, à une dose de 50 mg/kg est non significative, alors qu'à la dose de 100 et 200 mg/kg, l'inhibition est significative ($P<0,05$). L'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* inhibe significativement ($P<0,001$) l'activité de la XDH, à des doses de 50,100, 200 mg/kg. L'allopurinol a inhibé de façon significative ($P<0,001$) l'activité de XO/XDH.

Chez les souris hyperuricémiques, comparées au groupe du contrôle positif (hyperuricémique), l'activité de la XDH dans le foie a été inhibée de 45.33, 44.04 et 46,97%, après traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg, respectivement. L'activité XO dans le foie a été inhibée de 15.79, 21.94 et 21.83% aux doses précédentes. L'administration de l'allopurinol a réduit l'activité XO et l'activité de la XDH dans le foie des souris de 67.35 et 73.38%, respectivement. Cependant, il y'a une différence significative entre l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg et l'allopurinol à 10 mg/kg.

III.2.Discussion :

III.2.1.L'extraction :

L'étude qualitative et quantitative des composés bioactifs issus des plantes repose particulièrement sur la sélection d'une méthode d'extraction propre à chaque composant. Elle est la première étape ou démarche pour l'étude de toutes les plantes médicinales jouant un rôle important et crucial dans les résultats des bioactivités. L'extraction des différentes parties de plantes peut être réalisée par divers méthodes d'extraction. Il n'existe pas une méthode conventionnelle, permettant une exploitation réduite du temps, améliorer la quantité et la qualité de l'extrait, développée durant ces dernières années. Le tableau suivant montre l'utilisation des différents solvants pour l'extraction des composés actifs (*Azmir et al., 2013*).

Tableau VII : Les composés actifs extraits par différents solvants (*Azmir et al., 2013*).

Eau	Ethanol	Méthanol	Chloroforme	Dichlorométhanol	Ether	Acétone
Anthocyanines Tannins Polyphénols Saponines Terpenoïdes	Tannins Flavonoïdes Alcaloïdes	Anthocyanines Terpenoïdes Saponines Tannins Flavonoïdes Polyphénols	Terpenoïdes Flavonoïdes	Terpenoïdes	Alcaloïdes Terpenoïdes	Flavonoïdes

III.2.2.Les taux d'acide urique et l'activité de la XO/XDH :

L'hyperuricémie est considérée comme une maladie métabolique caractérisée par l'augmentation des taux d'acide urique dans le sang, engendrant le dépôt des cristaux d'urate au niveau des articulations et des reins. Aussi connue comme étant un facteur de risque important dans l'apparition de l'arthrite goutteuse, la lithiase urique, les maladies cardiovasculaires (l'hypertension) et rénales (*Wang et al., 2008; Havlik, 2010*). Malgré l'avancés dans l'utilisation des agents anti-hyperuricémiques et les traitements de la goutte, l'allopurinol reste le traitement le plus utilisé comme inhibiteur de la xanthine oxydase (XOD), qui peut causer une sévère hypersensibilité et aggraver la toxicité rénale. Ce qui a conduit les chercheurs à trouver d'autres traitements à base de plantes pour diminuer les effets secondaires, utilisant des modèles animaux pour étudier l'hyperuricémie et la maladie de la goutte (*Unno et al., 2004; Hua et al., 2012; Kiu et al., 2012*).

L'acide urique est généré lors du catabolisme de l'hypoxanthine et la xanthine est catalysé par la xanthine oxydase. L'allopurinol, est utilisé comme traitement pour diminuer le taux d'acide urique, un inhibiteur de la xanthine oxydoreductase, par son analogie structurale avec son substrat (Ngoc *et al.*, 2012).

L'oxonate de potassium est un inhibiteur compétitif de l'uricase hépatique, il bloque le transporteur de l'acide urique présentant une homologie à l'uricase, induisant aussi une surexpression de mURAT1, mGLUT9 au niveau du tubule proximal rénal chez les souris hyperuricémiques, aboutissant à une réabsorption élevée et une réduction de l'excrétion de l'urate (Wang *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011).

De plus, Il inhibe le transporteur rénal de l'urate et bloque l'activité du canal d'UAT chez les mammifères. Il a été récemment rapporté que le transporteur d'urate 1 des souris similaires au transporteur d'urate 1 humain, a été le gène responsable de l'hypouricémie rénale héréditaire (Zhao *et al.*, 2006). L'oxonate de potassium diminue les taux d'expression de mOAT1, mOCT1, mOCT2, mOCTN1 et de mOCTN2. Cette altération est peut être due à l'accumulation de l'acide urique, médicaments et d'autres composants nuisibles au niveau des reins des souris. L'oxonate est fréquemment employé pour développer l'hyperuricémie chez les modèles animaux dans les investigations médicales et toxicologiques (Hu *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2012).

Bien que l'acide urique peut prévenir les dommages de l'ADN dues à ces propriétés anti-oxydantes, mais sa surproduction peut conduire à une hyperuricémie provoquant plusieurs maladies (Liu *et al.*, 2008).

La diminution du taux d'acide urique par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est probablement due à différents mécanismes tels qu'une augmentation de l'élimination de l'acide urique, stimulation de l'uricase hépatique, inhibition des facteurs inflammatoires, inhibition des dépôts des cristaux d'urate au niveau des articulations, l'inhibition de la XO/XDH ou son action sur les transporteurs de l'acide urique, en réduisant sa réabsorption (Murugaiyah *et Chan*, 2009; De Souza *et al.*, 2012; Kuo *et al.*, 2012).

L'urate est un facteur de risque dans l'apparition du diabète, car un taux élevé de glucose dans le sang chez les patients diabétique sera associé avec une hyperuricémie. Le glucose régule (accroit) l'activité le transporteur/canal d'urate (hUAT), suggérant ainsi un rôle extracellulaire du glucose dans la régulation de l'activité du canal hUAT. La réduction du

taux d'acide urique et peut être due à l'altération de la concentration du glucose extracellulaire, par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, exerçant ainsi un effet régulateur sur l'activité du transporteur de l'UAT (**Zhao et al., 2006**).

La diminution de l'expression de mOCTN1 et de mOCTN2 au niveau des reins des souris hyperuricémiques est peut être atténuée par l'esculine et l'esculetine présentes dans cet extrait de *Fraxinus angustifolia*, qui favorisent une protection rénale (**Li et al., 2011; Shi et al., 2012**).

Le transporteur unidirectionnel ABCG2 est exprimé au niveau de la membrane apicale des reins chez les souris. L'oxonate diminue les taux d'ABCG2m, tandis que le taux d'acide urique accroit. Les résultats peuvent être dus à l'esculetine, esculine, fraxetine et la fraxine existant dans l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, qui restaurent la régulation de l'ABCG2m, par leur effet hypouricémique (**Li et al., 2011**).

L'allopurinol a été utilisé comme un traitement contrôle positif pour les souris normales et hyperuricémiques, c'est un inhibiteur allostérique de la xanthine oxydase. Il a été rapporté que l'allopurinol avait une action sur les systèmes rénaux et le transporteur extra-rénal de l'acide urique incluant le transporteur C1/urate (**Zhao et al., 2006**). Les inhibiteurs de la XO peuvent être utilisés cliniquement pour bloquer la dernière étape de synthèse de l'acide urique, ainsi réduire la production de l'acide urique. L'utilisation de l'allopurinol est limitée par la formation de l'oxypurinol, qui cause différents effets secondaires. Les flavonoïdes peuvent être une alternative intéressante pour le traitement des maladies promues par les radicaux libres comme la goutte (**Owen et Johns, 1999; Van Hoorn et al., 2002; Saud Ahmad et al., 2008; Huang et al., 2011**).

Plusieurs composants actifs sont obtenus à partir des différentes plantes médicinales, comme les flavonoïdes, les polyphénols, les tanins, les anthocyanines et les coumarines, rapportés possédant une activité inhibitrice de la XO *in vivo* chez les souris normales et hyperuricémiques (**Bindoli et al., 1985; Costantino et al., 1996; Pirouzpanah et al., 2009; Huang et al., 2011; Gawlik-Dziki, 2012; Raju et al., 2012**).

Les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives d'oxygène, en raison de la réactivité élevée du groupe hydroxyle qui rend les radicaux libres ROS inactifs, qui pourrait être à l'origine de l'activité inhibitrice de la XO/XDH de cette extrait (**Baghiani et al., 2011**).

L’NLRP3 interagit avec ASC (Apoptotic associated like proteins) pour activer la caspase-1, aboutissant à la maturation et à la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et interleukins (IL)-1b et IL-18, provoquant une réponse inflammatoire (Hu et al., 2012). L’activité anti-hyperuricémique et anti-xanthine oxydoréductase est peut être due au blocage de l’inflammasome NLRP3 par l’extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, due à la présence de la rutine (flavonoïde glycosylé), qui a pour rôle de diminuer la réponse inflammatoire mais aussi améliorer la diminution de la signalisation et la réduction de l’accumulation des lipides dans les reins (Hu et al., 2012).

Les flavonoïdes, testés *in vitro*, n’ont pas montré un effet significatif sur l’activité de la XO mais ont inhibé significativement la XO *in vivo* chez les souris normales et hyperuricémiques. Cette différence peut être due à la différence entre la biodisponibilité des flavonoïdes et leur métabolisme chez les souris. L’activité inhibitrice de la XO/XDH peut être due à la présence des flavonoïdes tels que la rutine dans l’extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* (Haidari et al., 2009; Huang et al., 2011).

Il est possible que la différence dans la structure, l’absorption et le métabolisme des divers flavonoïdes retrouvés dans cette extrait, mènent à la formation des métabolites avec différentes activités inhibitrice de la XO (Huang et al., 2011). Plusieurs études pharmacocinétiques montrent que l’intestin grêle est le site majeur d’absorption de différents flavonoïdes glycosidiques telle la rutine, mais la nature de la glycosylation de la rutine peut influencer sur la vitesse de son absorption. Ces études suggèrent aussi que le taux des métabolites de la rutine atteints la circulation systémique menant à la diminution du taux d’acide urique et l’inhibition de l’activité de la XO/XDH (Zhu et al., 2004).

L’inhibition de l’activité XO/XDH et l’activité hypouricémique de l’extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est peut être due à la présence des constituants phytochimiques et de ses activités anti-inflammatoires et antioxydantes (Umamaheswari et al., 2007). La synergie entre les différents principes actifs présents dans l’extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* peut accentuer cette effet hypouricémique (De Souza et al., 2012).

Comme le foie est l’organe capital du métabolisme et la XO est habituellement présente à des taux élevés dans le foie, l’accroissement de l’activité de la XO dans le sérum est accompagnée par la diminution de l’activité de la XO dans le foie, ce qui est peut être due à la libération de

la XO dans le sang dont il résulte une diminution de la perméabilité de la membrane cellulaire du foie (**Huang et al., 2011**).

Peut être que les composants actifs de *Fraxinus angustifolia* possèdent des interactions multiples avec les divers acides aminés actifs du site de la xanthine oxydase (**Bandgar et al., 2012**).

L'effet anti-xanthine oxydoréductase est peut être due à une corrélation entre les chélateurs des métaux et les polyphénols présent dans l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, indiquant que ces polyphénols sont des chélateur de fer responsable de leur activité antihyperuricémique (**Baghiani et al., 2011**).

L'effet hypouricémique de l'extrait aqueux de *Fraxnus angustifolia* pourrait être expliqué par l'activation de l'UTA bloqué par l'oxonate chez les souris hyperuricémiques (**Zhao et al., 2006**). L'absence de l'inhibition de la XO/XDH dans le contrôle 100 est peut être due à des erreurs dans les manipulations et le traitement des souris (**Huang et al., 2011**).

En outre, l'activité de la XO/XDH dans le foie de souris n'est pas corrélée avec le taux d'acide urique, alors que le taux d'acide urique augmentent avec l'accroissement des concentrations 50, 100 et 200 mg/kg de l'extrait aqueux de *Fraxinus angustifolia* contrairement à l'activité inhibitrice de la XO/XDH. En effet, l'usage des flavonoïdes est la conséquence d'accroissement de façon transitoire du taux d'acide urique, ce qui est en accords avec les résultats exhibés par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, qui inclus dans sa composition la rutine (**Huang et al., 2011**).

Cette étude a démontré l'action hypouricémique *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*, et sa capacité à diminuer le taux d'acide urique sanguin et l'activité de la XO/XDH dans le foie des souris, qui reste inférieure à l'efficacité de l'allopurinol. Néanmoins, il est à noter que la complexité de la composition chimique de cet extrait aqueux et la multiplicité de leurs cibles d'action, diversifie les mécanismes d'action mis en œuvre dans cette diminution prononcée du taux d'acide urique.

Fraxinus angustifolia est une plante traditionnelle présente en Algérie et dans les pays méditerranéens utilisée pour traiter les maladies rhumatismales, est récemment connue pour son activité antibactérienne, anti-hyperuricémique et anti-XOR.

Dans cette étude, l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* a révélé une réduction du taux d'acide urique dans le sérum sanguin d'une manière significative aux doses de 50, 100, 200 mg/kg, mais ces dernières n'ont pas montré une inhibition significative de l'activité de la XO dans le foie, contrairement à l'activité de la XDH qui a été inhibé significativement aux doses de 50, 100, 200 mg/kg après le traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia*.

Pour conclure, ces résultats indiquent que l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* attribue à la réduction du taux d'acide urique par la diminution de sa réabsorption ou augmentation de son élimination, mais aussi essentiellement par l'inhibition de l'activité XOR.

Fraxinus angustifolia possède beaucoup d'activités biologiques dans le traitement et la prévention des désordres associés à l'hyperuricémie, il est ainsi suggéré que *Fraxinus angustifolia* peut être un agent potentiel dans la diminution des taux d'acide urique et/ou a un effet hypouricémique.

Des études futures peuvent évaluer le rôle de la réabsorption et du mécanisme de sécrétion dans la régulation de l'acide urique par l'extrait aqueux de *Fraxinus angustifolia*.

Par conséquent, il est intéressant de porter un grand intérêt à effectuer d'autres recherches pour valider les activités de *Fraxinus angustifolia* et déceler ses principes actifs, par l'isolement et la caractérisation de ses constituants responsables des différentes activités.

A

-Ahmad, N.S., Farman, M., Najmi, M. H., Mian, K. B., Hasan, A., (2008). Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 117, 478–482.

-Alaoui, H. B., Mezalek, Z. T., Harmouche, H., Aouni, M., Maaouni, A., (2010).La goutte: nouvelles recommandations. *Esperance Médicale*, 17,119-133.

-Amaya, Y., Yamazaki, K-i., Sato, M., Noda, K., Nishino, T., Nishinon, T., (1990). Proteolytic conversion of xanthine dehydrogenase from the naddependent type to the O2-dependent type. *The journal of biological. chemistry*, 14170-14175.

-Arafat, O.M., Tham, S.T., Sadikun, A., Zhari, I., Haughton, P.J., Asmawi, M.Z., (2008). Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 354-358.

-Arimboor, R., Rangan, M., Aravind, S.G., Arumughan, C., (2011). Tetrahydroamentoflavone (THA) from *Semecarpus anacardium* as a potent inhibitor of xanthine oxidase. *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 1117–1120.

-Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Ghafoor, K. Norulaini, N.A.N.,Omar, A. K. M., Jahurul, M. H. A., (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117, 426–436.

B

-Baba-aissa, F., (1999). Encyclopédie des plantes utiles « flore d'Algérie et du maghreb ». *Ed EDAS*, 112-113.

-Baghiani, A., Boumerfeg, S., Adjadj, F., Ameni, D., Djermouni, M., Khelifi-Touhami, F., Charef, N., Khennouf, S., Arrar, L., (2011). Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga iva L.* Extracts. *Free Radicals and Antioxidants*, 21-27

-Ball, E. J., (1938). Xanthine oxidase: purification and properties. *Science*, 88, 51-66.

- Bardin, T.,** (2004). Comment traiter un goutteux résistant ou allergique à l'allopurinol en 2004 ?. Current management of gout in patients unresponsive or allergic to allopurinol. *Revue du Rhumatisme*, 71, 860–864.
- Behera, B. C., Adawadkar, B., Makhija, U.,** (2003). Inhibitory activity of xanthine oxidase and superoxide-scavenging activity in some taxa of the lichen family *Graphidaceae*. *Phytomedicine*, 10, 536–543.
- Beloued, A.,** (2009). Plantes médicinales d'Algérie, technicien supérieur, département de botanique à l'institut national agronomique d'El-Harrach-Alger, 5^{ème} édition, Ed office des publications universitaires, 100.
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, Dj., Benboubetra, M.,** (2009). Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal of Medicinal Food*, 13, (4), 1-9.
- Berry, C. E., and Hare, J. M.,** (2004). Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol*, 555, 589–606
- Bindoli, A., Valente, M., Cavallini, L.,** (1985). Inhibitory action of quercetin on xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity. *Pharmacological Research Communications*, 831-838.
- Bordier, L., Blanchard, A., Sarret, D., Hérody, M., Nédélec, G., Duvic, C.,** (2004). Hypo-uricémie, un vieux sujet et de nouveaux concepts. *Presse Med*, 33, 555-562.
- Bossert, P., Guanter, M., Mir, C., Rossier, C., Ruggli, M., Savoia Bossert, M.,** (2003). Pharma-News. *Le journal de l'équipe officinale*, 10-15.
- Boussellier, M. R. P.,** (2008). Intérêt de l'utilisation de l'allopurinol dans l'insuffisance cardiaque chez le chien : étude. 20-30.
- Bray, R. C.,** (1975). The inorganic biochemistry of molybdoenzymes. *Q. Rev. Biophys*, 21, 299–329.

C

- Chalès, G.,** (2011). De l'hyperuricémie à la goutte : épidémiologie de la goutte. *Service de Rhumatologie*, 78, 110-114.

-Chen, L., Yin, H., Lan, Z., Ma, S., Zhang, C., Yang, Z., Li, P., Lin, B., (2011). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china L.* *Journal of Ethnopharmacology* , 135 , 399-405.

-Chien, S., Yang, C., Tseng, Y., Tsay, Y., Kuo, Y., Wang, S., (2009). *Lonicera hypoglauca* inhibits xanthine oxidase and reduces serum uric acid in mice. *Original paper*, 1-5.

-Componovo, C., (2011). Distribution de la fraction d'excrétion rénale du lithium et de l'acide urique dans l'étude de population hercules. 9-17.

-Costantino, L., Rastelli, G., Albasini, A., (1996). A rational approach to the design of flavones as xanthine oxidase inhibitors. *Eur J Med Chem*, 3 1, 693-699.

D

-De Souza, M. R., Paula, C. A., Resende , M.L.P, Guimarães , A., Souza Filho , J. D., Guimarães , D.A., (2012). Pharmacological basis for use of *Lychnophora Trichocarpa* in gouty arthritis: Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 142, 845-850.

-Derbré, F., (2011). Etude des voies de signalisation impliquées dans la sarcopénie. Rôle du stress oxydant et de l'inactivité physique. *Reveu de littérature-Chapitre 2*, 44-60.

-Diderot, D., (2012). Mise au Point sur la Goutte. Pièges. Diagnostic et traitement. 453-456.

-Doehner, W., and Landmesser, U., (2011). Xanthine oxidase and uric acid in cardiovascular disease:clinical impact and therapeutic options. *Seminars in Nephrology*, 1-10.

-Dubost, J., Mathieu, S., Soubrier, M., (2011). Traitement de la goutte. Treatment of gout. *La Revue de médecine interne*, 32, 751-757.

E

-Ea, H. K., (2012). Mise au point sur la goutte. Pièges. Diagnostic et traitement. Rhumatologie-orthopédie, 453-456.

-Ernst, M. E., PharmD, BCPS, FCCP, Fravel, M. A., (2009). Febuxostat: A selective xanthine-oxidase/xanthine dehydrogenase, inhibitor for the management of hyperuricemia in adults with gout. *Clinical Therapeutics*, 11, 2503-2516.

F

-Flemmig, J., Kuchta, K., Arnhold, J., Rauwald, H. W., (2011). Olea europaea leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*, 18, 561–566.

-Fox Tarsac, V., (2008). Support Médical D'aide.34-43.

-Fox, L. H., (1981). Metabolic basis for disorders of purine nucleotide degradation. *Progress in endocrinology and metabolism*, 619- 625.

-Francois, C. J., (1973). Activitd oxydasique de l'oxydor~ductase de la xanthine, spécifique de la classe des mammifères. *Biochemical Systematics*, 231 – 236.

G

-Gariépy-Major D.O., S., (2007). La goutte. Article, 1-8.

-Gawlik-Dziki, U., (2012). Dietary spices as a natural effectors of lipoyxygenase,xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 138-146.

-Grassi, D., Ferri, L., Desideri,G., Di Giosia, P., Cheli,P., Del Pinto, R., Properzi, G., Ferri, C., (2013). Chronic Hyperuricemia, Uric Acid Deposit and Cardiovascular Risk. *Current Pharmaceutical Design*, 19, 2432-2437.

H

-Hall, I.H., Scoville, J.P., Reynolds, D.J., Simlot, R., Duncan, P., (1990). Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. *Life Sci.*, 46, 1923–1927.

-Haidari, F., Rashidi, M.R., Keshavarz, S.A., (2008). Effects of onion on serum uric acid levels and hepatic xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase activities in hyperuricemic rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 1779–1784.

-Haidari, F., Keshavarz, S.A., Rashidi, M.R., Shahi, M.M., (2009). Orange juice and hesperetin supplementation to hyperuricemic rats alter oxidative stress markers and xanthine oxidoreductase activity. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 45, 285–291.

-Harrison, R., (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now?. *Free Radical Biology & Medicine*, 774-797.

-Havlik, J., Huebra, R.G., Hejtmankova, K., Fernandez, J., Simonova, J., Melich, M., Rada, V., (2010). Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 132, 461–465.

-Hayden, T. J., and Duke, E. J., (1979). Purification and Characterization Of Xanthine Dehydrogenase From *Locusta Migratoria L.* *Insect Biochem*, 9, 583 - 588.

-Hazeltine, M., and FRCPC, D., (2011). La goutte : un défi du nouveau millénaire. Article, 33-35.

-Ho, S. T., Tung, Y.T., Huang, C. C., Kuo, C. L., Lin, C. C., Yang, C. C., Wu, J. H., (2012). The hypouricemic effect of *Balanophora laxiflora* Extracts and derived phytochemicals in hyperuricemic mice. *Evidence Based Complementary and Alternative Medecine*, 1-7.

-Hu, Q., Jiao, R., Wang, X., Lv, Y. Z., Kong, L., (2010) . Simiao pill ameliorates urate underexcretion and renal dysfunction in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 128, 685-691.

-Hummel, A., (2012), Néphropathie hyperuricémique familiale juvenile. Familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *Néphrologie et thérapeutique*, 8, 117–125.

-Hurtes, X., and Meria, P., (2011), Atteintes uro-néphrologiques des hyperuricémies. Arthropathies microcristallines dossier thématique, 1-4.

-Hua, j., Huang, P., Zhu, C.M., Yuan, X., Yu, C.H., (2012). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of Modified Decoction in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology* , 142, 248–252.

Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Chen, J., Zhu, X., (2011). Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1943–1947.

J

-Ichida., A, Amaya ., Y, Okamoto, K., Nishino, T., (2012). Mutations Associated with Functional Disorder of Xanthine Oxidoreductase and Hereditary Xanthinuria in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 1-15.

-Izzedine, H., and Deray, G., (2011). Acide urique et Fonction rénale, *Revue de Rhumatisme*, 134-140.

K

-Kahl, S., and Elsasser, T. H., (2004). Endotoxin challenge increases xanthine oxidase activity in cattle: effect of growth hormone and vitamin E treatment. *Domestic Animal Endocrinology*, 26, 315–328.

-Kayembe, D., and Deplaen, J. L., (1973). Sigg-Farner , La Goutte Dans un Hopital Universitaire Africain . 89-90.

-Korantzopoulos, P., Letsas. K. P., Liu, T., (2012). Xanthine oxydase and uric acid in arterial fibrillation. *Frontiers in Physiology*, 150, 1-3.

-Kostova, I., and Iossifova, T., (2007). Chemical components of *Fraxinus angustifolia* species. *Fitoterapie*, 78, 85-100.

-Kuo, C., Kao, E., Chan, K., Lee, H., Huang, T., Wang, C., (2012). *Hibiscus sabdariffa L.* extracts reduce serum uric acid levels in oxonate-induced rats. *Journal of Functional Foods*, 4, 375-380.

L

-Lartillot, S., and Vogel, C., (1973). Microméthodes enzymatiques colorométriques de dosage de l'acide urique. *Biochimie*, 55, 829-831.

-Laviolle, B., (2012). Pharmacologie de la Goutte. Article, 1-7.

-Le Treut, A., (2010). Métabolisme des purines, 11-13.

-Lederer, J., (1978). Régime de la goutte. *Nauwelaets*. 1-2.

-Leimkuhler, S., Hodson. R., George, G. N., Rajagopalan. K. V., (2003). Recombinant *Rhodobacter capsulatus* xanthine dehydrogenase, a useful model system for the characterization of protein variants leading to xanthinuria I in human. *The Journal of Biological Chemistry*, 20802–20811.

-Létard, J., C., Ludot, T., Costil, V., Tarrerias, A., L., Boustière, G., B., C., Canard, J., M., Constantini, D., Coulom, P., Devulder, F., Gay, G., Helbert, T., Houcke, P., Lapuelle, J., Lévy, P., Papazian, A., Pingannaud, M., P., Molard, B., R., Verdier, A., (2009). Fiche de recommandation alimentaire. *Club de réflexion des cabinets et groupes d'hépatogastroentérologie*, 1-4.

-Li, J., M., Zhang, X., Wang, X., Xie, Y. C., Kong. L. D., (2011). Protective effects of cortex fraxini coumarines against oxonate-induced hyperuricemia and renal dysfunction in mice. *European Journal of Pharmacology*, 666, 196–204

-Lin, C. M., Chen, C. S., Chen, C. T., Liang, Y. C., Lin, J. K., (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294, 167–172.

-Liu, X., Chen, R., Shang, Y., Jiao, B., Huang, C., (2008). Lithospermic acid as a novel xanthine oxydase inhibitor has anti-inflammatory and hypouricemic effects in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 176, 137-142.

M

-Many, A. MD, C. A. Hubel, Phi, Roberts J. M., M. D, (1996). Hyperuricemia and xanthine oxidase in preeclampsia, revisited. *Am J Obstet Gynecol*, 288-289.

-Marinova, E.M., Nedjalka, VI., Yanishlieva, Kostova, I.N., (1994). Antioxidative action of the ethanolic extract and some hydroxycoumarins of *Fraxinus ornus* bark. *Food Chemistry* 51, 125-132.

-McNally, J. S., Davis, M. E., Giddens, D. P., Saha, A., Hwang, J., Dikalov, S., Jo, H., -Harrison, D. J., (2003). Role of xanthine oxidoreductase and NAD (P) H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *American Journal of Physiology*, 285, 2290 – 2296.

-Merriman, T., and Dalbeth, N., (2010). Bases génétiques de l'hyperuricémie et de la goutte. The genetic basis of hyperuricaemia and gout. *Revue du rhumatisme monographies*, 77, 328-334.

-Moltó, A., and Olivé, A., (2010), Les anti-IL-1 : nouvelles molécules et nouvelles indications. *Revue du rhumatisme*, 77, 124-130.

-Montalbini, P., (2000). Xanthine dehydrogenase from leaves of leguminous plants: Purification, characterization and properties of the enzyme. *Journal of Plant Physiology*, 3-16.

-Murugaiyah, V., and Chan, K., (2009). Mechanisms of antihyperuricemic effect of *Phyllanthus niruri* and its lignan constituents, *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 233-238.

N

-Neves, N. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., Re, R., Gomes, B., (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 270-272.

-Nishino, T., and Nishino, T., (1997). The conversion from the dehydrogenase type to the oxidase type of rat liver xanthine dehydrogenase by modification of cysteine residues with fluorodinitrobenzene. *The Journal of Biological Chemistry*, 47, 29859-29864.

-Ngoc, T. M., Khoi, N. M., Ha, D. T., Nhiem, N. X., Tai, B. H., Don, D. V., Luong, H. V., Son, D. C., Bae, K., (2012). Xanthine oxidase inhibitory activity of constituents of *Cinnamomum cassia* twigs. *Bioorganic et Medicinal Chemistry Letters*, 22, 4625-4628.

O

-Okmoto, K., and Nishino, T., (1995). Mechanism of inhibition of xanthine oxydase with a new tight binding inhibitor. *The Journal of Biological Chemistry*, 7816-7821.

-Osada, Y., Tsuchimoto, M., Fukushima, H., Takahashi, K., Kondo, S., Hasegawa, M., Komoriya, K., (1993). Hypouricemic effect of the novel xanthine oxidase inhibitor, TEI-6720, in rodents. *European Journal of Pharmacology*, 241, 183-188.

-Owen, P. L., and Johns, T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 149-160.

P

-Panus. P. C., Burgess, B., Freeman. B. A., (1991). Characterization of cultured alveolar epithelial cell xanthine dehydrogenase/ oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1091, 303-309.

-Perez-Ruiz, F., (2007), Les nouveaux traitements de la goutte. New treatments for gout. *Revue du Rhumatisme*, 74, 624-626.

-Pirouzpanah, S., Rashidi, M.R., Delazar, A., Razavieh, S.V., Hamidi, A. H., (2009). Inhibitory effect of *Ruta graveolens L.* Extract on guinea pig liver and bovine milk xanthine oxidase. *Iranian Journal of pharmaceutical Science*, 5, 163- 170.

-Pritsos, C. A., (2000). Cellular distribution, metabolism and regulation of the xanthine oxidoreductase enzyme system. *Chemico-Biological Interactions*, 129, 195–208.

R

-Raju, R., Joseph, S., Scria, S., Mathews, S., M., Umamheshwari, M., (2012). Effect of the fractions of *Erythrina stricta* leaf extract on serum urate levels and Xo/Xdh activities in oxonate-induced hyperuricaemic mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (02), 89-94.

-Reginato, A.M., Mount, D.B., Yang, L., Choi, H. K., (2012). The genetics of hyperuricaemia and gout. *Nat Rev Rheumatol*, 8(10), 610–617.

-Richette, P., (2010). Réflexions Rhumatologiques, Service de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Fédération de Rhumatologie.7-17.

S

-Sarwar, G., and Brulé, D., (1991). Assessment of the uricogenic potential of processed foods based on the nature and quantity of dietary purines. *Progress in Food and Nutrition Science*, 15, 159-181.

-Sato, E., Mokudai, T., Niwano, Y., Kohno, M., (2011). Kinetic analysis of reactive oxygen species generated by the in vitro reconstituted NADPH oxidase and xanthine. *The journal of biochemistry*, 150 , (2), 173-179.

-Schmeda-Hirschmann, G., Theoduloz, C, Franco, L, Ferro, E., De Arias, A.R., (1987). Preliminary pharmacological studies on *eugeivia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 21, 183- 186.

-Sekli-Belaidi, F., (2011). Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. 1-14.

-Shi, Y. W., Wang, C. P., Wang, X., Zhang, Y. L., Liu, L., Wang, R. W., Hu, L. S., Kong, L. D., Ye, J. F., (2012). Uricosuric and nephroprotective properties of Ramulus Mori ethanol extract in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 143, 896-904.

-Silva, M. P., Mira, L., Lima, J., Manso, C. F., (1996). Kinetics of the inhibition of xanthine dehydrogenase and of the reversible and irreversible forms of xanthine oxidase by silibinin and bendazac. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 1, 279-284.

-So, A., and Busso, N., (2012). Actualités sur la Goutte en 2012. *Revue de Rhumatisme* 79s, 22-26.

T

-Tardivon, J. C., and Si-Mohamed, C., (2012). Les plantes aromatiques et médicinales. Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich-Tétouan. 5-8.

-Terkeltaub, P., (2009). Novel therapies for treatment of gout and hyperuricemia, *Arthritis Research & Therapy*, 11, 1-10.

-Torre, G. D., and Montalbini, P., (1995). Allopurinol metabolic conversion products and xanthine accumulation in allopurinol-treated plants. *Plant Science*, 111, 187-198.

U

-Umamaheswari, M., AsokKumar, K., Somasundaram, A, Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V., Ravi, T. K., (2007). Ethnopharmacological communication Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 547–551.

-Umamaheswari, M., AsokKumar, K., Somasundaram, A, Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V.,Ravi,T.K., (2009). *In vitro* xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 646–648.

-Unno, T., Sugimoto, A., Kakuda, T., (2004). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 391–395.

V

-Valeix, N., and Guillot, X., (2013). Les différents types d'hyperuricémies. N° 525, 16-17.

-Van Hoorn, D. E. C., Nijveldt, R., J., Van Leeuwen, P., A., M., Hofman, Z., M'Rabet, L., De Bont, D., B., A., Van Norren, K., (2002). Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. *European Journal of Pharmacology*, 451, 111-118.

W

-Wallander, E., (2008). Systematics of Fraxinus (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant Syst Evol*, 273, 25–40.

-Wang, S.Y., Yang, C.W., Liao, J.W., Zhen, W.W., Chu, F.H., Chang, S.T., (2008). Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomedicine*, 15, 940–945.

-Wilson, B. D., Beyer, A., Bishop, C., Talbot, J. H., (1953). Urinary uric acid excretion after the ingestion of isotopic yeast nucleic acid in the normal and gouty human. *Bufalo*, 227- 230.

Z

-Zhao, X., Zhu, J. X., Mo, S. F., Pan, Y., Kong, L. D., (2006). Effects of cassia oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 357–365.

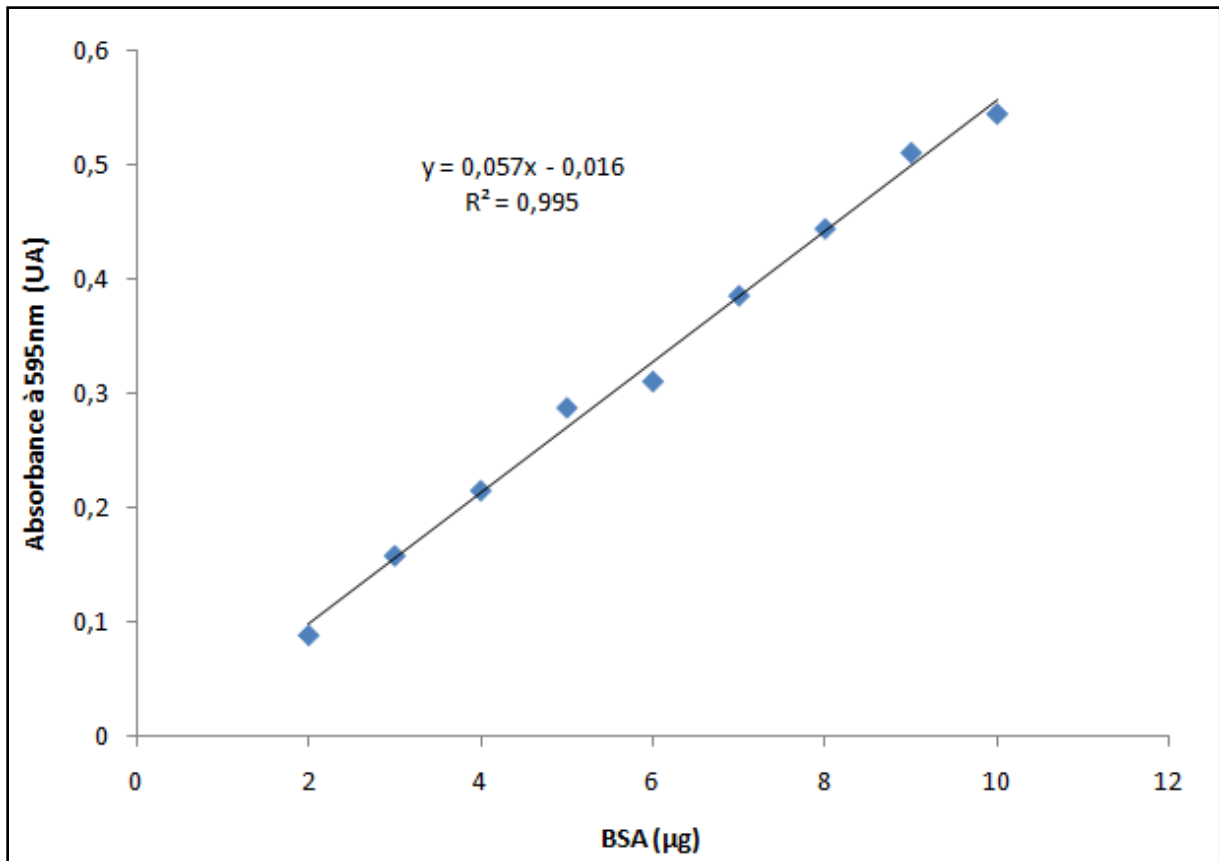
-Zhou, L., Kang, J., Fan, L., Ma, X. C., Zhao, H. Y., Han, H., Wang, B.r., Guo, D. A., (2008). Simultaneous analysis of coumarins and secoiridoids in Cortex Fraxini by high-performance liquid chromatography–diode array detection–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47, 39–46

-Zhu, J., X., Wang, Y., Kong, L. D., Yang, C., Zhang, X., (2004). Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 133–140.

Annexe N°1 : Les résultats du taux d'acide urique dans le sang.

Traitement	Dose mg/Kg	Taux d'acide urique dans le sang (mg/dl)
Véhicule (Eau+CMC)	---	3,01±0,194
FF	50	0,764±0,168
FF	100	1,240±0,144
FF	200	1,403±0,072
Allopurinol	10	0,307±0,026
OP+CMC	250	4,73±0,180
OP+FF	50	1,61±0,26
OP+FF	100	1,86±0,20
OP+FF	200	1,99±0,23
OP+Allopurinol	10	0,337±0,026

Annexe N°2 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines par la méthode de Bradford.



Abstract

The aim of the present study was to investigate the effects of the aqueous extract of *Fraxinus angustifolia* leaves on hyperuricemia and xanthine oxidoreductase in hyperuricemic and normal mice. Mice were intra-peritoneal given 250 mg/kg oxonate for three consecutive days to induce hyperuricemia and renal dysfunction. After 1h of oxonate induction daily, animals were orally treated with leaves aqueous extract of *Fraxinus angustifolia* at 50, 100, 200 mg/kg. This aqueous extract significantly ($P < 0,001$) decreased uric acid levels at 1.61, 1.86, 1.99 mg/dl, respectively, and inhibited XO/XDH activity at 21.83, 46.77%, respectively, at dose 200 mg/kg in hyperuricemic mice. In normal mice this extract decreased uric acid levels at 0.764, 1.240, 1.403 mg/dl, respectively, inhibited XO/XDH activity at 11.16 and 28.70%, respectively at dose 50 mg/kg. The effects of aqueous extract of *Fraxinus angustifolia* leaves on blood uric acid in hyperuricemic mice and the inhibition of enzymes activities in mouse liver are discussed in relation to its absorption, metabolism, and its potential application to treat gout and hyperuricemia.

Key-words: Xanthine oxidoreductase, Hyperuricemia, Uric acid, Gout, *Fraxinus angustifolia*.

Résumé

L'objectif de cette présente étude a été d'évaluer les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sur l'hyperuricémie et la xanthine oxydoréductase chez des souris normales et hyperuricémiques. L'oxonate est administré aux souris par voie intra péritonéale à 250 mg/kg successivement pendant trois jours, pour induire l'hyperuricémie et le dysfonctionnement rénal. Après 1h par induction journalière par l'oxonate, les animaux ont été oralement traités par l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* à des doses de 50, 100, 200 g/kg. Cette extrait aqueux réduit significativement les taux d'acide urique à 1.61, 1.86, 1.99 mg/dl, respectivement, et inhibe l'activité XO/XDH à 21.83% et 46.77, respectivement, à la dose de 200 mg/kg, chez les souris hyperuricémiques. Chez les souris normales le taux d'acide urique est de 0.764, 1.240. 1,403 mg/dl, respectivement, et l'inhibition de la XO/XDH est de 11.16 et 28.70, respectivement, à une dose de 50 mg/kg. L'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Fraxinus angustifolia* sur l'acide urique sanguin chez les souris hyperuricémiques et l'inhibition de l'activité de l'enzyme dans le foie des souris sont discutés par la relation de son absorption, métabolisme, et de son application potentielle pour traiter la goutte et l'hyperuricémie.

Mots-clés: Xanthine oxydoréductase, Hyperuricémie, Acide urique, La goutte, *Fraxinus angustifolia*.