

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira - Bejaia  
Département : Biologie Physico-chimique  
Domaine : Sciences de la Nature et de Vie

## *Mémoire de Master*

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

**Thème : Activités anti-hyperuricémique et anti-xanthine  
oxydoréductase *in vivo*, de l'extrait éthanolique de l'écorce de  
*Fraxinus angustifolia***

Réalisé par : *M<sup>R</sup>* BERRANI Massina et *M<sup>R</sup>* HAMAÏ Amazigh

### **Membres du jury :**

### **Grade et lieu**

<b>Président :</b>	<i>M<sup>elle</sup></i> Tahiri Ouahiba M.A.A (U.A.M.B)
<b>Promotrice :</b>	<i>M<sup>elle</sup></i> CHAHER Nassima M.A.A (U.A.M.B)
<b>Co-promotrice :</b>	<i>M<sup>me</sup></i> ATMANI Dina M.C.B (U.A.M.B)
<b>Examinatrice :</b>	<i>M<sup>me</sup></i> DEBBACHE Nadjet M.A.A (U.A.M.B)
<b>Examinatrice :</b>	<i>M<sup>me</sup></i> BOUDAOUH Hania M.A.A (U.A.M.B)

**Année universitaire 2012/2013**

# Remerciement

---

## **Remerciements**

Tout d'abord, nous tenons à remercier notre promotrice M<sup>elle</sup> CHAHER N. pour son soutien et ses précieux conseils et tout les soucis qu'elle se faisait à cause de nous.

Nos remerciements les plus profonds, et notre sincère gratitude vont à l'adresse de notre co-promotrice, Mme ATHMANI D. pour tous les efforts qu'elle a consentie et tout le mal qu'elle s'est donné pour nous.

Nous remercions également Mme TAHIRI O., Mme DEBBACHE N. ainsi que Mme BOUDAOUH H. de nous avoir fait l'honneur de constituer notre jury.

Un remerciement particulier et tout chaleureux pour M<sup>elle</sup> AYOUNI Karima pour son aide, ses conseils et les discussions animées au laboratoire ainsi qu'à Mme BERBOUCHA M. et M<sup>elle</sup> Cheraft N. qui nous ont assisté durant notre travail.

Nous remercions également Monsieur Bekdouche et saluons au passage la gentillesse et la simplicité avec laquelle il nous a accueilli et guidé dans notre analyse statistique.

Je ne manquerais pas de remercier tous les doctorants et techniciens du laboratoire de Biochimie particulièrement Kenza, Naïma et Ouahiba pour leur aide durant notre travail pratique et analyse statistique.

## Dédicaces

Avant toute chose, je tiens à m'incliner devant ma tendre mère, qui a sacrifié sa vie pour moi et mon frère.

Je dédie ce travail à la mémoire de mon défunt père qui disait souhaiter me voir de là où il est, réussir mes études, qu'Allah aie pitié de son âme l'accueille dans son vaste paradis.

Je tiens à remercier sur ce papier par ses petits mots, car je ne le remercierai jamais assez, mon oncle IDIR et vava Tahar, sans qui je ne serais pas là où j'en suis.

Sans oublier ma famille, à commencer par ma grand-mère, AMEL et ses filles, mon frère YOUYOU, mes tantes.

Grosse dédicace à mon binome Amazigh pour l'effort qu'il a fourni notamment par son aller-retour quotidien de 50 Kms durant toute la durée de notre travail, ce que je ne suis pas sûr de pouvoir faire.

Enfin, je tiens à saluer tout mes amis Sofiane et Sofiane, Samir et Samir CR7, Ainsi que toute la CLIC du café le paon sans oublier mes camarades de l'association écologique IFRIGREEN.

Je ne peux clôturer ces dédicaces sans citer tout mes camarades avec qui j'ai passé des moments inoubliables (au passage j'adore les oignons) Ainsi grand coucou à Hamza (3eynine Iminouche) Leila défavorable, Selma et ses sandwiches, Faty, Ghania, Kahina, Athmane et l'exceptionnel Massinissa.

Massina

## Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures .....	III
Liste des tableaux .....	V
Corps du texte .....	VI

## Corps du texte

Introduction .....	01
--------------------	----

### Recherche bibliographique Partie I – Les composés phénoliques

I .1. Généralités sur les polyphénols .....	02
I .2. Synthèse des polyphénols .....	02
I .2.1. Voie de l'acide shikimique .....	02
I .2.2. Voie des polyacétates .....	02
I .3. Classification des composés phénoliques .....	02
I .3.1. Les acides phénoliques .....	03
I .3.2. Les coumarines .....	04
I .3.2. Les flavonoïdes .....	04
I .3.3. Les tannins .....	06
I.3.3.1. Les tannins hydrolysables .....	06
I.3.3.2. Les tannins condensés .....	06
I .4. Rôles physiologiques des polyphénols .....	06

### Partie II : Xanthine oxydoréductase et l'hyperuricémie

II .1. Origine de l'acide urique .....	07
II .1.1. Purine alimentaire .....	07
II .1.2. Métabolisme des acides nucléiques cellulaires.....	07
II .1.3. Purinosynthèse de <i>novo</i> .....	08
II .2. Rôle de la xanthine oxydoréductase dans l'hyperuricémie.....	09
II .2.1. Définition et structure la xanthine oxydoréductase (XOR).....	09
II .2.2. La conversion de la XDH en XO .....	10
II .2.3. Distribution de la XOR .....	10
II .2.4. Mécanisme d'action de la XOR .....	12
II .2.5. Rôles physiologiques de la XOR .....	12

II .3. Hyperuricémie .....	13
II .3.1. Elimination de l'acide urique .....	13
II .3.2. Facteurs influents sur l'uricémie .....	15
II .3.3. Pathologies et syndromes liés à l'hyperuricémie .....	18
II .4. Traitements de l'hyperuricémie .....	19
II .4.1. Médicaments hypouricémiants .....	19
II .4.2. Les inhibiteurs naturels de la XOR .....	21

## Travail expérimental

### Partie III – Etude de l'activité biologique

III .1. Matériel végétal .....	24
III .1.1. Présentation du genre <i>Fraxinus</i> .....	24
III .1.2. Origine du nom .....	24
III .1.3. Présentation de l'espèce <i>Fraxinus angustifolia</i> .....	24
III .1.4. Taxonomie de l'espèce .....	25
III .1.5. Classification botanique de l'espèce .....	25
III .1.6. Les noms vernaculaires .....	26
III .1.7. Composition phytochimique .....	26
III .1.8. Intérêt pharmacologique .....	26
III .2. Préparation de l'extrait .....	27
III .2.1. Récolte du matériel végétal .....	27
III .2.2. Séchage, broyage et tamisage .....	27
III .2.3. Extraction .....	28
III .3. Préparation des substances .....	29
III .4. Modèle de l'hyperuricémie .....	29
III .5. Réalisation du test expérimental .....	29
III .5.1. Animaux et conditions d'élevage .....	29
III .5.2. Répartition des souris en plusieurs groupes .....	30
III .5.3. Test expérimental .....	30
III .5.4. Récupération du sang .....	31
III .5.5. Récupération des foies .....	31
III .6. Analyse statistique .....	34

### Partie IV – Résultats et discussion

IV. Résultats et discussions .....	35
IV .1. Résultats .....	35
IV .2. Discussions .....	40
Conclusion .....	46
Annexes	

## Liste des abréviations

**ABC** : ATP-binding cassette

**AMP** : adénosine monophosphate

**ARNm** : Acide ribonucléique messenger

**ATP** : Adénosine triphosphate

**BSA** : Bovine serum albumin

**CAPE** : L'acide caféique phenethyl ester

**CMC** : Carboxymethylcellulose

**EC** : Enzyme commission

**FAD**: Flavin adenine dinucleotide

**FSH**: hormone folliculo-stimulante

**GMP** : guanosine monophosphate

**HGPT** : Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase

**IC50** : Concentration inhibitrice 50%

**IMP** : inosine monophosphate

**IRC** : Insuffisance rénale chronique

**KCl** : Chlorure de potassium

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NOS** : Nitroxyle synthase

**NPT** : Cotransporteurs sodium/phosphate

**PNP** : phosphorylase des nucléosides puriniques

**p/v** : poids/ volume

**PRPP** : 5-phosphosribosyl-1-pyrophosphate

**SD**: Standard deviation

**SEM** : Standard error of mean

**SLC** : Solute Locus Carrier

**Ssp** : Sous-espèce

**TAO** : Transporteurs des anions organiques

**TMCS** : Transporteurs de monocarboxylate couplés au sodium

**UMS** : Urate mono-sodique

**URAT** : Transporteur anionique de l'urate

**UMOD** : Uromoduline

**XDH** : Xanthine déshydrogénase

**XMP** : Xanthine monophosphate

**XO** : Xanthine oxydase

**XOR** : Xanthine oxydoréductase



## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Les différents composés de polyphénols .....	03
<b>Figure 02:</b> Structure générale des flavonoïdes .....	05
<b>Figure 03 :</b> Structures chimiques des tannins .....	06
<b>Figure 04 :</b> Structure chimique de l'acide urique ( <b>A</b> ) et de l'urate monosodique ( <b>B</b> ) .....	07
<b>Figure 05 :</b> Origine de l'acide urique .....	08
<b>Figure 06:</b> Structure de la XOR. ( <b>A</b> ) Les positions des résidus les plus importants. ( <b>B</b> ) Représentation de la surface moléculaire du site actif de la XDH .....	09
<b>Figure 07:</b> Les résidus importants et la boucle verte du site actif qui se déplace au cours de la conversion de la XDH ( <b>A</b> ) en XO ( <b>B</b> ) .....	10
<b>Figure 08:</b> Processus enzymatique catalysé par la XO et la XDH .....	11
<b>Figure 09 :</b> Schéma de l'élimination rénale .....	14
<b>Figure 10 :</b> Substrats puriniques de la XOR .....	18
<b>Figure 11 :</b> Analogues aux substrats puriniques de la XOR .....	18
<b>Figure 12:</b> Structure chimique du febuxostat .....	19
<b>Figure 13 :</b> Molécules cibles du febuxostat (XO). les flèches pointées indiquent qu'il n'a pas d'effet sur la phosphorylase des nucléosides puriniques (PNP, EC 2.4.2.1) et la HGPT contrairement à l'allopurinol et ses métabolites .....	20
<b>Figure 14:</b> (A) Arbre et (B) écorce de <i>Fraxinus angustifolia</i> .....	27
<b>Figure 15 :</b> Schéma récapitulatif des étapes d'extraction éthanolique de la poudre de l'écorce de <i>Fraxinus angustifolia</i> .....	28
<b>Figure 16:</b> Injection intra-péritonéale .....	29

**Figure 17** : Administration par gavage ..... 30

**Figure 18** : Schéma récapitulatif des différentes étapes de préparation de l'homogénat du foie ..... 32

**Figure 19** : Protocol expérimental du test d'activité de la XO/XDH selon la méthode de Prajda et weber .....33

**Figure 20** : Schéma récapitulatif des différentes étapes du dosage des protéines de l'homogénat ..... 34

**Figure 21** : Représentation de la concentration de l'acide urique sérique chez des souris normales ..... 36

**Figure 22** : Représentation de la concentration de l'acide urique sérique chez des souris hyperuricémiques ..... 38

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Structures chimiques de quelques acides phénoliques .....	04
<b>Tableau II :</b> Structures chimiques des principales coumarines .....	04
<b>Tableau III :</b> Les différentes classes de flavonoïdes .....	05
<b>Tableau IV :</b> Transporteurs rénaux impliqués dans l'hyperuricémie .....	15
<b>Tableau V :</b> Propriétés d'inhibition de quelques composés phénoliques .....	23
<b>Tableau VI :</b> Noms vernaculaires de <i>Fraxinus angustifolia</i> .....	26
<b>Tableau VII :</b> Comparaison des effets de l'administration orale de l'extrait éthanolique de l'écorce <i>Fraxinus angustifolia</i> à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et de l'allopurinol (10mg/kg), sur l'uricémie chez des souris normales après trois jours de traitement .....	35
<b>Tableau VIII :</b> Comparaison des effets de l'administration orale de l'extrait éthanolique de l'écorce <i>Fraxinus angustifolia</i> à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et de l'allopurinol (10mg/kg) sur l'uricémie, induite par l'oxonate de potassium après trois jours de traitement .....	36
<b>Tableau IX :</b> Effets de l'administration orale de l'extrait l'éthanolique de l'écorce <i>Fraxinus angustifolia</i> à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10 mg/kg), sur l'activité de la XO/XDH hépatique chez des souris normales .....	39
<b>Tableau X:</b> Effets de l'administration orale de l'extrait l'éthanolique de l'écorce <i>Fraxinus angustifolia</i> à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10 mg/kg), sur l'activité de la XO/XDH hépatique chez des souris hyperuricémiques.....	40

## Introduction

L'hyperuricémie est l'augmentation du taux d'acide urique dans le sérum sanguin, elle est présente dans 5 à 30 % de la population générale et représente un facteur de risque de développement de plusieurs pathologies, telles que la goutte. Le control des taux d'acide urique devient, donc, une nécessité pour prévenir ces maladies (**Arnaud et al., 1992**).

L'une des enzymes clé de ce mécanisme de régulation du taux d'urate est la xanthine oxydoréductase (XOR, EC 1.2.3.2) hépatique, elle est présente sous deux formes : la xanthine déshydrogénase (XDH, EC1.1.1.204) qui est la forme physiologique et la xanthine oxydase (XO, EC 1.1.3.22), résultat de la conversion de la xanthine déshydrogénase dans les cas pathologiques. L'urate oxydase (uricase EC:1.7.3.3) est une autre enzyme, tout aussi importante, qui métabolise l'acide urique en allantoiné (**Briggs et al., 1977**). Seulement, cette enzyme a été perdue chez l'homme au cours du Miocène par deux mutations parallèles inactivatrices du gène codant pour cette enzyme hépatique (**Wu et al., 1992**). Les mutations parallèles suggèrent que l'inactivation du gène de l'uricase était sélectivement avantageuse pour les premiers hominidés, probablement en raison de l'activité anti-oxydante de l'acide urique compensant la carence en vitamine C (capacité de biosynthèse perdue plus tôt dans l'évolution), en plus de son effet adjuvant. L'urate pourrait également avoir un rôle, d'une part de maintien d'une tension artérielle élevée, et d'autre part de signal d'alarme ou de danger pour l'organisme dans des conditions de stress ou de privation de nourriture (**Merriman et Dalbeth, 2010; Ea, 2011**).

L'allopurinol est le médicament le plus utilisé au monde dans l'application clinique comme agent d'abaissement du taux d'urate. Toutefois, certains effets indésirables tels que des réactions allergiques ont conduit à limiter l'utilisation clinique d'allopurinol et lui préférer les plantes médicinales (**Richette, 2011**).

*Fraxinus angustifolia* est une plante réputée pour ses utilisations en phytothérapie. En Kabylie par exemple, elle était autrefois utilisée pour traiter les maladies rénales ainsi que pour le massage des articulations. La présente étude a pour but de démontrer que l'extrait de l'écorce de *Fraxinus angustifolia*, riche en composés phénoliques, pourrait abaisser le taux d'acide urique chez des animaux de laboratoire, et constituer ainsi une alternative thérapeutique pour l'allopurinol, ou lui être associé pour le traitement de l'hyperuricémie.

### I .1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux en réponse au stress ou afin de se protéger des prédateurs et pathogènes. Dans l'organisme humain, les polyphénols, grâce à leurs activités antioxydantes, sont capables d'inhiber les enzymes pro-oxydantes puissantes, et permettent ainsi de retarder l'apparition de plusieurs maladies chroniques notamment les maladies hépatotoxiques, inflammatoires et même neuronales (**Martin, 2013; Yang, 2013**).

### I .2. Synthèse des polyphénols

Ils sont synthétisés à partir de métabolites primaires via deux voies : la voie de l'acide shikimique et la voie polyacétate :

#### I .2.1. Voie de l'acide shikimique

C'est la voie la plus courante, elle est favorisée par des oses qui sont : l'érythrose-4-phosphate issu de la voie des pentoses phosphates et phosphoénolpyruvate, un produit de la glycolyse (**Scalbert, 2006**). La voie shikimate se différencie en deux branches : la première aboutit à la formation de la tyrosine et la phénylalanine, l'autre donne comme produit final le tryptophane, qui est le précurseur des autres acides aminés (**Bruneton, 2009**).

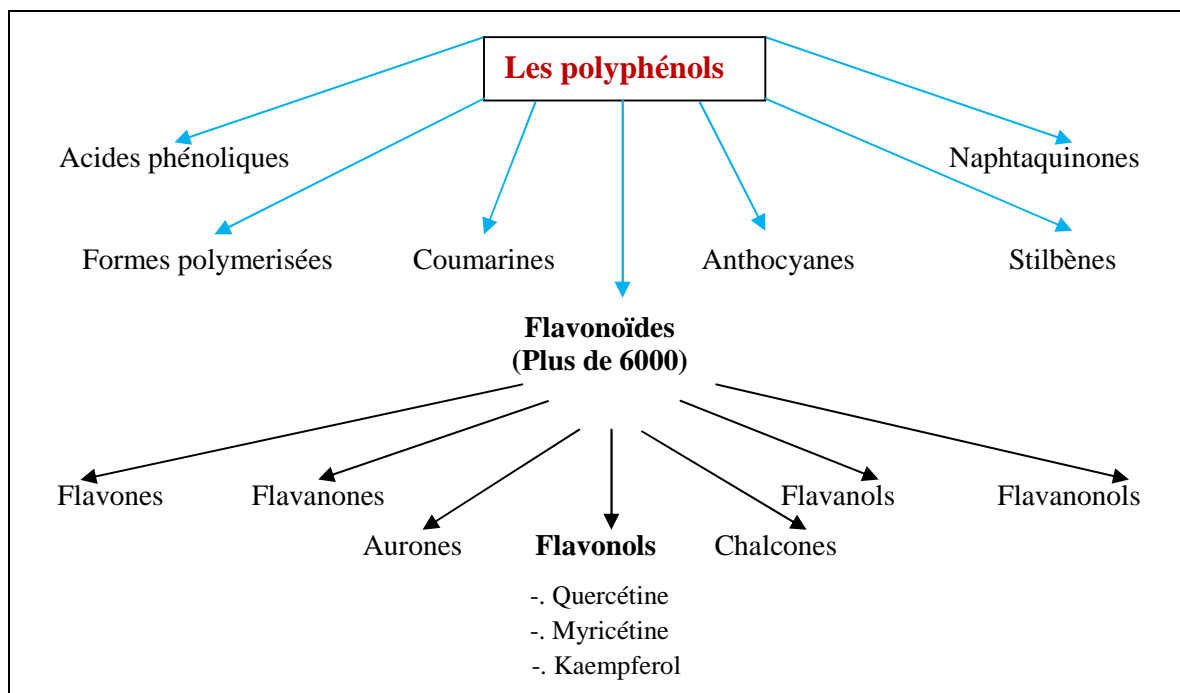
#### I .2.2. Voie des polyacétates

Cette voie consiste à synthétiser, en plus du noyau benzénique, un ensemble de noyaux aromatiques à chaînes poly-B coesters de longueur variables. Les polyacétates engendrent des composés souvent polycycliques : chromons, quinones et xanthones. Certains présentent une pluralité structurale due à cette double origine biosynthétique pour l'élaboration des flavonoïdes (**Bruneton, 2009**).

Une classification de ces substances a été proposée par **Harborne (1989)** et **Macheix et al. (1990)**.

### I .3. Classification des composés phénoliques

On peut distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base. La figure 1 résume les différentes classes de polyphénols.



**Figure 01:** Différentes classes des polyphénols (Sarni-Manchado, 2006, modifié).

Les trois classes les plus répandues sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins qui constituent à eux seuls un groupe de polyphénols sous forme de polymères (Beta et al., 2005 ; Burgos et al., 2013). Pour ce qui est des coumarines, naphtaquinones et anthocyanes, ce sont des composés rares, mais qui demeurent tout autant essentiels que les précédents.

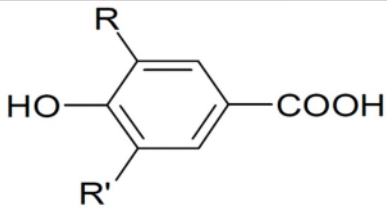
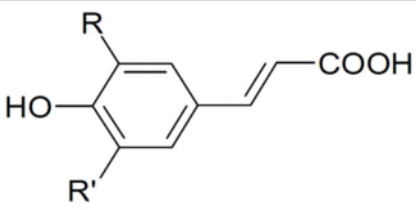
### I .3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques représentent un groupe de substances communes à toutes les plantes et qui sont principalement biosynthétisées par la voie shikimique (Leòn-Gonzalez et al., 2013). Deux sous-groupes peuvent être distingués :

Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque, tels que les acides : éllagique, gallique et salicylique (Hale 2003 ; Leòn-Gonzalez et al., 2013).

Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique et l'acide férulique (Hale 2003 ; Bruneton, 2009). Le tableau I est une représentation des structures chimiques des acides phénoliques.

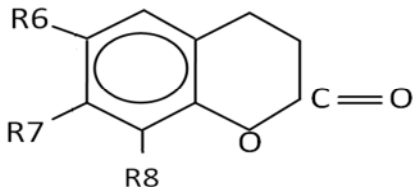
**Tableau I :** Structures chimiques de quelques acides phénoliques (Pereira et al., 2009).

Les acides phénoliques		
Type	Dérivés de l'acide benzoïque	Dérivés de l'acide cinnamique
Structure		
Substitution	$R = R' = H$ ; acide p-hydroxybenzoïque	$R = R' = H$ ; acide p-coumarique
	$R = R' = OCH_3$ ; acide syringique	$R = OH, R' = H$ ; acide caffeique
	$R = OCH_3, R' = H$ ; acide vanillique	$R = OCH_3, R' = H$ ; acide férulique
	$R = R' = OH$ ; acide gallique	$R = R' = OCH_3$ ; acide sinapique

### I .3.2. Les coumarines

Les coumarines, sont des substances odorantes, extraites pour la première fois de la fève tonka. Une coumarine issue de la lactonisation de l'acide dihydroxycinnamique, en l'occurrence l'ombeliférone, est le précurseur principal des autres coumarines (Tableau II). Ces derniers portent souvent un oxygène dans l'hétérocycle benzopyrannique et présentent des activités biologiques vitaminiques, antimicrobiennes et analgésiques (Cowan, 1999 ; Gacche, 2013; Petruľ'ová-Poracká, 2013).

**Tableau II :** Structures chimiques des principaux coumarines (Macheix et al, 2005).

Structure de base	$R_6$	$R_7$	$R_8$	Coumarines
	H	OH	H	Ombeliférone
	OH	OH	H	esculétol
	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	Scopolétol
	OCH <sub>3</sub>	H	OH	Fraxétol

### I .3.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne tricarboné (Figure 02) (Erlund, 2004). Selon les particularités structurales les flavonoïdes peuvent être divisés en 07 groupes (Tableau III).

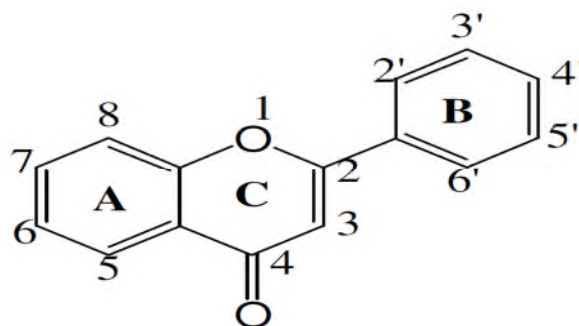


Figure 02: Structure générale des flavonoïdes (Tapas et al., 2008).

Tableau III: Les différentes classes de flavonoïdes (Tapas et al., 2008).

Group	3	5	6	7	8	3'	4'	5'	C <sub>2</sub> =C <sub>3</sub>
<b>Flavones</b>									
Apigenin	H	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Diosmin	H	OH	H	Oru	H	OH	OH	H	+
Luteolin	H	OH	H	OH	H	OH	OH	H	+
<b>Flavonol</b>									
Quercetin	OH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	+
Kaempferol	OH	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Galangin	OH	OH	H	OH	H	H	H	H	+
Fisetin	OH	H	H	OH	H	OH	OH	H	+
Myricetin	OH	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	+
Vitexicarpin	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	+
<b>Flavanone</b>									
Naringenin	H	OH	H	OH	H	H	OH	H	-
Eriodictyol	H	OH	OH	OH	H	OH	OH	H	-
Pinocembrin	H	OH	H	OH	H	H	H	H	-
Liquiritigenin	H	H	H	OH	H	H	OH	H	-
<b>Flavanonol</b>									
Taxifolin	H	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
<b>Isoflavone</b>									
Genistein	-	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Tectorigenin	-	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OH	H	+
Daidzein	-	H	H	OH	H	H	OH	H	+
Formononetin	-	H	H	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	+
<b>Flavan-3-ols</b>									
(+) Catechin	βOH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
(-) Epicatechin	αOH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
(-) Epigallocatechin	αOH	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	-
<b>Flavylium Salts</b>									
Cyanidin	OH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
Pelargonidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	H	-

Les flavonoïdes appartenant à la classe des flavonols, sont représentés essentiellement par la quercétine et le kaempferol, qui sont largement répandus dans les écorces végétales (Jakupovic et al., 1988).

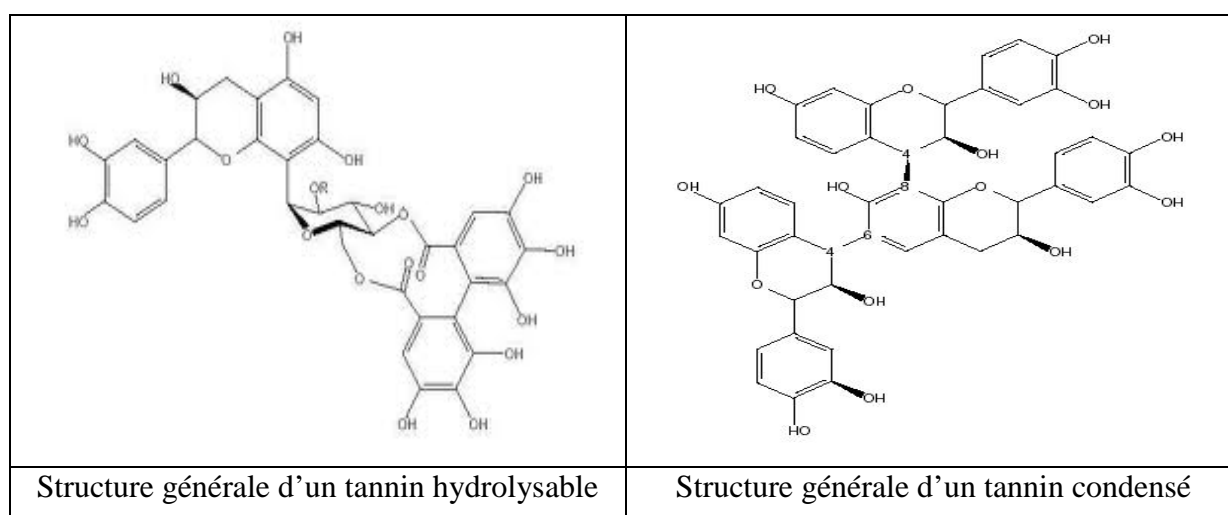


### I .3.4. Les tannins

Les tanins sont des métabolites secondaires communs des plantes vasculaires se trouvant principalement dans les feuilles, bourgeons, grains, racines (**Romani et al, 2012**). En se basant sur leurs caractéristiques structurales, les tanins sont classés en deux groupes bien distincts :

**I .3.4.1. Les tannins hydrolysables** : sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose (Tableau IV) (**Bruneton 1993 ; Arapitsas, 2012**).

**I .3.4.2. Les tannins condensés** : ce sont des composés phénoliques hétérogènes qui se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavonoïdes (flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols) (Tableau III) (**Romani et al, 2012**).



**Figure 03** : Structures chimiques des tannins (**Khanbabaee et van Ree, 2001**).

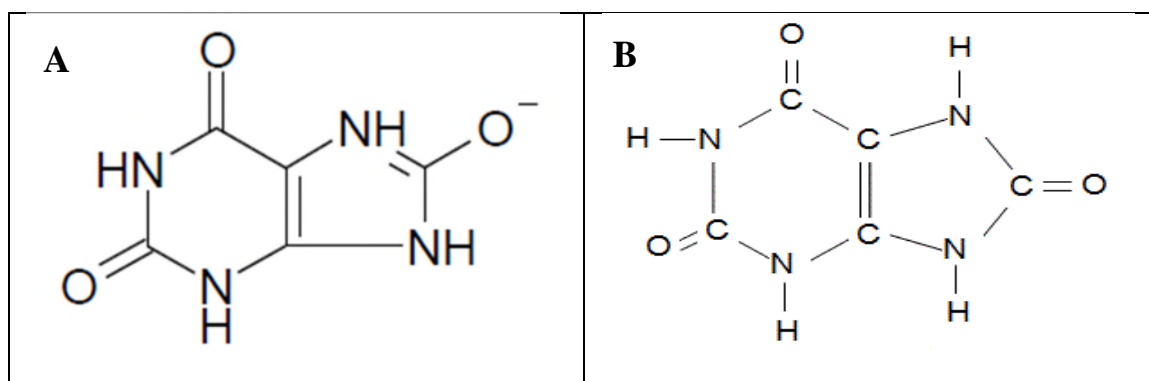
### I .4. Rôles physiologiques des polyphénols

Les composés phénoliques possèdent plusieurs propriétés physiologiques telles que les activités anti-diabétiques, anti-athérogéniques, et surtout cardioprotectrices (**Tapas et al., 2008**). En plus de leur effet hépatoprotecteur, la myricétine et la quercétine ont le pouvoir de réduire l'oxydation des purines et des pyrimidines (**Delgado et al., 2008**). Les polyphénols sont aussi responsables d'activités anti-oxydante et anti-hyperuricémique des plantes, du fait de leur capacité à inhiber les enzymes pro-oxydantes, comme la cyclooxygénase, la lipooxygénase et plus particulièrement la xanthine oxydase.

L'hyperuricémie est l'augmentation de la concentration plasmatique de l'acide urique au-delà d'une valeur normale (Kamatani *et al.*, 2007).

## II .1. Origine de l'acide urique

L'acide urique est un antioxydant hydrosoluble dont la formule chimique est  $C_5N_4O_3H_4$  (figure 04; A), il est très peu soluble dans l'eau alors que dans le sang il existe à 98 % sous forme plus soluble : l'urate monosodique  $UH_2^-$  (figure 04; B) (So et Thorens, 2010).



**Figure 04** : Structures chimique de l'acide urique (A) (Anthony *et al.*, 2012, modifiée) et de l'urate monosodique (B) (Ea, 2011).

L'acide urique provient de trois sources (figure 05) :

### II .1.1 Purines alimentaires

Les purines alimentaires ingérées sous forme de nucléoprotéines, vont subir une série de dégradations, en nucléotides puis en mononucléotides et enfin en bases pyrimidiques et puriques libres. Ce sont ces dernières qui seront transformées en acide urique par l'action d'une adénine désaminase qui transforme l'adénine en hypoxanthine qui est, à son tour, transformée en xanthine puis en acide urique par la xanthine oxydoréductase (Pruna et Daudon, 2008). Une autre enzyme, la guanase, transforme la guanine en xanthine qui est oxydée en acide urique (annexe I) (Arnaud *et al.*, 1992).

### II .1.2 Métabolisme des acides nucléiques cellulaires

Les acides nucléiques des cellules mortes sont catabolisés par la machinerie enzymatique cellulaire en nucléotides, nucléosides et bases libres. Ces dernières seront réutilisées dans le renouvellement des acides nucléiques pour les cellules en formation. Seulement, une partie des bases puriques sera dégradée en acide urique dans le foie (Arnaud *et al.*, 1992).

### II .1.3 Purinosynthèse de *novo*

C'est la synthèse de composés puriniques à partir de diverses molécules non-puriniques. Elle s'effectue principalement dans le cytoplasme des cellules hépatiques, et constitue la source la plus importante d'acide urique. Les produits finaux : adénosine monophosphate (AMP) et guanosine monophosphate (GMP) exercent une rétro-inhibition des étapes initiales permettant le control de la purinosynthèse (**Arnaud et al., 1992 ; Vassault, 2007 ; Ea, 2011**).

La purinosynthèse commence par la fixation d'un groupement pyrophosphate, libéré de l'Adénosine triphosphate (ATP), sur un ribose-5-phosphate issu de la voie des pentoses pour former le 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP) sous l'action d'une PRPP synthétase (EC : 2.7.6.1) (**Kamatani et al., 2007**).

Le PRPP est transformé en phosphoribosylamine puis en acide inosinique, autrement appelé inosine monophosphate (IMP). Celui-ci est le précurseur de la formation de l'acide adénylique (AMP) et guanylique (GMP) en passant par l'acide xanthylique (XMP). Une partie des nucléotides puriniques entre dans la voie de sauvetage de la purinosynthèse de *novo*, durant laquelle :

La dégradation de l'acide xanthylique et guanylique aboutit à la formation de la xanthine, tandis que celle de l'acide inosinique et adénylique à l'hypoxanthine (**Arnaud et al., 1992; Ea, 2011**).

La figure 5 résume les voies de synthèse de l'acide urique.

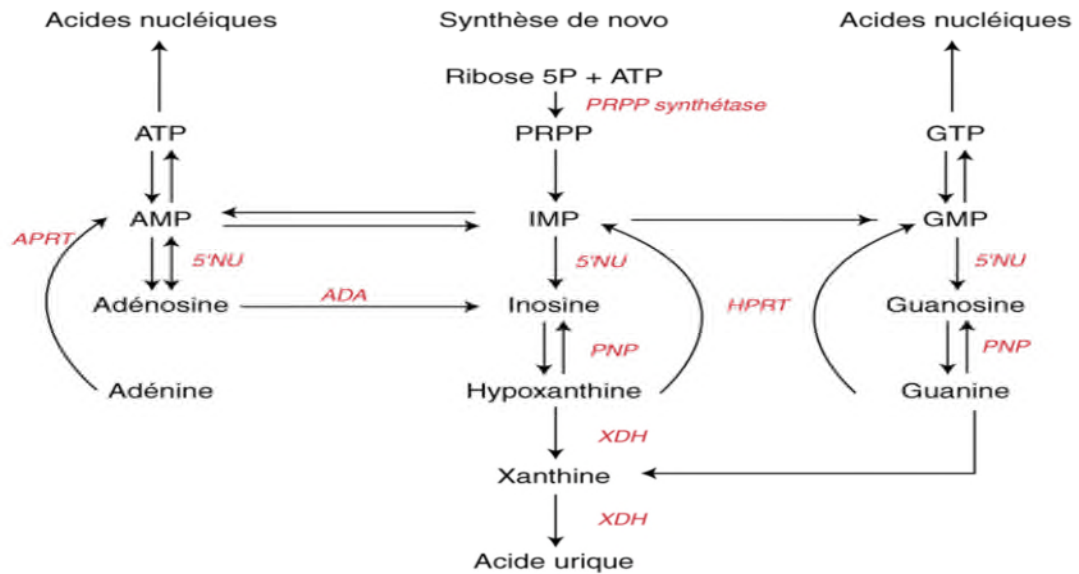


Figure 05 : Origine de l'acide urique (Vassault, 2007).

## II .2. Rôle de la xanthine oxydoréductase dans l'hyperuricémie

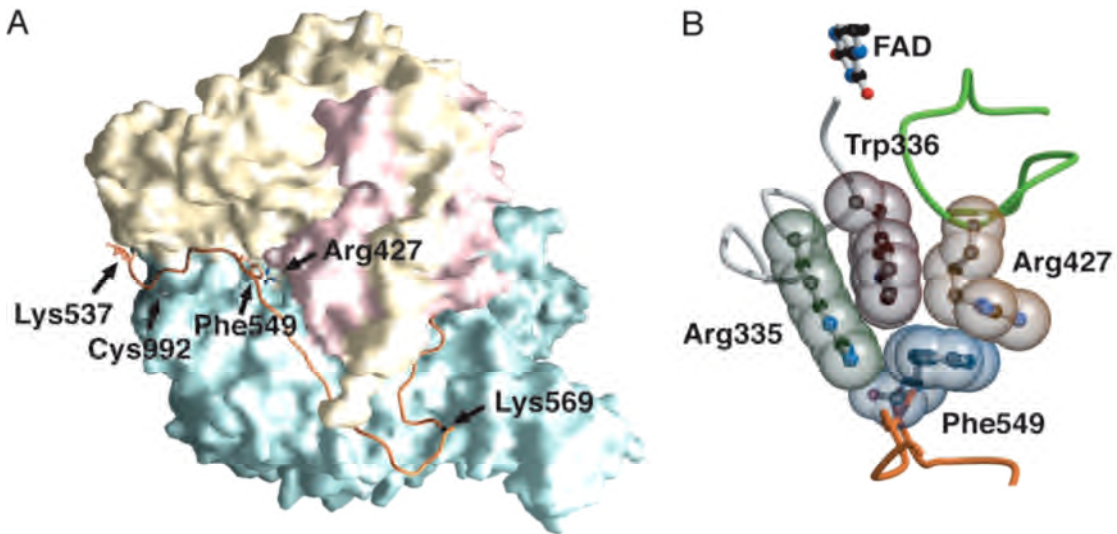
### II .2.1 Définition et structure de la xanthine oxydoréductase (XOR)

Découverte en 1902 dans le lait bovin par Schardinger, la xanthine oxydoréductase est définie comme un complexe molybdoflavoenzyme de poids moléculaire d'environ 300,000 Da dissociable en deux sous-unités de 150,000 Da (Stirpe et Della Corte, 1968; Yu, 2012).

La xanthine désydrégénase qui prédomine *in vivo*, ainsi que la xanthine oxydase sont deux formes interconvertibles de la XOR (Bo S. Kim, 2013), et chacune des deux formes utilise un accepteur d'électrons différent. En effet, la forme XDH réduit le nicotinamide adénine dinucléotide ( $NAD^+$ ), alors que la XO a tendance à réduire l'oxygène ( $O_2$ ) (Haidari et al, 2011; Miric, 2012).

La séquence de la XOR humaine renferme 1333 acides aminés et présente une homologie de 91% avec celle de la souris et du rat (Berry et Hare, 2004).

Chaque sous-unité est organisée en trois domaines (figure 06): le domaine N-terminal de 20 kDa qui contient deux centres fer/soufre ( $Fe_2/S_2$ ) (en rose), le domaine central FAD (en bleu) de 40 kDa et le domaine C-terminal de 85 kDa avec un centre molybdoptérine (Mo-pt; en jaune) (Kuwabara et al., 2003; Berry et Hare, 2004; Cantu-Medellin et Kelley, 2013).



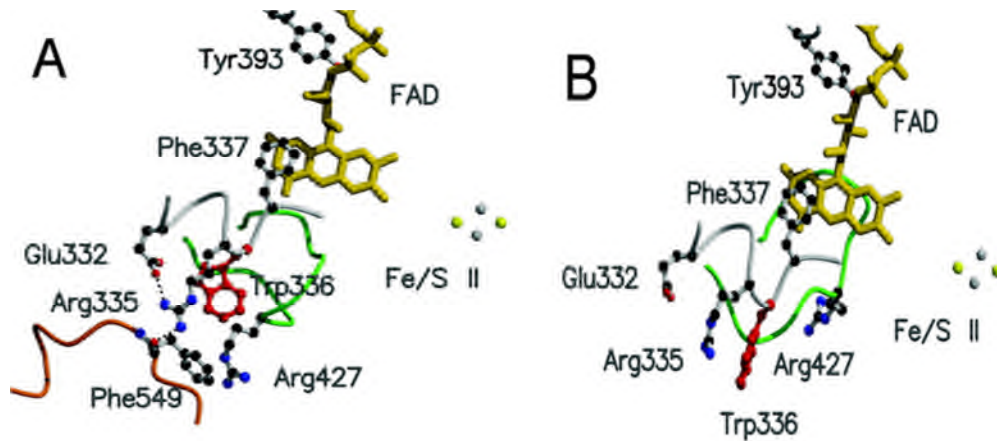
**Figure 06:** Structure de la XOR. (A) Les positions des résidus les plus importants. (B) Représentation de la surface moléculaire du site actif de la XDH (Kuwabara *et al.*, 2003).

## II .2.2 La conversion de la XDH en XO

La XDH est irréversiblement transformée en XO par un traitement aux protéases comme la trypsine (figure 07), la chymotrypsine ou encore la pancréatine, qui provoquent une modification sur les acides aminés : Arg 427, Arg 335, Trp 336 et Phe 549 (situé sur le segment de liaison reliant les domaines Mo-pt et FAD (Kuwabara *et al.*, 2003).

Ainsi, la dissociation de Phe 549 et l'Arg 427, et la rupture de la liaison Van der Waals reliant le Trp 336 aux deux autres acides aminés change la structure du site actif FAD (flavin adenine dinucleotide) qui devient inaccessible au  $\text{NAD}^+$ , mais qui se rapproche de l' $\text{O}_2$  (Kuwabara *et al.*, 2003 ;Berry et Hare, 2004; Miric, 2012).

Cependant, dans des conditions inflammatoires ou de protéolyse limitée, une oxydation réversible des groupements thiols des cystéines (535 et 992) convertit la XDH en XO (Miric, 2012; Cantu-Medellin et Kelley, 2013).



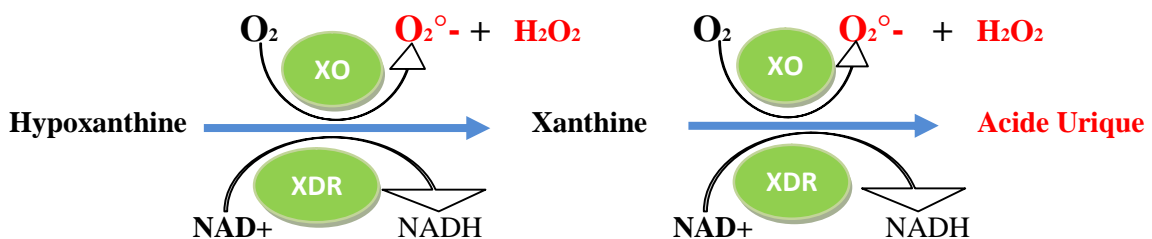
**Figure 07:** Les résidus importants et la boucle verte du site actif qui se déplace au cours de la conversion de la XDH (A) en XO (B) (Kuwabara *et al.*, 2003).

### II .2.3 Distribution de la XOR

La xanthine oxydoréductase est retrouvée chez les bactéries, les animaux et l'homme. Dans les tissus humains, la XOR est retrouvée le plus souvent dans l'intestin grêle, le cytoplasme du foie, le sang, le cerveau, le cœur, et les sécrétions mammaires, où, d'ailleurs, l'enzyme est liée aux membranes, mais elle est aussi très abondante dans le lait de tous les mammifères testés à ce jour (Camille, 1993; Pacher *et al.*, 2006; Silanikove, 2007).

### II .2.4 Mécanisme d'action de la XOR

L'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine se fait selon le schéma suivant :



**Figure 08:** Processus enzymatique catalysé par la XO et la XDR (Yamamoto *et al.*, 2005, modifiée).

Le mécanisme réactionnel de la XOR consiste en deux demi-réactions (oxydation et de réduction) (annexe III) (Olson *et al.*, 1974). La demi-réaction de réduction se passe au niveau du centre Mo-pt où la xanthine cède deux électrons, de façon à ce qu'un hydrogène soit transféré au site Mo-VI oxydé pour le réduire en Mo-IV (Hille *et al.*, 2011). En parallèle, un

groupement hydroxyle se fixe sur le C<sub>8</sub> de la xanthine pour former l'acide urique. (Murray et al., 1966).

La demi-réaction d'oxydation se passe au niveau du site FAD, où un transfert d'électrons entre les sites Mo et FAD est assuré par le centre Fe<sub>2</sub>/S<sub>2</sub> afin de réoxyder le Mo<sup>IV</sup> en Mo<sup>VI</sup>, suivi d'une réduction du FAD en FADH<sub>2</sub> et enfin la libération du produit (acide urique) (Hille et Nishino, 1995).

Lorsque la demi-réaction d'oxydation est catalysée par la XDH, l'accepteur d'électrons le NAD<sup>+</sup>, va subir la réduction bivalente par les deux électrons du FADH<sub>2</sub>. En revanche, si la demi-réaction d'oxydation est catalysée par la XO le substrat oxydant est l'O<sub>2</sub>, c'est donc lui qui sera réduit, soit d'une manière univalente pour donner l'O<sub>2</sub><sup>•</sup> ou bivalente pour former l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hille et Nishino, 1995; Berry et Hare, 2004).

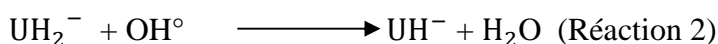
Le radical nitroxyde (NO<sup>•</sup>) est normalement produit par la NO synthase (NOS), mais dans les conditions hypoxiques, cette enzyme ne peut pas le produire (Berry et Hare, 2004). La XOR joue donc le rôle de la NOS, en présence de nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et d'un substrat réducteur (Xanthine ou NADH), et le NO<sup>•</sup> est formé au niveau du site Mo. Ensuite, le site FAD catalyse la production de l'O<sub>2</sub><sup>•</sup> en présence de l'oxygène moléculaire. Le superoxyde produit se combine avec le NO<sup>•</sup> pour former le peroxyde nitrite (ONOO<sup>-</sup>), qui est une espèce oxydante non radicalaire extrêmement toxique (Harrison, 2002 ; Cantu-Medellin et Kelley, 2013).

## II .2.5 Rôles physiologiques de la XOR

En dépit de la forte documentation de l'enzymologie de la XOR, son rôle physiologique reste mal connu (Harrison, 2002). Selon Vorbach et ses collaborateurs, la XOR joue un rôle primordial dans le catabolisme des purines en acide urique, mais elle a aussi d'autres fonctions plus larges dans la physiologie de l'organisme tel que son rôle dans l'absorption du Fer au niveau du foie et de l'intestin (Vorbach et al., 2003).

La XOR du lait humain et bovin exerce des effets antimicrobiens. *In vitro*, elle inhibe la croissance bactérienne d'une manière nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)-dépendante au niveau du tractus gastro-intestinal et la glande mammaire, suggérant l'implication du NO<sup>•</sup> et du ONOO<sup>-</sup> (Hancock, 2002; Martin et al., 2004; Harrison, 2006). *In vivo*, les nourrissons ayant reçu du lait maternel riche en XOR ont moins de risques de développer des gastroentérites que ceux ayant reçu la formule infantile (Stevens et al., 2000).

En 1981, **Ames et al. (1981)** ont montré le rôle d'un des produits de la XOR, en l'occurrence l'acide urique, dans la réduction des radicaux peroxydes (réaction 1). Le même effet est observé sur les radicaux hydroxyles (réaction 2), ainsi que ceux du monoxyde et dioxyde d'azote (réactions 3 et 4) (**Simic et Jovanovic, 1989**). Des scientifiques ont également démontré la capacité de l'acide urique à empêcher l'oxydation lipidique (**Patterson et al., 2003**).



Ainsi, les fonctions physiologiques de l'acide urique vont au-delà d'un simple marqueur de catabolisme des purines, ses propriétés réductrices lui permettant une forte implication dans les systèmes antiradicalaires, avec 60% de la capacité antioxydante du plasma apportée par l'urate (**Whitehead et al., 1992**) en plus de son rôle de chélateur de métaux (**Glantzounis et al., 2005**) et son effet protecteur des troubles neuro-dégénératifs comme le Parkinson (**Congcong et al., 2012**).

### II .3. Hyperuricémie

On appelle pool miscible de l'acide urique la quantité d'acide urique échangeable dans l'organisme. Il résulte d'un équilibre entre le taux d'acide urique apporté par l'alimentation ou formé de façon endogène et son élimination rénale et digestive (**Ea, 2011**). Ce pool miscible est chez l'homme normal, d'environ 1 200 mg (de 541 à 1 650 mg pour les deux sexes, soit 11 à 20,3 mg par kg) (**Arnaud et al., 1992**).

#### II .3.1 Élimination de l'acide urique

##### II .3.1.1 Uricolyse intestinale :

L'uricolyse intestinale concerne le tiers d'acide urique qui entre dans l'intestin avec les sécrétions digestives où les bactéries coliques du tube digestif possédant l'uricase permettent de transformer l'acide urique en allantoiné est éliminé dans les matières fécales. L'uricolyse peut aussi se faire dans les leucocytes qui possèdent une peroxydase capable de dégrader l'acide urique (**Arnaud et al., 1992; Ea, 2011**).



### II .1.b Elimination rénale

Le métabolisme rénal est la principale voie d'élimination de l'acide urique qui est ainsi éliminé dans les urines sous forme libre, peu soluble et sous forme de sel soluble. Les proportions de ces deux formes, libre ou salifiée, dépendent du pH urinaire. Il se déroule en plusieurs phases (figure 09) (**Pruna et Daudon, 2008**).

La première étape du mécanisme de l'élimination rénale est une filtration de l'acide urique par le glomérule.

L'accumulation des anions organiques, entrés dans le rein grâce à des transporteurs de solutés (SLC) comme SLC5A8, SLCA12 et SLC13A3 stimule le transporteur anionique de l'urate (URAT) 1 à augmenter la réabsorption vers la cellule épithéliale du tubule proximal de l'urate. Ce dernier rentre également par le biais des transporteurs des anions organiques (TAO). (**So et Thorens, 2010**).

L'urate passe dans le sang grâce à GLUT 9 plus connu en tant que transporteur de glucose mais qui s'est avéré être un transporteur d'urate (figure 09) (**So et Thorens, 2010**).

Il existe deux isoformes GLUT9 : l'une courte de 512 acides aminés d'expression apicale, et l'autre longue de 540 acides aminés est présente sur la surface basale du tube proximale et joue un rôle dans le passage de l'urate vers le sang (**Merriman et Dalbeth, 2010 ;Ea, 2011**).

L'acide urique rentre de nouveau dans la cellule par l'intermédiaire des transporteurs TAO 1 et 3 en échange d'un ion dicarboxylate. Il est ensuite secrété dans les urines par l'action des transporteurs de la famille (ATP-binding cassette) ABC G2 et les cotransporteurs sodium/phosphate (NPT) 1 et 4 (figure 09) (**Merriman et Dalbeth, 2010 ;Ea, 2011**).

Une dernière étape de réabsorption post-sécrétoire est observée pour qu'au final, seul environ 10% de l'urate soit excrété dans les urines (**So et Thorens, 2010**).

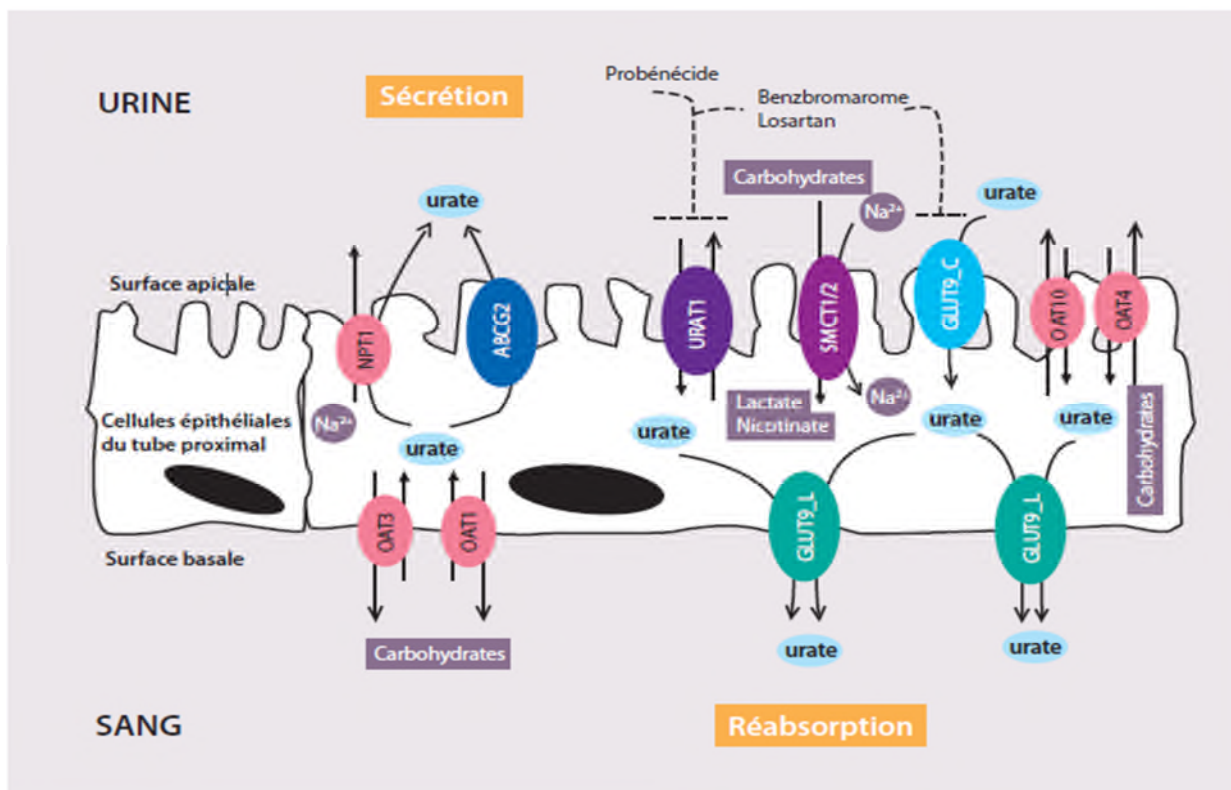


Figure 09 : Schéma de l'élimination rénale (Ea, 2011).

### II .3.2 Facteurs influant sur l'uricémie

En plus des défauts d'excrétion rénale, l'hyperuricémie peut également résulter d'une hyperproduction d'acide urique dont la cause peut être une hyperactivité de la PRPP synthétase (Vassault, 2007), un déficit modéré ou complet en hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (HGPT, EC 2.4.2.8 : enzyme impliquée dans la récupération de l'IMP et du GMP à partir de l'hypoxanthine et de la guanine). Par ailleurs d'autres facteurs peuvent influencer l'uricémie (Sapag *et al.*, 2012).

#### II .3.2.1 Déficiences génétiques

Les déficiences génétiques des transporteurs rénaux d'acide urique ont été mis en cause dans l'hyperuricémie liée à un déficit en élimination rénale par des études systématiques ou la méta-analyse de ces dernières, à l'image de SLC2A9 codant pour les deux isoformes de GLUT 9 (SLC2A9v1, SLC2A9v2) et certaines variantes mineures du gène ABCG2 (Tableau IV) (Bardin et Richette, 2011; So et Busso, 2012).

**Tableau IV** : Transporteurs rénaux impliqués dans l'hyperuricémie (Bardin et Richette, 2011; So et Busso, 2012).

Gène	Homonyme	Fonction
<b>SLC2A9</b>	GLUT 9	Transport d'urate dans le tubule rénal proximal
<b>SLC22A12</b>	URAT 1	Transport d'urate dans le tubule rénal proximal
<b>ABCG2</b>	ABC G 2	Transport d'urate dans l'intestin et le tubule rénal
<b>SLC17A1</b>	NPT 1	Transport d'urate dans l'intestin et le tubule rénal
<b>SLC16A9</b>	MCT 9	Transporteur d'acide monocarboxylique et d'urate
<b>PDZK 1</b>	PDZK 1	Protéine d'échafaudage en interaction avec OAT4, URAT1 et NTP1
<b>SLC22A11</b>	OAT 4	Transporteur d'urate

D'autres gènes ne sont pas impliqués dans le transport des urates mais qui influent sur l'hyperuricémie tel que le ALDH16A1 ou surtout le gène codant pour l'HGPT situé sur le bras long du chromosome X, Xq26, contenant neuf exons (**So et Busso, 2012; Sapag et al., 2012**).

Dans l'ensemble, chacun des gènes identifiés n'explique qu'une petite partie de la variation de l'uricémie dans les populations étudiées, ce qui souligne l'importance de facteurs comme l'âge, le sexe ou l'alimentation dans cette pathologie (**Bardin et Richette, 2011**).

### II .3.2.2 Sexe et âge

La fréquence de la goutte augmente de façon linéaire avec l'âge, et bien souvent la maladie est rare avant 45 ans, notamment chez la femme du fait de l'effet uricosurique des estrogènes. En effet, l'uricémie est plus faible chez la femme adulte que chez l'homme jusqu'à la ménopause, où l'uricémie de la femme rejoint les valeurs de l'homme (**Bardin et Richette, 2011; Chalès, 2011**).

**Marinello et al. (1985)** ont rapporté que, comparés aux témoins, les patients goutteux présentaient des taux significativement plus faibles d'hormone folliculo-stimulante (FSH) et de 17  $\beta$ -œstradiol, mais un rapport légèrement plus élevé de testostérone plasmatique/17  $\beta$ -œstradiol. Les auteurs de l'étude suggèrent même un rôle du 17  $\beta$ -œstradiol dans la régulation du métabolisme de l'acide urique.

### II .3.2.3 Alimentation

Le rôle de l'alimentation dans l'hyperuricémie a été reconnu de longue date. Au cours d'une étude prospective de 12 ans, portant sur 47 150 hommes professionnels de santé, de sexe masculin, non goutteux au départ, le risque de survenue de goutte était dépendant des apports importants de purines animales (viande ou produits de la mer) (**Choi et al., 2004a**). Une autre étude a porté sur les professionnels de santé américains, où l'augmentation de l'apport journalier de viande ou de produits de la mer était associée à une augmentation de l'incidence de la goutte, tandis que les produits laitiers avaient un effet protecteur en favorisant l'excrétion de l'acide urique (**Choi et al., 2010**).

Le fructose est le seul sucre capable d'induire une hyperuricémie. En effet, l'utilisation du phosphate issu de la dégradation de l'ATP pour phosphoryler le fructose apporté en excès, limite la régénération de l'ATP et aboutit à la dégradation de l'AMP en adénosine puis en acide urique. Ce processus n'est pas régulé et se poursuit tant que le fructose est disponible. (**Pruna et Daudon, 2008; Bardin et Cohen-Solal, 2011**).

Choi et ses collègues (2004) ont mis en évidence le rôle de l'alcool dans l'hyperuricémie et la goutte (**Choi et al., 2004b**). En effet, les liqueurs et surtout la bière contiennent de la guanosine, très facilement absorbée et catabolisée en acide urique (**Pruna et Daudon, 2008**).

#### II .3.2.4 Médicaments

La prise récente de diurétiques est associée à une augmentation de l'uricémie (diurétiques thiazidiques ou diurétiques de l'anse). C'est le cas également de l'aspirine à faible dose, car il diminue l'excrétion de l'acide urique (**Chalès, 2011**).

L'hyperinsulinémie augmente la réabsorption tubulaire d'urate, et diminue son excrétion rénale (**Muscelli et al., 1996; Bardin et Richette, 2011**). Par contre, l'insulinorésistance induit une hausse de la production d'acide urique (**Chalès, 2011**).

### II .3.3 Pathologies et syndromes liés à l'hyperuricémie

#### II .3.3.1 La goutte

La goutte est la principale pathologie associée à l'hyperuricémie car environ 10 à 15% des hyperuricémiques la développent. En effet, lorsque le taux plasmatique d'acide urique est supérieur à 420  $\mu\text{M}$  (ou 70 mg/L) qui correspond au seuil de solubilité de l'urate de sodium dans les conditions physiologiques, l'urate s'accumule sous forme de cristaux d'urate mono-

sodique (UMS) dans le liquide synovial et les articulations, provoquant les symptômes de la goutte (accès goutteux, tophus, arthropathie uratique ; rein goutteux, néphropathie goutteuse), qui est la plus fréquente des arthropathies inflammatoires chez l'homme, sa prévalence étant de 1 à 2 % dans les pays industrialisés (Vassault, 2007; Merriman et Dalbet, 2010; Roddy et al., 2013).

### II .3.3.2 Insuffisance rénale chronique (IRC)

Le lien le plus évident entre l'hyperuricémie et l'insuffisance rénale chronique (IRC) réside dans l'élimination de l'acide urique, et ce, à travers une diminution de la filtration glomérulaire qui va induire une élévation de l'uricémie (Chalès, 2011).

À l'opposé, l'hyperuricémie est un facteur causal des lésions rénales (artériolopathie, hypoxie glomérulaire), ou encore la goutte, qui dans ses phases chroniques, mène à une lithiase rénale ou à une néphropathie uratique (Chalès, 2011).

### III .3.3.3 Hypertension artérielle

Le lien entre l'acide urique et l'hypertension artérielle était noté depuis près de cinquante ans. Cependant, ce sont les essais cliniques et surtout, l'expérimentation animale qui ont permis d'établir un lien concret en suggérant un mécanisme d'association tel que l'effet de l'allopurinol sur les hypertendus (Feig, 2012)

## II .4 Traitements de l'hyperuricémie

Les traitements de l'hyperuricémie sont souvent utilisés pour traiter la goutte chronique, car il est peu recommandé de traiter pharmacologiquement les hyperuricémies asymptomatiques, vu que, seuls 10 % environ des patients hyperuricémiques développeront une goutte (Richette, 2011).

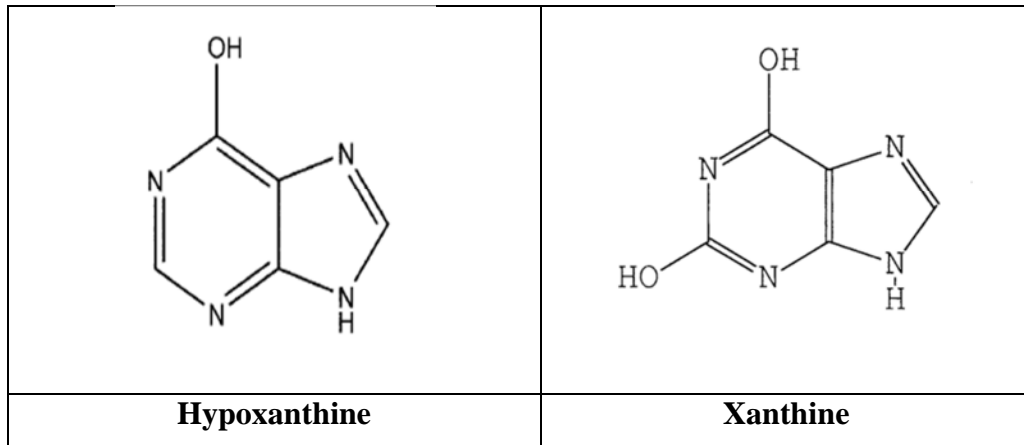
### II .4.1 Médicaments hypouricémiants

#### II .4.1.1 Les inhibiteurs de la synthèse d'acide urique

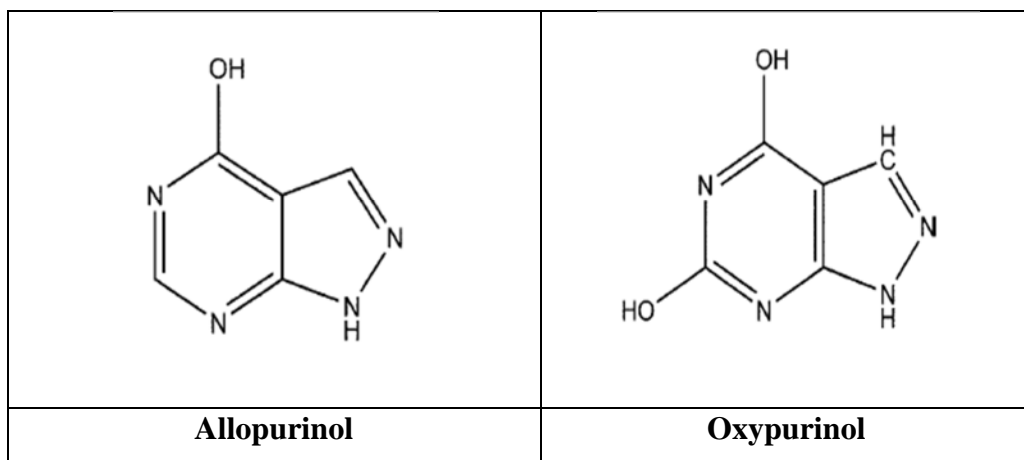
##### - Allopurinol :

L'allopurinol (4-hydroxypyrazolo(3,4-d)pyrimidine), analogue structural de l'hypoxanthine (figure 10), est à la fois un substrat et un inhibiteur compétitif de la XO.

L'allopurinol est métabolisé par la XO en oxypurinol (figure 11), inhibiteur de plusieurs enzymes impliquées dans le métabolisme des purines et des pyrimidines, et surtout inhibiteur non compétitif de la XO. Sa posologie est en moyenne de 300 mg/j, mais il est recommandé de le commencer avec une faible dose (100 mg/j) (Faure, 2010; Richette, 2011).



**Figure 10** : Substrats puriniques de la XOR



**Figure 11** : Analogues aux substrats puriniques de la XOR.

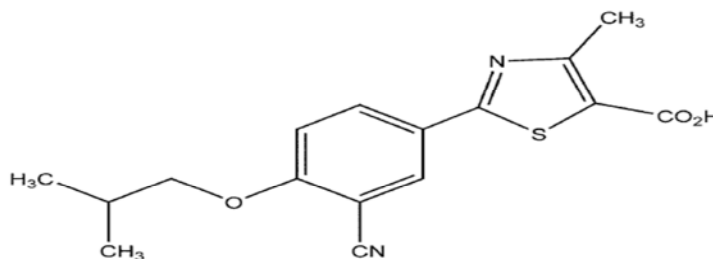
Quelques effets indésirables :

- ✓ le principal obstacle devant l'utilisation de l'allopurinol est l'insuffisance rénale, car il faudra réduire sa posologie (Hande et al., 1984). Il faut noter cependant qu'aucune étude n'a démontré la diminution du risque allergique en adaptant la posologie selon la fonction rénale (Stamp et al., 2011);

- ✓ les réactions allergiques cutanées sont la principale complication de ce traitement et surviendraient dans un peu moins de 5 % des cas (**Terkeltaub, 2003**). Le plus souvent, ce sont des éruptions prurigineuses, érythémateuses, papuleuses, vésiculeuses ou bulleuses, mais parfois il peut s'agir d'éruptions cutanées graves telles que des syndromes de Lyell ou Stevens-Johnson (**Richette, 2011**);
- ✓ risque d'interaction médicamenteuse avec les anticoagulants oraux, la théophylline ainsi que l'azathioprine (**Richette, 2011**);

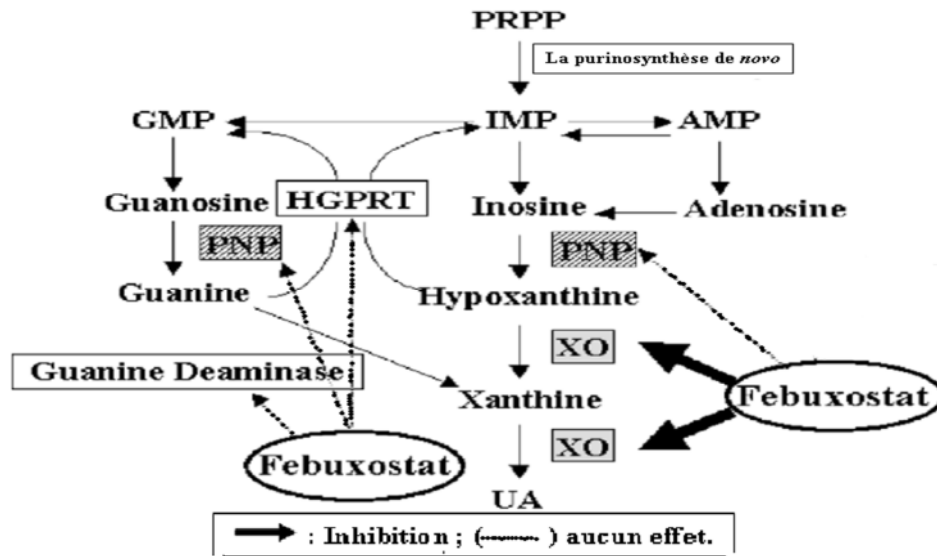
- **Fébuxostat :**

À l'inverse de l'allopurinol, le fébuxostat n'est pas un analogue des purines (figure 10), c'est un inhibiteur sélectif non purinique des formes oxydées et réduites de la XO. Sa demi-vie est de 6 heures et son métabolisme est essentiellement hépatique. Un avantage de taille pour le fébuxostat par rapport à l'allopurinol est qu'il ne nécessite pas d'adaptation de la dose dans les cas d'insuffisance rénale (**Dubost et al., 2011 ; Richette et al., 2011**).



**Figure 12:** Structure chimique du fébuxostat (**Takano et al., 2005**).

La posologie recommandée est de 80mg/j, quoiqu'elle puisse être augmentée jusqu'à 120mg/j après deux à quatre semaines de traitement si l'uricémie est toujours élevée (**Richette et al., 2011**).



**Figure 13** : Molécules cibles du fébuxostat (XO). les flèches pointées indiquent qu'il n'a pas d'effet sur la phosphorylase des nucléosides puriniques (PNP, EC 2.4.2.1) et la HGPT contrairement à l'allopurinol et ses métabolites (Takano *et al.*, 2005).

Effets indésirables :

- ✓ Les effets indésirables liés au fébuxostat les plus souvent rapportés sont des anomalies du bilan hépatique et notamment des élévations des transaminases, des diarrhées, des céphalées, des nausées et des éruptions cutanées (Richette, 2011);
- ✓ Le traitement n'est pas recommandé en cas de cardiopathie ischémique ou d'insuffisance cardiaque congestive et chez les patients traités par azathioprine, comme elle doit être faite avec prudence chez les patients traités par la théophylline (Richette, 2011) ;
- ✓ Une augmentation du taux de la thyroïdostimuline ayant été observée chez 5 % des patients traités à long terme par fébuxostat, il doit être prescrit avec prudence chez les patients présentant une dysthyroïdie (Richette, 2011).

#### II .4.1.2 Les uricosuriques

Les uricosuriques diminuent l'uricémie en augmentant l'excrétion urinaire de l'acide urique, grâce à l'inhibition d'URAT1. Utilisés dans les cas d'intolérance à l'allopurinol, mais



de plus en plus rare depuis la mise sur le marché du fébuxostat (**Richette, 2011; Dubost et al., 2011**).

Cependant, les uricosuriques ne sont pas toujours efficaces. Le probenecide par exemple, est peu efficace lorsque la clairance de la créatinine est inférieure à 50mL/min, et parfois c'est son interférence avec d'autres médicaments qui pose problème. La benzbromarone elle, garde son efficacité en cas d'insuffisance rénale modérée, mais elle a une toxicité hépatique qui l'a fait retirer du momentanément du marché Européen malgré la rareté des effets secondaires (**dubost et al., 2011**).

### **II .4.1.3 Les uricases**

Les uricases représentent donc une option thérapeutique intéressante dans les gouttes chroniques tophacées lorsque les inhibiteurs de la xanthine oxydase ne peuvent pas être utilisés, ou pour permettre une déplétion rapide des dépôts d'acide urique et la dissolution des tophus. Cependant, les crises de goutte répétées (même avec l'utilisation de la colchicine) et les réactions d'hypersensibilité (malgré les corticoïdes) ont atténué l'enthousiasme pour son utilisation dans la goutte chronique (**Garay et al., 2012**).

### **II .4.2 Les inhibiteurs naturels de la XOR**

Les composés phénoliques inhibent la xanthine oxydase d'une manière significative qui dépend de la position et du nombre de substitutions des groupements hydroxyles portés par le motif structural. Ces données conformationnelles contrôlent plusieurs facteurs de liaison entre les polyphénols et le site actif de xanthine oxydase.

#### **II .4.2.1 Les acides phénoliques**

L'activité des acides phénoliques dépend du nombre et de la position des groupements OH. Chan et ces collaborateurs ont pu démontrer l'importance du OH de l'acide caféique dans l'inhibition de la XO grâce à la liaison  $\alpha, \beta$  insaturée de la chaîne latérale de sa structure. Cependant, l'acide hydrocaféique saturé et l'acide hydroxybenzoïque possèdent un groupement COOH qui a tendance à capter les électrons mais rarement à libérer l'hydrogène, en bref ils n'ont pas d'effet sur la XO (**Chang et al., 2007**).

Les dérivés des phénylpropanoïques C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> représentent un groupe important de phénols de faible poids moléculaire qui interagit avec les régions molybdoptérine. Les phénylpropanoïdes les plus importants sont les acides hydroxycinnamiques et leurs dérivés (**Chang et al., 2007**).

L'acide caféique phényl ester (CAPE) des phénylpropanoïdes, a eu la plus grande affinité envers le site de la liaison à la XO. Il a été spéculé que cela était dû à des interactions hydrophobes du phényl ester avec plusieurs résidus hydrophobes entourant le site actif (**Chang et al., 2007**).

#### II .4.2.2 Les tannins

Les tannins ont également la propriété d'inhiber la XO, en particulier les tannins hydrolysables monomériques du fait de leur faible poids moléculaire, qui reflète le nombre de groupements hydroxyles portés par le noyau phénolique (**Hatano et al., 1990**).

En revanche, les tannins hydrolysables oligomériques (proanthocyanidines) présentent une faible action inhibitrice sur la XO, une conséquence du degré de polymérisation du groupement galloylé (**Hatano et al., 1990**). La catéchine par exemple, dont le poids moléculaire est de 1763.5 Da possède une concentration inhibant 50% de l'activité (ou « *inhibition concentration 50* » IC<sub>50</sub>) de 4.4 uM (tableau V) tandis que l'epigallocatechine (inhibiteur compétitif de la XO) dont le poids moléculaire est de 306.3 Da présente une IC<sub>50</sub> supérieure à 40uM, son activité est comparable à celle de l'allopurinol (**Hatano et al., 1990; Aucamp et al., 1997**).

#### II .4.2.3 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs naturels de la XOR, grâce à la similarité structurale du cycle benzopyranique des flavonoïdes avec le noyau purinique de l'hypoxanthine et de la xanthine) et sa grande affinité avec le site actif de la XO (**Van Hoorne et al., 2002**).

Les oléfines en C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> qui maintiennent une structure planes des flavonoïdes assurent une puissante activité inhibitrice sur la XO, tandis que les flavonoïdes non planes tels que la naringénine, n'ont pas cette activité (**Lin et al., 2002**).

L'apigénine est l'un des inhibiteurs puissants de la XO grâce aux groupements hydroxyles. En effet, la modélisation moléculaire révèle que les groupements hydroxyles en C<sub>7</sub> et C<sub>5</sub> et le

groupement carbonyle en C4 fournissent des liaisons hydrogènes favorables à des interactions électrostatiques entre les inhibiteurs et le site actif (Lin et al., 2002).

Toutefois, certains groupements hydroxyles montrent des effets négatifs sur les valeurs de l'IC50. Par exemple, lorsque ces groupements sont substitués sur cycle benzopyranone, ils diminuent l'affinité de sa liaison au site actif de l'enzyme et abaisse l'inhibition. Alors que, l'addition d'un groupement 5'-hydroxyle n'a aucun effet sur l'inhibition de la XO (Van Hoorne et al., 2002).

**Tableau V** : Propriétés d'inhibition de quelques composés phénoliques sur la xanthine oxydase (Aucamp et al., 1997 ; Van Hoorn, 2002 ; Chang, 2007 ; Umair, 2011).

Composés		Type d'inhibition	IC50 $\mu\text{M}$	Ki $\mu\text{M}$
Médicament	Allopurinol	-Compétitif à faible C -Incometitif à fort C	10.66	00.34
Flavonoïdes	Quercitine	Compétitive	07.23	00.30
	Kaempferol	Mixte	00.67	00.25
	Myricetine		2.00	05.22
Tannins	Catéchine	Incompétitive	04.40	303.95
	Epigallocatechine	Mixte	> 40	10.66
	Epicatechine	Mixte	> 40	20.48
Coumarine	Esculetine	Compétitif	/	02.056
	7-hydroxycoumarine	Incompétitif	/	21.683
	7-hydroxy 4-méthylcoumarine	Mixte	/	04.860
Acides Phénolique	Acide fêrulique	/	154.44	/
	Acide iso fêrulique	/	132.50	/
	Acide 3-4-dimethoxycinnamique	/	136.30	/

### III-Matériels et Méthodes

#### III .1. Matériel végétal

##### III .1.1. Présentation du genre *Fraxinus*

Le genre *Fraxinus* appartient à la famille des Oléacées et comprend environ 70 espèces ligneuses, qui sont largement distribués en Europe, Afrique du nord, Asie de l'Est et du Nord et en Amérique centrale (**Lee et al., 2012**). Le genre a été décrit par Linnaeus en 1753 et dès lors, plus de 450 taxons ont été décrits, dont la plupart sont considérés comme synonymes aujourd'hui (**Wallander et al., 2008**).

##### III .1.2. Origine du nom

Le nom frêne vient de l'ancien nom latin de l'arbre, *Fraxinus*, lui-même originaire du grec *phraxis* qui pourrait signifier séparation, en allusion à la facilité avec laquelle on peut éclater son bois, ou encore haie pour rappeler la fréquente présence de cet arbre dans les haies.

##### III .1.3. Présentation de l'espèce *Fraxinus angustifolia*

*Fraxinus angustifolia* (frêne à feuilles étroites) est un arbre qui atteint 20 à 25 m de haut (figure 14) et vivant de 150 à 200 ans. Cette espèce aux quarante-six chromosomes est tolérante des sols secs plus que les autres espèces du genre *Fraxinus*. C'est une espèce thermophile qui préfère les sols au pH basique à neutre (**Rameau et Dumé, 1989; Duflot, 2002; Prat et al., 2006**).

##### III .1.4. Taxonomie et distribution géographique de l'espèce

Il y a plusieurs points de vue différents quant au statut taxonomique de cette espèce, mais en général, on considère que *Fraxinus angustifolia* a trois sous-espèces distribuées par région géographique, sous-espèce (ssp.) *angustifolia* (dans l'ouest Méditerranée), ssp. *Oxycarpa*, (dans l'est et le sud-est de l'Europe), et ssp. *syriaca* ou frêne syrien (en Turquie et en Iran vers l'est) (**Capuana, 2013**).

En fait, *Fraxinus angustifolia* est l'espèce méditerranéenne par excellence vu qu'on la retrouve fréquemment dans les habitats biogéographiques méditerranéens. Elle est donc naturellement présente dans tout le Sud et l'est de l'Europe, du Portugal à l'ouest jusqu'à la mer Noire à l'est (**Tonon et al., 2001; Temunovic' et al, 2012**) ainsi qu'en Afrique du nord, plus particulièrement en Algérie.

D'autre part, *Fraxinus angustifolia* comme les autres espèces de son genre est un habitué des régions riches en eaux souterraines, et donc sa capacité de dispersion est restreinte. En Europe centrale, le bassin de Pannonie et dans les Balkans, on le retrouve principalement dans les forêts et les plaines, le long de grands fleuves et de leurs affluents : Drava, Danube, Morava (pour l'Europe), où il forme de larges populations (Temunovic' et al., 2012; Capuana, 2013).

### III .1.5. Classification botanique de l'espèce

Wallander a pu établir la nouvelle classification du genre *Fraxinus* en 2008 (Wallander, 2008), qui repose essentiellement sur une étude phylogénique moléculaire. Cette classification a placé l'espèce *Fraxinus angustifolia* dans la position systématique suivante :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous-embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Ordre :** Oléales

**Famille :** Oléacées

**Genre :** *Fraxinus*

**Espèce :** *Fraxinus angustifolia*

### III .1.6. Les noms vernaculaires

Les noms vernaculaires de *Fraxinus angustifolia* sont représentés dans le tableau VI :

**Tableau VI** : Noms vernaculaires de *F. angustifolia* (Rameau et Dumé, 1989).

Langue	Nom
Arabe	Derdar
Anglais	narrow leaved ash, southern ash
Français	Frêne a feuilles étroites, oxyphylle
Amazigh	Aslen, Thaslent

### III .1.7. Composition phytochimique

La richesse de *Fraxinus angustifolia* en composés phénoliques est rapportée par plusieurs auteurs. En effet, l'écorce de *Fraxinus angustifolia* est constituée de coumarines, flavonoïdes plus spécifiquement flavones et flavonols, stérols, triterpènes et glucosides phénylpropanoïdes (Kostova et Iossifova, 2007).

### III .1.8. Intérêt pharmacologique

Depuis les temps anciens, les frênes étaient considérés d'une grande valeur en raison de leur croissance rapide et leur bois dur. Leur écorce contenant des composants amers a été utilisée pour le tannage et comme colorant (Horanszky et Stohl, 1976).

Le frêne est utilisé pour la fièvre, le rhumatisme, la goutte, l'œdème, les calculs, la constipation, ainsi que le traitement des ulcères et des plaies (Gruenwald et al., 2007). Dès le début du 20<sup>e</sup> siècle, les feuilles de cette espèce sont principalement recommandées contre la fièvre et l'inflammation (Kostova et Iossifova, 2007).

*Fraxinus angustifolia*, de par ses composants phytochimiques, peut avoir beaucoup d'effets thérapeutiques grâce notamment aux flavonoïdes et autres composants coumariniques. C'est dans ce sens que nous avons étudié l'effet de son extrait éthanolique sur l'activité anti-hyperuricémique et anti-xanthine oxydoréductase sur des souris.

### III .2. Préparation de l'extrait

#### III .2.1. Récolte du matériel végétal

Les écorces de *Fraxinus angustifolia* ont été récoltées au mois de Juillet de l'année 2012, de l'arboretum de la forêt de la Daïra de Chemini, de la wilaya de Bejaïa.



**Figure 14:** (A) Arbre et (B) écorce de *Fraxinus angustifolia* (Originale).

#### III .2.2. Séchage, broyage et tamisage

Après la récolte, tous les échantillons récupérés ont été nettoyés, puis séchés à température ambiante dans un endroit aéré et ombragé.

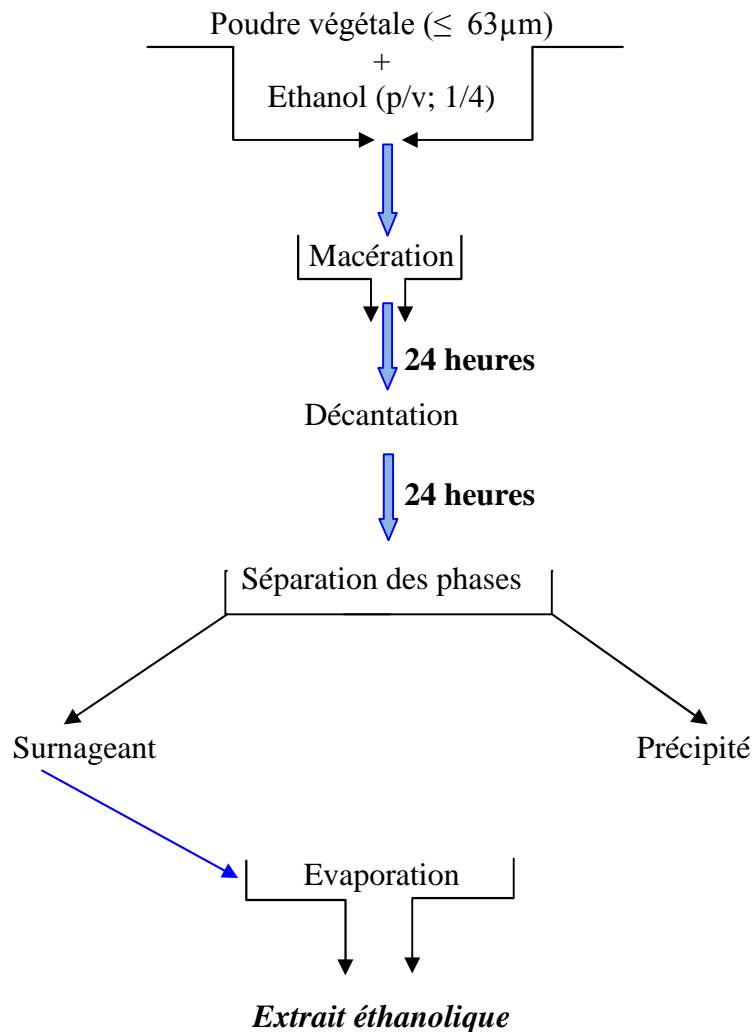
Le broyage de la matière séchée a été réalisé à l'aide d'un broyeur électrique (IKA) afin d'obtenir une poudre de granulométrie fine ( $<63\mu\text{M}$ ).

Le tamisage de la poudre obtenue a été effectué à l'aide d'un tamiseur (Retsth 200 control g). Seule la poudre de diamètre inférieur à  $63\mu\text{m}$  est conservée pour une utilisation ultérieure.

#### III .2.3. Extraction

La méthode de **Atmani et ses collègues (2009)** a été adoptée pour la préparation de l'extrait éthanolique. Ainsi, la poudre d'écorce de *Fraxinus angustifolia* a été macérée dans de l'éthanol à 96% avec un rapport 1:4 (p:v).

Le mélange a été soumis à une agitation pendant 24 heures à 25°C suivie par une décantation de 24 heures à l'abri de la lumière afin de récupérer le maximum de métabolites secondaires. Le surnageant a été ensuite séparé de la poudre précipitée puis séché par évaporation à température ambiante jusqu'à stabilisation du poids.



**Figure 15** : Schéma récapitulatif des étapes d'extraction éthanolique de la poudre de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* (Atmani et al., 2009).

### III .3. Préparation des substances

L'extrait a été dissous dans une solution de carboxyméthylcellulose (CMC) à 0,8% à des concentrations de 100, 200 et 400 mg/Kg. L'allopurinol, utilisé comme contrôle positif, est préparé en dissolvant 10 mg/Kg dans une solution d'eau physiologique.



### **III .4. Modèle de l'hyperuricémie**

La méthode adoptée (Stavric et al., 1975) consiste à induire l'hyperuricémie expérimentalement chez les souris par injection intra-péritonéale de l'oxonate de potassium, inhibiteur de l'uricase. L'oxonate de potassium a été préparé dans de l'eau distillé à une concentration de 250 mg/Kg.



**Figure 16:** Injection intra-péritonéale (**Originale**).

### **III .5. Réalisation du test expérimental**

#### **III .5.1. Animaux et conditions d'élevage**

Un total de 60 souris mâles (18-25g) de race albino achetées à l'Institut Pasteur d'Alger a été utilisé pour cette étude. Les souris ont été nourries dans l'animalerie du laboratoire suivant un régime alimentaire standard, avec de l'eau et de la nourriture industrielle à volonté pendant leur période d'adaptation, placées dans des cages bien aérées aux dimensions suivantes (320 cm, 180 cm, 160 cm).

Toutes ces souris ont été élevées dans un milieu où la température était maintenue à ( $22 \pm 2$  °C) et une humidité relative ( $55 \pm 5$  %) dans un cycle de 12 /12h de lumière et obscurité.

#### **III .5.2. Répartition des souris en plusieurs groupes**

Les souris sont partagées en deux catégories (n=6) afin de tester l'effet préventif et curatif de l'extrait :

- la première catégorie est composée de souris normales (non-hyperuricémiques), ayant reçues le CMC (véhicule), le standard et les extraits;
- la deuxième catégorie est composée de souris hyperuricémiques ayant reçues l'oxonate de potassium, le standard et les extraits;

Chaque catégorie est divisée en plusieurs groupes :

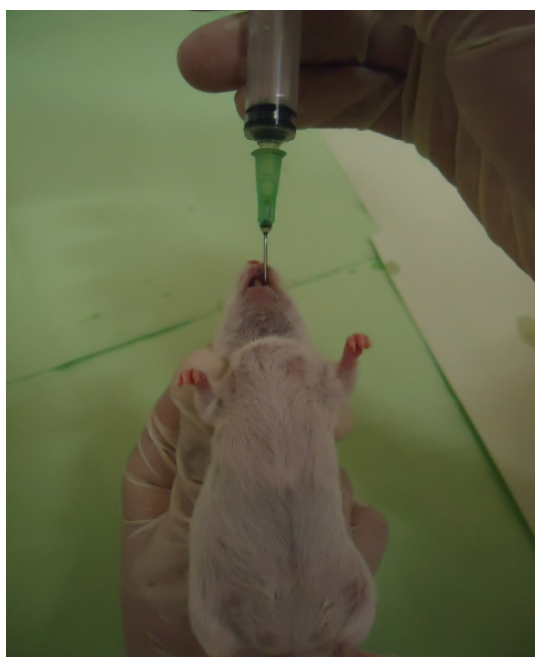
Groupe I : les souris ont reçu le véhicule (CMC 0,8%) ;

Groupe II, III et IV : les souris ont reçu les extraits à des concentrations différentes (100, 200 et 400 mg/kg), respectivement.

Groupe V : renferme les souris pour le control positif traitées à l'allopurinol (10 mg/kg).

### **III .5.3. Test expérimental**

L'oxonate a été administré aux groupes hyperuricémiques chaque jour pendant trois jours par injection intra-péritonéale une heure avant l'administration par gavage (figure 17) d'eau physiologique, des extraits ou de l'allopurinol. Les souris normales ont reçu des injections d'eau distillée par voie intra-péritonéale à la place de l'oxonate. Au bout du 3<sup>ème</sup> jour, les souris sont sacrifiées une heure après la dernière administration des extraits ou l'allopurinol afin de récupérer le sang et le foie pour le dosage de l'acide urique et de la xanthine oxydoréductase respectivement.



**Figure 17** : Administration par gavage (**Originale**).

### III .5.4. Récupération du sang

Les souris sont anesthésiées par le chloroforme avant d'être sacrifiées, dans le but de récupérer un échantillon de sang de chaque souris. Celui-ci, après coagulation, est centrifugé à 5000 g pendant 10 minutes. Le sérum est ensuite prélevé et le dosage de l'acide urique est réalisé en utilisant un test colorimétrique d'acide urique (Spinreact, Spain) où le standard d'acide urique = 6 mg/dL.

#### ❖ Détermination de la concentration d'acide urique

La concentration sérique de l'acide urique est mesurée en mélangeant le réactif du kit (1000µl) avec le sérum (25µl). Après une incubation de 10 min à 25°C, l'absorbance a été mesurée à 520 nm contre un blanc du réactif. Le réactif est composé d'uricase et de peroxydase produisant après réaction avec l'acide urique de l'échantillon le quinoneimine de couleur rouge violette (Tietz, 1999). Les concentrations sériques d'acide urique exprimées en mg/dL, sont calculées selon l'équation suivante :

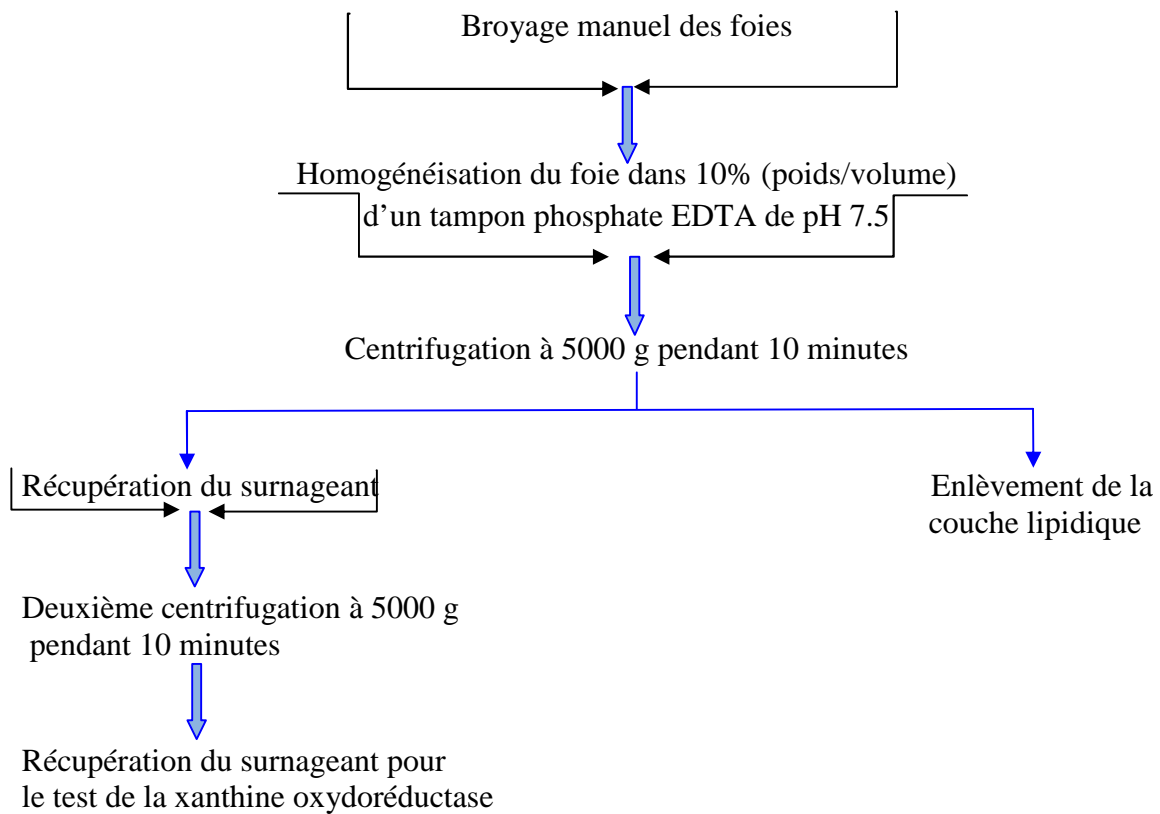
$$\text{La concentration d'acide urique (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du témoin}} \times 6$$

### III .5.5. Récupération des foies

Les souris sont disséquées, les foies sont excisés attentivement, lavés dans une solution froide de chlorure de potassium (KCl) isotonique de 0.15 M, pesés rapidement et conservés à -80°C pour une utilisation ultérieure.

#### III .5.5.1. Préparation de l'homogénat

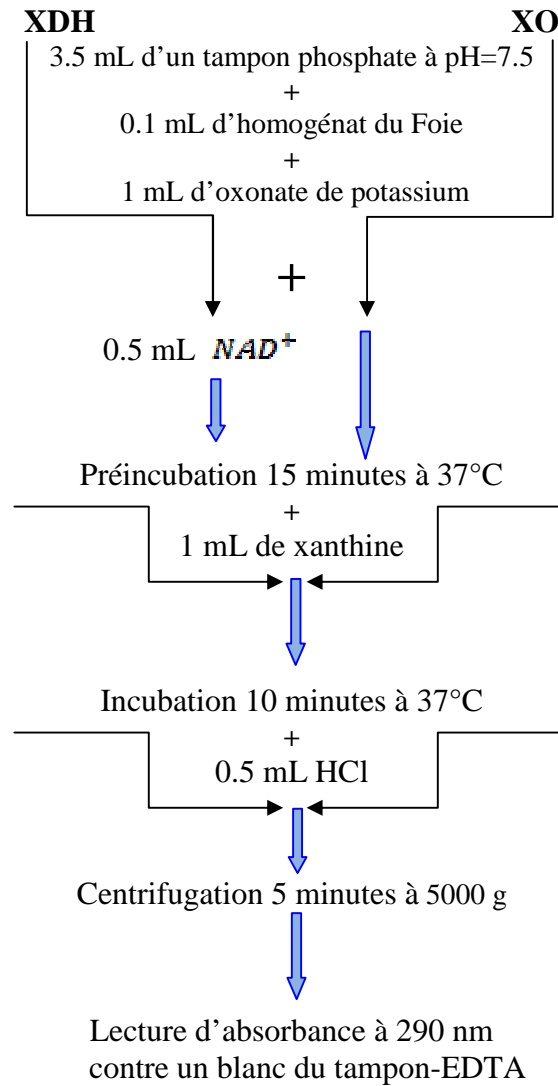
Les homogénats de foies sont préparés comme le montre la figure 18.



**Figure 18** : Schéma récapitulatif des différentes étapes de préparation de l'homogénat du foie.

### III .5.5.2. Détermination de l'activité de la XDH et de la XO

Dans le but de d'estimer l'effet inhibiteur de l'extrait de l'écorce de *F. angustifolia* sur l'activité de la XO et XDH hépatiques, on mesure par spectrophotométrie la quantité d'acide urique produite à partir de la xanthine par les deux enzymes suivant la méthode modifiée de **Prajda et Weber (1975)** montrée dans la figure 19.



**Figure 19** : Protocol expérimental du test d'activité de la XO/XDH selon la méthode modifiée de **Prajda et Weber (1975)**.

L'activité inhibitrice des extraits de *Fraxinus angustifolia* est exprimée en pourcentage d'inhibition (I %) calculée ainsi:

$$I \% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100 \text{ où}$$

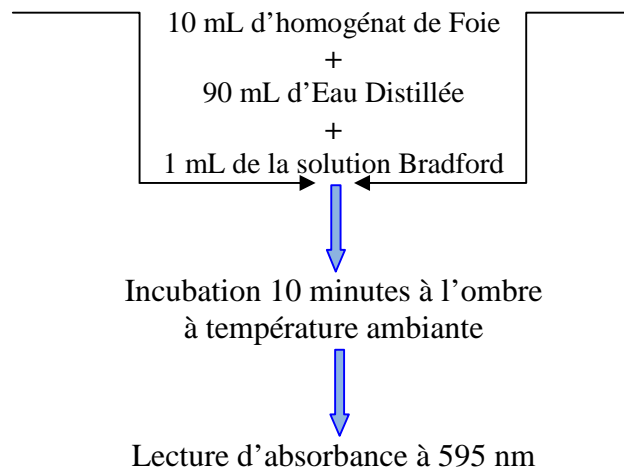
$A_C$ : Activité en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

$A_E$ : Activité en présence de l'inhibiteur

L'activité a été calculée et exprimée en U/mg ou en nanomoles d'acide urique par min et par mg de protéines.

### III .5.5.3. Dosage des protéines

Le test de **Bradford (1976)** nous permet de déterminer la concentration en protéines de l'homogénat par spectrophotométrie (figure 20), en utilisant comme standard la courbe d'étalonnage de l'albumine du sérum bovin (BSA) (annexe II).



**Figure 20** : Schéma récapitulatif des différentes étapes du dosage des protéines de l'homogénat.

### III .6. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM (erreur standard de la moyenne) ( $n = 6$ ). Les résultats ont été analysés avec le logiciel STATISTICA par le test ANOVA univarié. La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur  $p < 0,05$ , suivi du test de Dunnett réalisé sur le logiciel GRAPHPAD PRISM.

## IV. Résultats et discussion

### IV .1 Résultats

#### IV .1.1 Effet des extraits de *Fraxinus angustifolia* et de l'allopurinol sur le taux d'acide urique

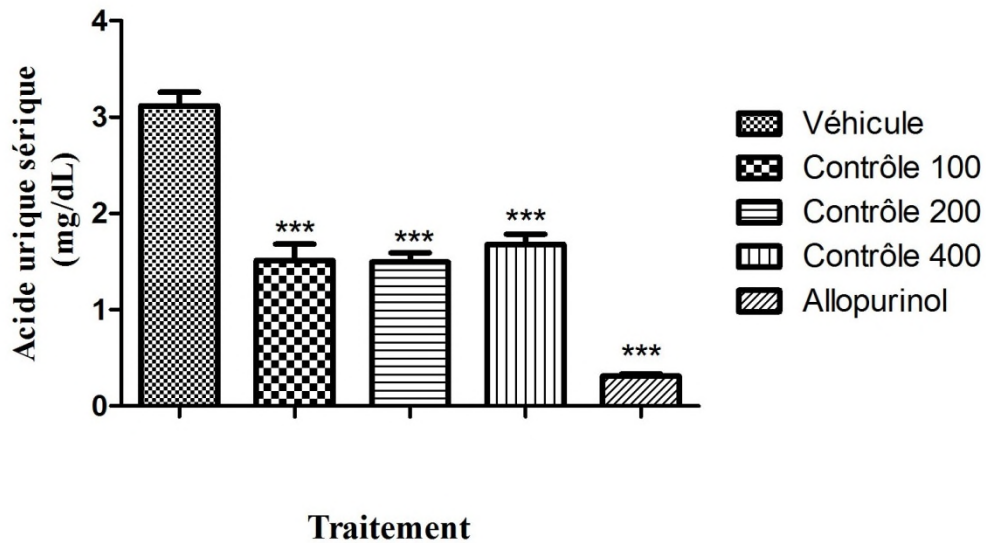
Les taux d'acide urique dans le sérum sanguin des souris normales et hyperuricémiques ainsi que les effets de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* et de l'allopurinol sur le niveau d'acide urique sérique chez les souris normales et hyperuricémiques sont représentés dans les figures 21 et 22. Les pourcentages de réduction de l'acide urique sérique sont aussi rapportés dans les tableaux VII et VIII.

**Tableau VII:** Comparaison des effets de l'administration orale de l'extrait éthanolique de l'écorce *Fraxinus angustifolia* à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et de l'allopurinol (10mg/kg), sur le pourcentage de réduction d'acide urique chez des souris normales après trois jours de traitement.

Catégorie 1	Groupe n=6	Dose mg/kg	% de réduction
Normal	véhicule	--	--
	extrait	100	51,44
	extrait	200	52,09
	extrait	400	50,48
	Allopurinol	10	90,032

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n=6).

On note que l'effet de l'administration de l'allopurinol comme control positif sur les taux d'acide urique à une dose de 10 mg/kg est statistiquement significatif ( $p < 0,001$ ) par rapport au véhicule (Tableau VII). En effet, l'administration par gavage de cette molécule référence aux souris normales pendant trois jours a provoqué la réduction des taux sériques d'acide urique de  $3,11 \pm 0,357$  mg/dL à  $0,31 \pm 0,43$  mg/dL chez les souris n'ayant pas reçu cette molécule (figure 21). Le même effet a été observé chez les souris chez qui on a induit l'hyperuricémie par traitement par l'oxonate de potassium (une baisse de  $4,73 \pm 0,18$  mg/dL à  $0,33 \pm 0,026$  mg/dL).



**Figure 21:** les taux d'acide urique sérique (mg/dL) chez des souris normales avec et sans traitement par les extraits de *Fraxinus angustifolia* (100, 200, et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10mg/kg). Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n=6), les échantillons aléatoires indépendants ont été analysés par le test univarié ANOVA suivis du test Dunnett. L'indication \*\*\* signifie  $p < 0.001$ , contre le véhicule.

D'autre part, d'après le Tableau VII, on remarque que chez les souris normales, l'effet de l'extrait de *Fraxinus angustifolia* sur les taux sériques d'acide urique après trois jours de traitement était significatif ( $p < 0.001$ ), abaissant ces taux de 50% de manière dose-indépendante. En effet, la différence entre les moyennes de chaque groupe de souris traitées, avec la moyenne du groupe normal était également significative ( $p < 0.001$ ), le taux d'acide urique étant passé de 3,11 mg/dL chez les souris véhicule à 1,51 mg/dL; 1,49 mg/dL et 1,54 mg/dL chez les souris ayant reçu les extraits à des concentrations de 100, 200 et 400 mg/kg respectivement. Cependant, ce potentiel hypouricémique était plus fort chez les souris traitées par l'allopurinol qui a atténué l'acide urique de 90%.

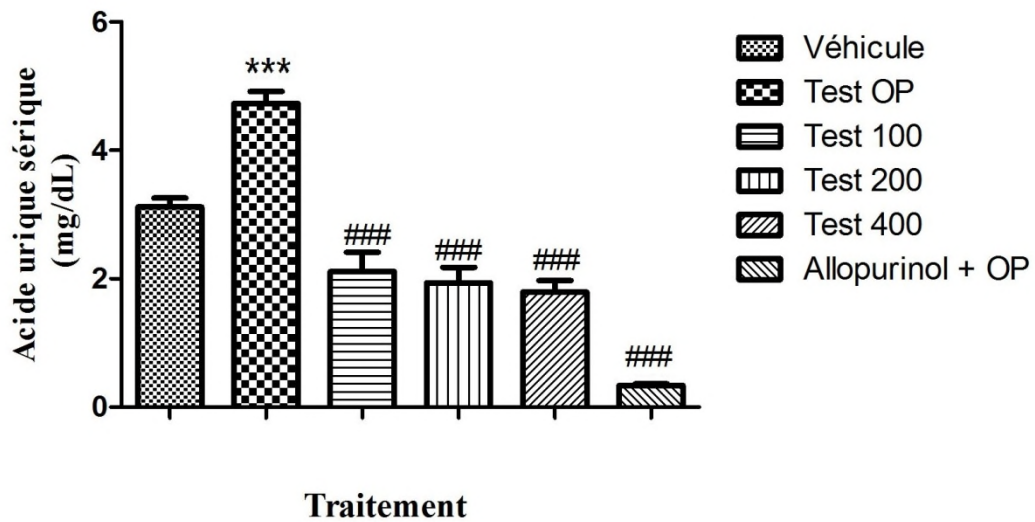


**Tableau VIII:** Comparaison des effets de l'administration orale de l'extrait éthanolique de l'écorce *Fraxinus angustifolia* à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et de l'allopurinol (10mg/kg) sur l'uricémie, induite par l'oxonate de potassium après trois jours de traitement.

Catégorie 2	Groupe n=6	Dose mg/kg	% de réduction
Hyperuricémique	contrôle	250	--
	extrait	100	55,39
	extrait	200	59,19
	extrait	400	62,15
	Allopurinol	10	93,02

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n=6).

D'autre part, l'administration de l'oxonate de potassium (250 mg/kg) a inhibé l'uricase qui transforme l'acide urique en allantoiné, ce qui s'est traduit par l'augmentation significative du niveau d'acide urique dans le sérum sanguin ( $4,73 \pm 0,180$ ) (Tableau VIII, Figure 22). Chez les souris hyperuricémiques traitées par l'extrait de *Fraxinus angustifolia* à 100, 200 et 400 mg/kg, le taux d'acide urique dans le sérum a été significativement plus bas (2,11; 1,93 et 1,79 mg/dL respectivement) par rapport aux souris qui n'ont pas reçu l'extrait. Cette baisse n'est pas dose-dépendante. Néanmoins, l'activité hypouricémiante de l'allopurinol (réduction de 93%) reste plus visible, ayant réduit le niveau d'acide urique au dessous même du seuil observé chez le véhicule (3,11 mg/dL) (Tableau VII).



**Figure 21:** les taux d'acide urique sérique (mg/dL) chez des souris normales et hyperuricémiques ainsi que l'effet des extraits de *Fraxinus angustifolia* (100, 200, et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10mg/kg) sur les souris hyperuricémiques. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$ SEM (n=6), le test univarié ANOVA des échantillons indépendants suivis du test Dunnett sont utilisés pour l'analyse statistique. L'indication \*\*\* signifie  $p < 0,001$ , contre le véhicule. L'indication ###  $p < 0.001$  contre le groupe oxonate de potassium.

#### IV.1.2 Effet sur l'activité de la xanthine oxydase et xanthine déshydrogénase

Les activités de la XO/XDH chez les souris normales et hyperuricémiques avec ou sans l'administration de l'extrait et l'allopurinol sont résumées dans le tableau IX. Les pourcentages d'inhibition ont été aussi calculés.

**Tableau IX:** Effets de l'administration orale de l'extrait l'éthanolique de l'écorce *Fraxinus angustifolia* à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10 mg/kg), sur l'activité de la XO/XDH hépatique chez des souris normales.

Groupes	Activité U/mg de protéine		% Inhibition	
	XO	XDH	XO	XDH
<b>Troisième jour</b>				
<b>Normal</b>				
Contrôle (véhicule)	27,64 ± 0,96	25,70 ± 0,54	--	--
Contrôle + extrait (100 mg/kg)	27,52 ± 1,87	25,48 ± 2,14	00,40	00,82
Contrôle + extrait (200 mg/kg)	26,30 ± 0,39	26,00 ± 0,86	04,82	--
Contrôle + extrait (400mg/kg)	26,88 ± 3,17	25,66 ± 1,84	02,72	00,14
Contrôle + Allopurinol	04,50 ± 0,65	06,53 ± 0,84	83,71	74,58

La moyenne des activités de la xanthine oxydase chez les souris normales est de 27,64± 0,96 U/mg tandis que celle de la xanthine déshydrogénase est de l'ordre de 25,70± 0,54 U/mg alors que chez les souris traitées avec l'oxonate de potassium, les activités de la XO et XDH sont de 28,13± 1,88 et 29,25± 0,94 U/mg respectivement (Tableau IX, X).

L'allopurinol administré à une concentration de 10 mg/kg a inhibé l'activité aussi bien de la xanthine oxydase que de la xanthine déshydrogénase respectivement de 83,71% et 74,58% (4,50± 0,65 et 6,53± 0,84 U/mg) chez les souris normales, et de 73,32 et 74,62% (7,50± 1,41 et 7,42± 0,84 U/mg) chez les souris hyperuricémiques.

D'autre part, l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* à la plus petite concentration (100 mg/kg) n'a pratiquement pas inhibé ni la XO (0,40%) ni la XDH (0,82%) y compris chez les souris hyperuricémiques (3,64% et 1,29% respectivement) (Tableau, X).

**Tableau X:** Effets de l'administration orale de l'extrait l'éthanolique de l'écorce *Fraxinus angustifolia* à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg/kg) et l'allopurinol (10 mg/kg), sur l'activité de la XO/XDH hépatique chez des souris hyperuricémiques.

Groupes	Activité U/mg de protéine		% Inhibition	
	XO	XDH	XO	XDH
<b>Troisième jour</b>				
<b>Hyperuricémique</b>				
Test (Oxonate IP)	28,13 ± 1,88	29,25 ± 0,94	--	--
Test + extrait (100 mg/kg )	27,10 ± 3,10	28,87 ± 2,81	03,64	01,29
Test + extrait (200 mg/kg)	27,72 ± 3,03	37,29 ± 2,41	01,44	--
Test + extrait (400mg/kg)	28,05 ± 1,87	28,20 ± 1,82	00,25	03,56
Test + Allopurinol (10mg/kg)	07,50 ± 1,41	07,42 ± 0,84	73,32	74,62

L'augmentation de la concentration de l'extrait à 200 ou à 400 mg/kg n'a pas influé sur les valeurs de l'activité de la XO/XDH où une absence d'inhibition sur l'enzyme a été notée (Tableau X). En effet, l'extrait à 200 mg/Kg a donné une inhibition de 4,82/0 % sur la XO/XDH, alors que chez les souris hyperuricémiques l'inhibition de l'activité a été de 1,44%/0 %. De même, l'extrait à 400 mg/kg a inhibé l'activité de la XO/XDH de façon négligeable de 2,72/0,14% chez les souris normales alors que chez les souris hyperuricémiques, l'inhibition XO/XDH a été de 0,25/3,56%.

## IV .2. Discussion

L'hyperuricémie est le facteur de risque majeur de la goutte et souvent associée aux composantes du syndrome métabolique ainsi que d'autres pathologies (**Merriman et Dalbet, 2010**). Elle est principalement le résultat d'un déficit en élimination rénale. Chez les patients avec une goutte primaire, l'hyperuricémie due à une excrétion déficitaire par le rein était de l'ordre de 90% des cas traités, tandis qu'environ 10% des cas d'hyperuricémie étaient dus à une surproduction d'acide urique (**Robert et Terkeltaub, 2003**).

L'allopurinol est utilisé cliniquement pour le traitement de la goutte. C'est pour cette raison que cette molécule est choisie dans notre étude comme control positif. C'est une molécule référence d'efficacité en matière d'abaissement de l'uricémie dans le sang et dans l'urine, tout en augmentant l'excrétion des précurseurs d'acide urique, en l'occurrence l'hypoxanthine et la xanthine (**Yu, 2007**). Les résultats obtenus confirment la capacité hypouricémiant remarquable de l'allopurinol aussi bien chez les souris normales (90%) que chez les souris hyperuricémiques (93%) en accord avec certains auteurs qui ont trouvé une réduction comparable de l'uricémie à la même concentration (83%) (**Ho et al., 2012**). Cependant, l'important abaissement du taux d'acide urique par l'allopurinol chez les souris normales et chez les souris hyperuricémiques de façon comparable où il a atteint des valeurs respectives (0,31 et 0,33 mg/dL) inférieures à celles du groupe de souris témoin, pourrait représenter un inconvénient au vu des rôles physiologiques de l'acide urique comme son pouvoir antioxydant ainsi que son rôle dans le maintien de la pression osmotique sanguine en période de faible ingestion de sels (**Ames, 1981; Parmar, 2009**).

S'ajoute à cela les nombreux effets secondaires qu'il présente tels que les réactions d'hypersensibilité comme le prurit et la dermatite (environ 2% des cas de traitement) ou l'inadéquation de son utilisation dans les cas d'insuffisance rénale (**Hande et al., 1984; Robert et Terkeltaub, 2003**), ce qui a poussé les chercheurs à trouver des alternatives par les composés naturels d'origine végétale.

De plus, les pourcentages d'inhibition obtenus sur la XO/XDH (73,32 et 74,62%) sont très proches de ceux trouvés par d'autres études (63,9 et 65,93%) à la même concentration et dans les mêmes conditions expérimentales (**Raju et al., 2012**). L'allopurinol est métabolisé par la XO en oxypurinol, un autre puissant inhibiteur de la même enzyme dont la demi-vie est plus longue, d'où son extrême efficacité (**Yu, 2007**).

Par ailleurs, les souris traitées par l'oxonate de potassium ont servi de modèle animale utile pour évaluer l'effet hypouricémiant de plantes médicinales. En effet, l'oxonate contribue à inhiber l'uricase pour empêcher la transformation de l'acide urique en allantoïne et causer son augmentation dans le sérum. Ainsi, l'administration de l'oxonate de potassium (250mg/kg) durant une période de 3 jours s'est traduite par l'augmentation significative du niveau d'acide urique dans le sérum sanguin en accord avec les résultats des travaux de Stavric et son équipe (**Stavic et al., 1975**).

L'écorce de *Fraxinus angustifolia* est réputée pour ses effets diurétiques et dans le traitement de la goutte (**Gruenwald et al., 2007; Kostova et Iossifova, 2007**). Les résultats de cette étude confirment l'activité hypouricémiante des extraits testés. En effet, l'administration orale de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* à des concentrations différentes (100, 200 et 400mg/kg) a conduit à une diminution significative des niveaux d'acide urique, cette diminution étant comparable chez les souris normales et hyperuricémiques ( $p > 0,001$ ). Ces résultats indiquent que l'extrait contribue à éliminer l'excès d'acide urique dans le sérum moins fortement que l'allopurinol mais maintient un taux physiologique acceptable. De plus, l'étude statistique n'a montré aucune dose dépendance suggérant que la concentration de 100 mg/kg est optimale.

Dans le souci de savoir si l'élimination de l'acide urique est due à un effet diurétique ou à l'inhibition de l'activité de la xanthine oxydoréductase, la mesure de l'activité de cette enzyme sous ses deux formes a été entreprise. Les résultats montrent qu'aucune inhibition n'a été exercée par l'extrait sur ces enzymes. Ces résultats représentent une divergence complète de ceux trouvés *in vitro* par une étude menée par **Berboucha et al., (2009)**.

En effet, ces derniers ont montré que l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* présente des taux d'inhibition remarquables (49%) envers l'activité de la XO en opposé avec nos résultats *in vivo*. Aussi, **Huang et son équipe (2011)** ont constaté que des flavonoïdes tels que la génistéine, l'astilbine, l'apigénine, la rutine et surtout la quercétine ont peu ou pas d'impact sur l'activité de la XO *in vitro* alors que ces mêmes molécules considérées comme les plus actives *in vivo*. Le même effet a été observé par **Murugaiyah et Chan (2009)** à propos de molécules pures de lignanes n'ayant pas d'activité *in vitro* contrairement à leur effet relatif *in vivo*.

De surcroît, l'équipe de **De Souza (2012)** dans une étude *in vivo* a montré l'inefficacité de certaines molécules pures, contenues dans *Fraxinus angustifolia*, sur l'activité de la xanthine oxydase. Ainsi, les résultats de cette étude montrent que les triterpènes et sterols suivants : l'éremantholide C, lupeol, la lutéoline et le lychnopholide n'ont pas d'effet sur l'activité de la XO. Cette étude nous mène à constater que le métabolisme des composés de *Fraxinus angustifolia* dans le foie pourrait les modifier de façon à annuler leur inhibition de l'activité de la xanthine oxydoréductase.

Une autre possibilité pour expliquer la différence entre les études *in vitro* et *in vivo* est la biodisponibilité des flavonoïdes chez la souris (**Huang, 2011; Kuo et al., 2012**). Ainsi, Il a été rapporté que la partie glycosidique des polyphénols joue un rôle important dans son absorption. C'est pour cette raison que la quercétine, dénudée d'une partie glycosidique est mal absorbée (**Hollman et al., 1999; Erlund et al., 2000; Morand et al., 2000; Crespy et al., 2002; Su et al., 2002**).

Par conséquent, d'autres mécanismes que celui de l'inhibition de la xanthine oxydoréductase peuvent être à l'origine de l'activité hypouricémique de l'extrait éthanolique de l'écorce de *F. angustifolia* :

- l'activation de l'uricase. **Kuo et ses collègues (2012)** ont montré que l'atténuation des taux d'acide urique par l'extrait de *Hibiscus sabdariffa* est due à l'augmentation de la concentration en uricase dans le foie. Aussi, **Zhao et ses collègues (2006)** ont suggéré un effet similaire de l'huile de cassia à celui de l'uricase en induisant la transformation de l'acide urique en allantoïne tout en réduisant la capacité à libérer l'urate du foie vers le sérum, entraînant une action hypo-uricémique. Des études complémentaires pourraient confirmer ou infirmer si l'extrait de l'écorce de *Fraxinus* présente les mêmes propriétés.
- L'activation de l'expression de l'uromoduline (UMOD). L'administration de l'oxonate de potassium induit une perturbation de l'expression de l'uromoduline ou l'altération de cette dernière associés à une hyperuricémie et un dysfonctionnement rénal (**Hu, 2012**) Sa présence dans le tubule contourné distal au niveau du rein permet son interaction avec les Co-transporteurs  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  associés à l'acide urique circulant dans le sang. Ceci favorise le passage de l'acide urique vers la lumière de l'épithélium rénal, résultant en une diminution de son taux sérique (**Hu et al., 2012**). La présence

- d'une quantité considérable de la quercétine dans l'écorce de *Fraxinus angustifolia* (Kostova et Iossifova, 2007) pourrait être à la base de la restauration du niveau de cette protéine et la fonction rénale des souris hyperuricémiques, ce qui favorise l'élimination rénale de l'acide urique et induit la baisse du taux d'urate sanguin.
- L'augmentation de l'effet uricosurique. Murugaiyah et Chan (2009) ont analysé le mécanisme anti-hyperuricémique de *Phyllanthus niruri* et des lignanes, composants essentielles de cette plante mais également présent dans *Fraxinus angustifolia*, et ont conclu que l'effet hypouricémiant des lignanes était dû à une action uricosurique, et ce en se basant sur l'analyse du taux d'acide urique et son excrétion urinaire (Murugaiyah et Chan, 2009). Cette excrétion est augmentée par l'inhibition d'URAT1 et la favorisation de l'expression du gène des transporteurs ABCG2 comme il a été prouvé pour certaines coumarines (fraxétine et fraxine) alors que l'escultine inhibe l'action de GLUT9 au niveau du rein des souris. Par conséquent, l'écorce de *Fraxinus angustifolia* de par ces mêmes composés coumariniques peut induire une activité uricosurique par un effet inhibiteur analogue sur les transporteurs en question (Carnat et al., 1990; Kostova et Iossifova, 2007; Matsuo et al., 2008; Li et al., 2011). De leur côté, Wang et ses collègues (2010) ont montré que le morin (2', 3, 4', 5, 7-pentahydroxyflavone) a une action uricosurique en régulant l'expression des protéines GLUT9 et URAT1 et en augmentant la sécrétion via le transporteur TAO1 chez les souris hyperuricémiques (Wang et al., 2010). Wang et son équipe ont également démontré que l'effet hypouricémiant du Sanmiao était dû, en partie, à une action sur le transporteur rénal URAT1 (Wang et al., 2010). Complémentairement, Priyatno et ses collaborateurs, ont étudié la quantité d'acide urique dans les urines de rats hyperuricémiques traités avec un extrait éthanolique d'une plante asiatique *Salacca edulis*. Les résultats de leur étude montrent une augmentation significative du niveau d'acide urique dans les urines accompagnant la baisse du niveau d'acide urique sérique (Priyatno et al., 2012). La quantification de l'acide urique dans les urines permettrait de confirmer le potentiel diurétique de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia*.
  - Inhibition de l'activité de la xanthine oxydase du sang. Les extraits de l'écorce de *F. angustifolia* n'ont pas donné d'effet inhibiteur sur l'activité de la xanthine oxydase hépatique malgré l'abaissement significatif d'acide urique, ce qui peut être expliqué



par une éventuelle action sur la xanthine oxydase dans le sang et les autres organes car la xanthine oxydase reste une enzyme ubiquitaire quoique retrouvée principalement dans le foie, l'intestin et les sécrétions des glandes mammaires (**Pacher et al., 2006**). Les résultats de l'étude de **Kuo et ses collègues, (2012)** confirme cette disparité entre les activités de la xanthine oxydase mesurée dans le foie et le sérum. **Huang et son équipe (2011)** ont mesuré les activités de la XO à la fois dans le sérum et dans le foie et ils ont déduit que les flavonoïdes purs testés ont exercé leur effet inhibiteur sur la XO sérique mais pas sur la XO hépatique tandis que d'autres ont donné le résultat inverse.

Les composés phénoliques (acides phénoliques, coumarines, flavonoïdes et lignanes) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al. 2005**). Comme la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont dues à ces substances, il est possible que leur leur présence dans l'extrait éthanolique de *Fraxinus angustifolia* soit à l'origine de ses effets hypouricémiant (**Kostova et Iossifova, 2007; Haidari, 2011**).

La richesse de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* utilisée dans la présente étude en composés phénoliques a été mise en évidence par une étude précédente (**Atmani et al., 2009**). En plus des composés phénoliques, *Fraxinus angustifolia* renferme des minéraux susceptibles d'améliorer son effet diurétique. Ainsi, **Carnat et ses collaborateurs (1990)** ont indiqué que *Fraxinus* contenait jusqu'à 1,7% de potassium K<sup>+</sup>, ion impliqué dans une activité diurétique accrue démontrée par **Galati et ses collègues (2002)**. En effet, un mécanisme neurohumoral est responsable d'un passage coordonné de l'acide urique et du K<sup>+</sup> (**Carnat et al., 1990; Galati et al., 2002**). D'autres électrolytes pourraient agir en synergie avec le potassium K<sup>+</sup> comme le sodium ou le manganèse (**Kanias et al., 1979**).

Enfin, **Gdoura et ses collaborateurs (2012)** ont reporté, dans une étude réalisée sur les effets de l'extrait de *Juniperus phoenicea* sur l'uricémie et l'activité des enzymes antioxydantes dans le foie, que les perturbations dans le métabolisme hépatique des purines chez les patients gouteux étaient attribuées à un stress oxydant et que cette production accrue de radicaux libres peut avoir un effet délétère sur le foie par conséquent sur le métabolisme des purines. Les mêmes auteurs ont révélé que l'utilisation de l'oxonate de potassium est accompagné d'une agression oxydative sur le foie perturbant le métabolisme des purines, ce qui conduit à une activation des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase, la

glutathionne peroxydase et la catalase. Donc, l'effet hypouricémiant de cette plante pourrait être une conséquence d'une augmentation de l'expression et/ou de l'activité des enzymes antioxydantes ou à l'inactivation des radicaux libres circulant et des espèces réactives de l'oxygène (**Gdoura et al., 2012**).

## **Conclusion**

Après le boom des traitements pharmacologiques industriels qui a suivi le développement des techniques de synthèse des molécules chimiques utilisés dans la médecine actuelle, et grâce aux nombreuses études réalisées sur des plantes largement utilisées autrefois dans la médecine traditionnelle, le monde a tendance actuellement à revenir à la phytothérapie et à s'intéresser davantage aux plantes médicinales pour traiter diverses maladies. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'hyperuricémie, responsable de pathologies très répandues dans le monde comme la goutte. La présente étude est la première en son genre sur l'effet anti-hyperuricémiant *in vivo* de l'extrait de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* qui est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

En conclusion, cette étude a permis de démontrer les effets préventifs et curatifs de l'extrait de *F. angustifolia* en observant une baisse hautement significative des niveaux d'acide urique dans le sérum sanguin après son administration aux souris hyperuricémiques quoique pas aussi importante que l'allopurinol qui a réduit plus fortement l'uricémie jusqu'à des seuils qui peuvent être pathologiques. Seulement, l'extrait de *Fraxinus angustifolia* a abaissé également les niveaux d'urate chez les souris normales suggérant que l'extrait exerce également un effet protecteur sur les reins.

Nous avons également mesuré l'effet de cet extrait sur les activités de l'enzyme xanthine oxydoréductase qui catalyse les réactions favorisant la formation d'acide urique et découvert que l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* n'a pas d'effet inhibiteur significatif sur les activités de l'enzyme sous ses deux formes XO/XDH par rapport aux souris n'ayant pas reçu l'extrait.

Quoique le mécanisme d'action exacte de l'extrait de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* demeure inconnu, le potentiel hypouricémiant de cet extrait a été validé et des études perspectives devraient éclairer les zones d'ombre qui entourent son mode d'action.

## **Perspectives**

Une étude plus poussée est nécessaire pour comprendre le mécanisme par lequel le niveau d'acide urique a baissé dans le sérum sanguin :

- D'abord, ce serait intéressant d'inclure dans l'étude des analyses qui confirmeront le bon fonctionnement des organes liés aux variations du niveau d'urate afin d'exclure l'éventualité d'existence d'effets secondaires et ceci en vérifiant le bon fonctionnement du rein impliqué dans l'élimination de l'acide urique par la mesure de la créatinine et l'urée dans l'urine. La quantification des enzymes aspartate transaminase et alanine transaminase dans le sang nous permettraient d'examiner l'état physiologique du foie.
- Mesure de l'activité de la XO/XDH dans le sang.
- Quantifier l'activité de l'uricase dans le sang et dans le foie pour déterminer si les composés de l'extrait de *Fraxinus angustifolia* n'ont pas favorisé son activité.
- Mesure des taux d'acide urique dans les urines pour vérifier l'éventuel effet uricosurique et la détermination des molécules cibles de l'extrait, préférentiellement sur des rats.
- Le test de suppression de la pyrazinamide et la co-administration des extraits avec la benzbromarone et le Probenicid permettrait de déduire à quel niveau du processus d'élimination rénale s'exerce l'action uricosurique.

Toutes ces études nous permettraient de confirmer les vertus médicinales de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* pour son exploration en tant qu'alternative ou en combinaison avec l'allopurinol dans l'industrie pharmacologique.

A

---

**Ames, B.N., Cathcart, R., Schwiers, E., and Hochstein, P. (1981).** Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* (78), 6858-6862.

**Anthony, M. R., Mount, D. B., Yang, I., and Choi, H. K. (2012).** The genetics of hyperuricaemia and gout. *Nature Reviews Rheumatology.* (8), 610-621.

**Arapitsas, P. (2012).** Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food Chemistry.* (135), 1708–1717.

**Arnaud, M., Bertin, P., Trèves, R., Buxeraud, J., and Tixier, M. (1992).** Métabolisme des purines. Goutte. *Elsevier Masson Consulter. Endocrinologie. Nutrition.* (10), 10-379.

**Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., and Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry.* (112), 303–309.

**Aucamp, J., Gaspar, A., Hara Y., and Apostolides, Z. (1997).** Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*Camellia sinensis*). *Anticancer Research.* (17), 4381-4386.

B

---

**Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D., and 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 food medicinal.* (4), 1–9.

**Bardin, T., and Richette, P. (2011).** Épidémiologie et génétique de la goutte. *La Presse Médicale*. (40), 830–835.

**Bardin, T., and Cohen-Solal, A. (2011).** Goutte et pathologies cardiovasculaires. *Revue du Rhumatisme*. (78), S129-S133.

**Berry, C. E., and Hare, J. M. (2004).** Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *The Journal of Physiology*. (555), 589–606.

**Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., and Sapirstein, H. D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chemistry Journal*. (82), 390-393.

**Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye. *Analytical Biochemistry*. (72), 248-254.

**Briggs, J. P., Levitt, M. F., and Abramson, R.G. (1977).** Renal excretion of allantoin in rats: a micropuncture and clearance study. *American Journal of Physiology*. (233), 373–381.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. *Lavoisier*. Paris. pp: 278-279.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed. *Éditions médicales internationales*. (Tec & Doc). Paris pp: 1288.

## C

---

**Camille, J. F. (1973).** Activité oxydasique de l'oxydoréductase de la xanthine, spécifique de la classe des Mammifères. *Biochemical Systematics*. (1), 231 -236.

**Cantu-Medellin, N., and Kelley, E. E. (2013).** Xanthine oxidoreductase-catalyzed reduction of nitrite to nitric oxide: Insights 3 regarding where, when and how. *Nitric Oxide*, Article in Press.

**Capuana, M. (2013).** In Vitro Propagation of Ash (*Fraxinus excelsior* L.) by Somatic Embryogenesis. *Methods in Molecular Biology*. (994), 213-221.

**Carnat A, Lamaison JL, Duband F. (1990).** Teneurs en principaux constituants de la feuille de frêne, *Fraxinus excelsior* L. *Plantes Médicinal Phytothérapie*. (24), 145-151

**Chang, Y. C., Lee, F-W., Chen, C. S., Huang, S. T., Tsai, S. H., Huang, S. H., and Lin, C. M. (2007).** Structure-activity relationships of C6-C3 phenylpropanoids on xanthine oxidoreductase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Free Radical Biology & Medicine*. (43), 1541-1551.

**Chalès, G. (2011).** De l'hyperuricémie à la goutte : épidémiologie de la goutte. *Revue du Rhumatisme*. (78), 109-115.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* (12), 564-582.

**Choi, H.K., Atkinson, K., Karlson, E.W., Willett, W., and Curhan, G. (2004a).** Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *The New England Journal of Medicine*. (350), 93-103.

**Choi, H.K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willett, W., and Curhan, G. (2004b).** Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. *Lancet*. (363), 77-81.

**Choi, H. K. (2010).** A prescription for lifestyle change in patients with hyperuricemia and gout. *Current Opinion in Rheumatology*. (22), 65-72.

**Cong-cong, S., Fei-fei, L., Lei, W., Mi, L., Guo-fei, L., Zhuo-lin, L., Wei-dong, L., and Ping-yi, X. (2012).** Association of serum uric acid levels with the progression of Parkinson's disease in Chinese patients. *Chinese Medical Journal*. (4), 583-587.

**Crespy, V., Morand, C., Besson, C., Manach, C., Demigne, C., Remesy, C., (2002).** Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (50), 618–621.

## *D*

---

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

**Delgado, M. E., Haza, A. L., Arranz, N., and Garcia Morales, P. (2008).** Dietary polyphenols protect against N-nitrosamines and benzo(a) pyrene-induced DNA damage (single-strand breaks and oxized purines/ pyrimidines) in HepG2 human hepatoma cells. *European Journal of Neuroscience in : Revue de Natrialpha*, numéro special des flavonoïdes. 1-10.

**Dubost, J. J., Mathieu, S., and Soubrier, M. (2011).** Traitement de la goutte. *La Revue de Médecine Interne*, (32), 751–757.

**Duflot, H. (2002).** *Le frêne en liberté*. 2e édition. Institut pour le développement forestier pp. 20-21.

## *E*

---

**Ea, H. K. (2011).** De l'hyperuricemie a la goutte : physiopathologie. *Revue du Rhumatisme*. (78), 103-108.



**Erlund, I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*. (24), 851-874.

**Erlund, I., Kosonen, T., Alfthan, G., Maenpaa, J., Perttunen, K., Kenraali, J., Parantainen, J., Aro, A., (2000).** Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology* (56), 545–553.

---

*F*

---

**Faure, S. (2010).** Les antigoutteux. *Actualités pharmaceutiques*. 495.

**Feig, D. I. (2012).** Hyperuricemia and Hypertension. *Advances in Chronic Kidney Disease*. (19), 377–385

---

*G*

---

**Gacche, R. N., Jadhav, S. G. (2013).** Antioxidant Activities and Cytotoxicity of Selected Coumarin Derivatives: Preliminary Results of a Structure-Activity Relationship Study Using Computational Tools. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. (3), 165-169

**Galati, E. M., Tripodo, M. M., Trovato A., Miceli, N., and Monforte, M. T. (2002).** Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste water. *Journal of Ethnopharmacology*. (79), 17-21.

**Garay, R .P., El-Gewely, R., Labaune, J-P., Richette P. (2012).** Perspectives des uricases dans la goutte. *Revue du rhumatisme*. (79), 17–22.

**Gdoura, N., Murat, J.D., Abdelmouleh, A., and Elfeki, A., (2013).** Effects of *Juniperus phoenicea* extract on uricemia and activity of antioxidant enzyme in liver, erythrocyte and testis of hyperuricemic (oxonate-treated) rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacologie*. (8), 416-425.

**Glantzounis G., Tsimoyiannis E., Kappas A., and Galaris D. (2005).** Uric acid and oxidative stress. *Curr. Pharm. Des.* (11), 4145-4151. In: **Gdoura, N., Murat, J.D., Abdelmouleh, A., and Elfeki, A., (2013).** Effects of *Juniperus phoenicea* extract on uricemia and activity of antioxidant enzyme in liver, erythrocyte and testis of hyperuricemic (oxonate-treated) rats. *African Journal of Phamarcy and Pharmacologie.* 7 (8), 416-425.

**Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2007).** *Ash, Faxinus excelsior.* editors. PDR for herbal medicines. 4th edition. Thomson. pp: 53-54.

---

## *H*

---

**Hancock, J. T., Salisbury V., Ovejero-Boglione M. C., Cherry R., Hoare C., Eisenthal, R., and Harrison, R. (2002).** Antimicrobial Properties of Milk: Dependence on Presence of Xanthine Oxidase and Nitrite. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* (46), 3308–3310.

**Haidari, F., Keshavarz, S., Mohammad-Shahi, M., Mahboob, S., and Rashidi, M. (2011).** Effect of parsley (*petroselinum crispum*) and its flavonol constituents, Kaempferol and Quercetin, on serum uric acid levels, Biomarkers of oxidative stress and liver Xanthine oxydoreductase activity in oxonate-nduced hyperuricemic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* (4), 811-819.

**Hale, A.L. (2003).** Screening potato genotypes for antioxidant, identification of the responsible compounds, and differentiating Russet Norkotah Strains using aflu and microsatellite marker analysis. *Genetics.* Office of Graduate Studies of Texas A&M University. P: 260.

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

**Hande, K. R., Noone, R. M., and Stone, W. J. (1984).** Severe allopurinol toxicity. Description and guidelines for prevention in patients with renal insufficiency. *American Journal of Medicine.* (76), 47-56.

**Harborne, J. B. (1989).** General procedures and measurement of total phenolics. In: Harborne *Methods in Plant Biochemistry.* Plant Phenolics. Academic Press. London. pp: 1-28.

**Harisson, R. (2002).** Structure and function of xanthine dehydrogenase : where are we now?. *Free Radical Biology & Medicine.* (33), 774–797.

**Harisson, R. (2006).** Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles. *International Dairy Journal.* (16), 546–554.

**Hatano, T., Yasuhara, T., Youshihara, R., Agata, I., Noro, T., and Akuda, T.(1990).** Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VII. Inhibitory effects of tannins a related polyphenols on xanthine oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* (5), 1224-1229.

**Hille, R., and Nishino, T. (1995).** Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal.* (9), 995-1003.

**Hille, R., Nishino, T., and Bittner, F. (2011).** Molybdenum enzymes in higher organisms. *Coordination Chemistry Reviews.* (255), 1179–1205.

**Hollman, P. C. H. (2004).** Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical Biology.* (42), 74–83.

**Horánszky A, Stohl G.** Oleoideae alcsaládja. (1976). Oleoideae subfamily. In: **Horánszky A, Stohl G.** *Uránia Növényvilág, Volume 2.* Gondolat Kiadó, Budapest. pp: 191-192.

**Hu Q. H., Zhang X., Wang X., Jiao R. Q., and Kong L. D. 2012 (2012).** Quercetin regulates organic ion transporter and uromodulin expression and improves renal function in hyperuricemic mice. *European Journal of Nutrition.* (5), 593-606.

**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*

---

**Jakupovic, J., Paredes, L., Bohlmann, F., and Watson, L. (1988).** Prenyl flavanes from *Marshallia* species. *Phytochemistry Journal.* (10), 3273-5.

---

*K*

---

**Kamatani, N., and Jinnab, H. A. (2007).** Purine and pyrimidine metabolism. *Elseiver Ltd.* (2), 2222-2247.

**Kanias, G.D., Loukis, A., and Philianos, S.M., (1979).** Trace element pharmacognostical study on diuretic drugs by neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical Chemistry* (54), 103–112.

**Khanbabaee, K., and Van Ree, T. (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports.* (18), 641–649.

**Kim, B. S., Serebreni, L., Hamdan, O., Wanga, L., Parniani, A., Sussan, T., Scott Stephens, R., Boyer, L., Damarla, M., Hassoun, P. M., and Damico, R. (2013).** Xanthine oxidoreductase is a critical mediator of cigarette smoke-induced endothelial cell DNA damage and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine.* Article in Press.

**Kostova, I., and Iossifova, T. (2007).** Chemical components of Fraxinus species. *Fitoterapia*. (78), 85–106.

**Kuo, C. Y., Kao, E. S., Chan, K.C. Lee, H. J., Huang, T. F., and Wang, C. J. (2012).** *Hibiscus sabdariffa* L. extracts reduce serum uric acid levels in oxonate-induced rats. *Journal of Functional Foods*. (4), 375-381.

**Kuwabara, Y., Nishino, T., Okamoto, K., Matsumura, T., Eger, B. T., Pai, E. F., and Nishino T. (2003).** Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 8170–8175.

---

## L

---

**Lee, H S., Park, S H., Wallander, E., and Chang, C. S. (2012).** A flavonoid survey of Fraxinus (Oleaceae) in eastern Asia, and the overlooked species Fraxinus hopeiensis T. Tang in northern China. *Biochemical Systematics and Ecology*. (41), 150–156.

**Leòn-Gonzalez, A. J., Truchado, P., Tomas-Barberan, F. A., Lopez-La zaro, M., Diaz Barradas, M. C., and Martin-Cordero, C. (2013).** Phenolic acids, flavonols and anthocyanins in Corema album (L.) D. Don berries. *Journal of Food Composition and Analysis*. (29), 58–63.

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

**Li, J. M., Zhang, X., Wang, X., Xie, Y. C., and 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.

**M**

---

**Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux*. Presses polytechniques et universitaires romandes.

**Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Billot, J. (1990).** *Fruit phenolics*. Chemical Rubber Company Press, Boca Rato.

**Marinello, E., Riario-Sforza, G., and Marcolongo, R. (1985).** Plasma follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and sex hormones in patients with gout. *Arthritis & Rheumatism*. (28), 127–31.

**Martin, M. H., Hancock, J. T., Salisbury, V., and Harrison, R. (2004).** Role of Xanthine Oxidoreductase as an Antimicrobial Agent. *Infection and Immunity*. (72) 4933–4939.

**Martin, M. A., Goya, L., and Ramos S. (2013).** Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer. *Food and Chemical Toxicology*. Article in Press.

**Maria, A. M., Goya, L., and Ramos, S. (2013).** Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer. *Food and Chemical Toxicology*. (16), Article in Press.

**Matsuo, H., Chiba, T., Nagamori, S., Nakayama, A., Domoto, H., Phetdee, K., Wiriyasermkul, P., Kikuchi, Y., Oda, T., Nishiyama, J., Nakamura, T., Morimoto, Y., Kamakura, K., Sakurai, Y., Nonoyama, S., Kanai, Y., Shinomiya, N., (2008).** Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *American Journal of Human Genetics*. (83), 744–751.

**Merriman, T.T., and Dalbeth, N. (2010).** Bases génétiques de l'hyperuricémie et de la goutte. *Revue du Rhumatisme Monographies*. (77), 328-334.

**Morand, C., Manach, C., Crespy, V., Remesy, C., (2000).** Respective bioavailability of quercetin aglycone and its glycosides in a rat model. *Biofactors* (12), 169–174.

**Murray, K. N., Watson, J. G., and Chaykin, S. (1966).** Catalysis of the direct transfer of oxygen from nicotinamide N-oxide to xanthine by xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry.* (241), 4798- 4801.

**Murugaiyah V., and Chen, K.L. (2009).** Mechanisms of antihyperuricemic effect of *Phyllanthus niruri* and its lignin constituents. *Journal of Ethnopharmacology.* (124), 233-239.

**Muscelli E., Natali A., Bianchi S., Bigazzi R., Galvan A. Q., Siroi A. M., Frascerra S., Ciociao D., and Ferrannini, A. (1996).** Effect of insuline on renal sodium and uric acid handling in essential hypertension. *American Journal of Hypertension.* (9), 746-752.

**Miric, D. J., Kistic, B. B., Zoric, L. D., Mitic, R. V., Miric, B. M., Dragojevic, I. M. (2012).** Xanthine oxidase and lens oxidative stress markers in diabetic and senile cataract patients. *Journal of Diabetes and Its Complications.* Article in Presss.

---

## O

**Olson, J.S., Ballou, D.P., Palmer, G., and Massey, V. (1974a).** The reaction of xanthine oxidase with molecular oxygen. *The Journal of Biological Chemistry.* (249), 4350-4362.

---

## P

**Pacher, P., Nivorozhkin, A., and Szabo, C. (2006).** Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews.* 58 (1), 87–114.

**Parmar, M. S. (2009).** Uric acid and cardiovascular risk. *New England Journal of Medecine.* (5), 360-539

**Pereira, D.M., Valentão, P., Pereira, J.A., and Andrade P. B. (2009).** Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*. (14), 2202-2211.

**Patterson, R. A., Horsley, E. T. M., Leake, D. S. (2003).** Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: important role of uric acid. *J. Lipid Research*. (44), 512-520.

**Prajda, N., and, Weber, G. (1975).** Malignant transformation-liked imbalance: decreased Xanthine oxidase activity in hepatomas. *Federation of European Biochemical Societies LETTERS*, (59), 245-249.

**Prat, D., Rampant, P.F., Prado, E. (2006).** *Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestières*. Institut nationale de la recherche agronomique. Paris p. 282.

**Priatno, L. H. A., Sukandar, E. Y., Ibrahim, S., and Adnyana, I. K. (2012).** Antiyperuricemic effect of ethanol extract of snake fruit (*Salacca edulis* reinw.) var. Bongkok on wistar male rat. *Journal of Food Science and Engineering*. (2), 271-267.

**Pruna, A., and Daudon, M. (2008).** Lithiase rénale. Elsevier Masson Consulter (Elsevier Masson SAS, Paris), *Urologie*, -D-10 :18-104.

## **R**

---

**Raju, R., Joseph, S., Scria, S., Mathews, S.M., and 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.

**Rameau, J. C., and Dumé, G. (1989).** *Flore forestière française* : Tome 1. Plaines et collines. Institut pour le développement forestier. pp: 457-459.



**Richette, P. (2011).** Goutte : mise en place et suivi du traitement hypo-uricémiant. *Revue du Rhumatisme*. (78), 142-147.

**Robert, A., and Terkeltaub, M. D. (2003).** Gout. *The New England Journal of Medicine*. (17), 1647-1655.

**Roddy, E., Menon, A., Hall, A., Datta, P., and Packham, J. (2013).** Polyarticular sonographic assesment of gout : A hospital-based-cross-sectional study. *Joint Bone Spine*. (3), 295-300.

**Romani, A., Campo, M., and Pinelli, P. (2013).** HPLC/DAD/ESI-MS analyses and anti-radical activity of hydrolyzable tannins from different vegetal species. *Food Chemistry*. (130), 214–221.

**Ruilope, L. M. (2012).** Antihypertensives in people with gout or asymptomatic hyperuricaemia. *British Medical Journal*. (344), 1-2.

## S

---

**Sapag, A., Frischling, E., and Laborde, H. (2012).** Déficit en hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase chez un patient avec une mutation MADRID II. *Revue du Rhumatisme*. (79), 570–572.

**Sarni-Manchado, P., and cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Collection sciences et technologiques en agroalimentaires. Edition (Tec et Doc), Paris, 398.

**Scalbert, A., and Williamson, G. (2006).** Dietary intake and bioavailability of selected acacia species leaves. *Animal Feed Science and Technolog.* (130), 2073-2085.

**Silanikove, N., and Shapiro, F. (2007).** Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: *Physiological and technological implications. International Dairy Journal.* (17), 1188–1194.

**Simic, M. G., and Jovanovic, S. V. (1989).** Antioxidation mechanisms of uric acid. *Journal of American Chemical Society.* (111), 5778-5782.

**Stamp, L. K., O'Donnell, J. L., and Zhang, M. (2011).** Using allopurinol above the dose based on creatinine clearance is effective and safe in patients with chronic gout, including those with renal impairment. *Arthritis Rheumatism.* (63), 412-21.

**Stavric, S. B., Clayman, Gadd, R.E.A., and Hébert, D. (1975).** Some *in vivo* effects in the rat induced by chlorprothixene and potassium oxonate. *Pharmacological Research Communications.* (7), 117-124.

**Stevens, C. R., Millar, T. M., Clinch, J. G., Kanczler, J. M., Bodamyali, T., and Blake, D. R. (2000).** Antibacterial properties of xanthine oxidase in human milk. *Research Letters.* 356-830.

**Stirpe, F., and Della Corte, E. (1969).** The regulation of rat liver xanthine oxidase – conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *The Journal of Biological Chemistry.* (244), 3855-3863.

**Su, J., Guo, C., Wei, J., Yang, J., (2002).** Study on the absorption of quercetin and rutin at different segments of intestine. *Wei Sheng Yan Jiu.* (31), 55–57.

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

**So, A., and Thorens, B. (2010).** Uric acid transport and disease. *The Journal of Clinical Investigation.* (6), 1791-1799.

*T*

**Takanoa, Y., Hase-Aokia, K., Horiuchia, H., Zhaob., L., Kasaharaa, Y., Kondoa S., and Becker, M. A. (2005).** Selectivity of febuxostat, a novel non-purine inhibitor of xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase. *Life Sciences*. (76), 1835–1847.

**Tapas, A., Sakarkar, D. M., and Kakde R. B. (2008).** Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. (3), 1089-1099.

**Temunovic, M., Franjic, J., Satovic, Z., Grgurev, M., frascaria-Lacoste, N., and Fernández-Manjarres, J.F. (2012).** Environmental heterogeneity explains the genetic structure of continental and mediterranean populations of *Fraxinus angustifolia* vahl. *PLOS ONE*. (7).

**Tietz, N. W. (1999).** *Test book of clinical chemistry*. 3éme edition. pp: 1245-1250.

**Tonon, G., Capuana, M., and Di Marco, A. (2001).** Plant regeneration of *Fraxinus angustifolia* by in vitro shoot organogenesis. *Scientia Horticulturae*. (87), 291-301.

V

---

**Vassault, A. (2007).** Urate. *Elsevier Masson Consulter* (Elsevier Masson SAS, Paris), *Biologie clinique*, 90-10-0950.

**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 stucture of flavonioids. *European Jornal of Pharmacology*. (451), 111- 118.

**Vorbach, C., Harrison, R., and Capecchi, R. M. (2003).** Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*. (24), 512-517.

W

---

**Wang, C. P., Wang, X., Zhang, X., Shi, Y. W., Liu, L., Kong, L.D. (2010).** Morin Improves Urate Excretion and Kidney Function through Regulation of Renal Organic Ion Transporters in Hyperuricemic Mice. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science.* (3), 411 – 427.

**Wanga, X., Wanga, C. P., Hua, Q. H., Lva, Y. Z, Zhanga, X., Yang, Z. O, Konga, L. D. (2010).** The dual actions of Sanmiao wan as a hypouricemic agent: Down-regulation of hepatic XOD and renal mURAT1 in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology.* (128), 107–115.

**Wallander, E. (2008).** Systematics of Fraxinus (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant Systematics and Evolution.* (273), 25–49.

**Whitehead, T.P., Thorpe, G. H. G., and Maxwell, S. R. J. (1992).** Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta.* (266), 265-277.

**Wu, X.W., Muzny, D.M., Lee, C.C., and Caskey, C.T. (1992).** Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution. *Journal of Molecular Evolution.* (34), 78–84.

Y

---

**Yammamoto, T., Moriwaki, Y., and Takahashi, S. (2005).** Effect of ethanol on metabolism of purine bases (hypoxanthine, xanthine, and uric acid). *Clinica Chimica Acta.* (356), 35-57.

**Yu K. H. (2007).** Febuxostat : A Novel non-purine selective inhibitor of xanthine oxidase for the treatment of hyperuricemia in gout. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. (1), 69-75.

**Z**

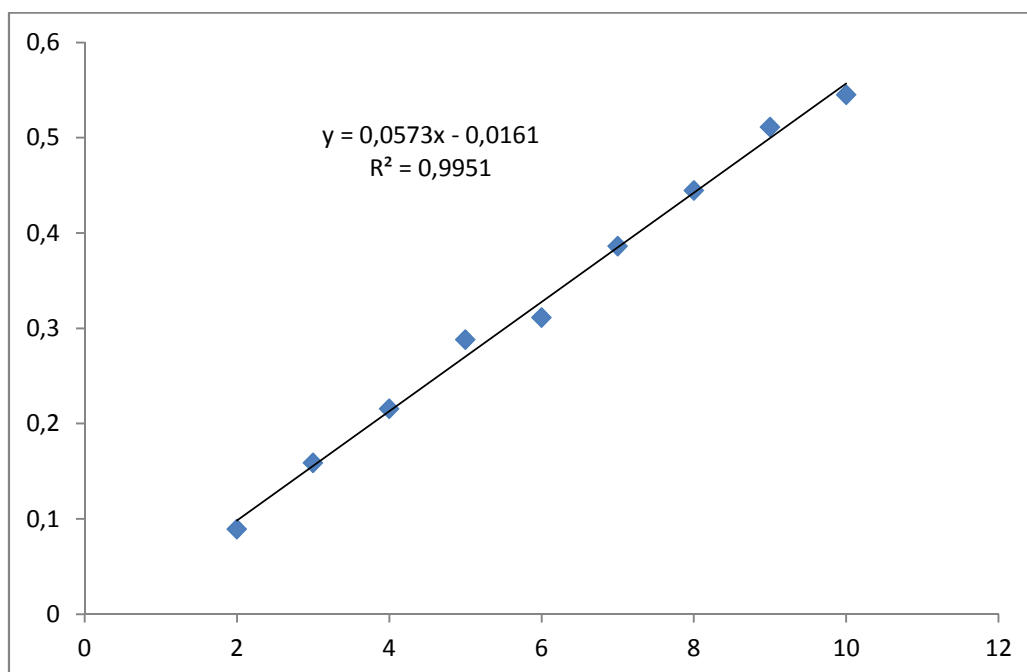
---

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

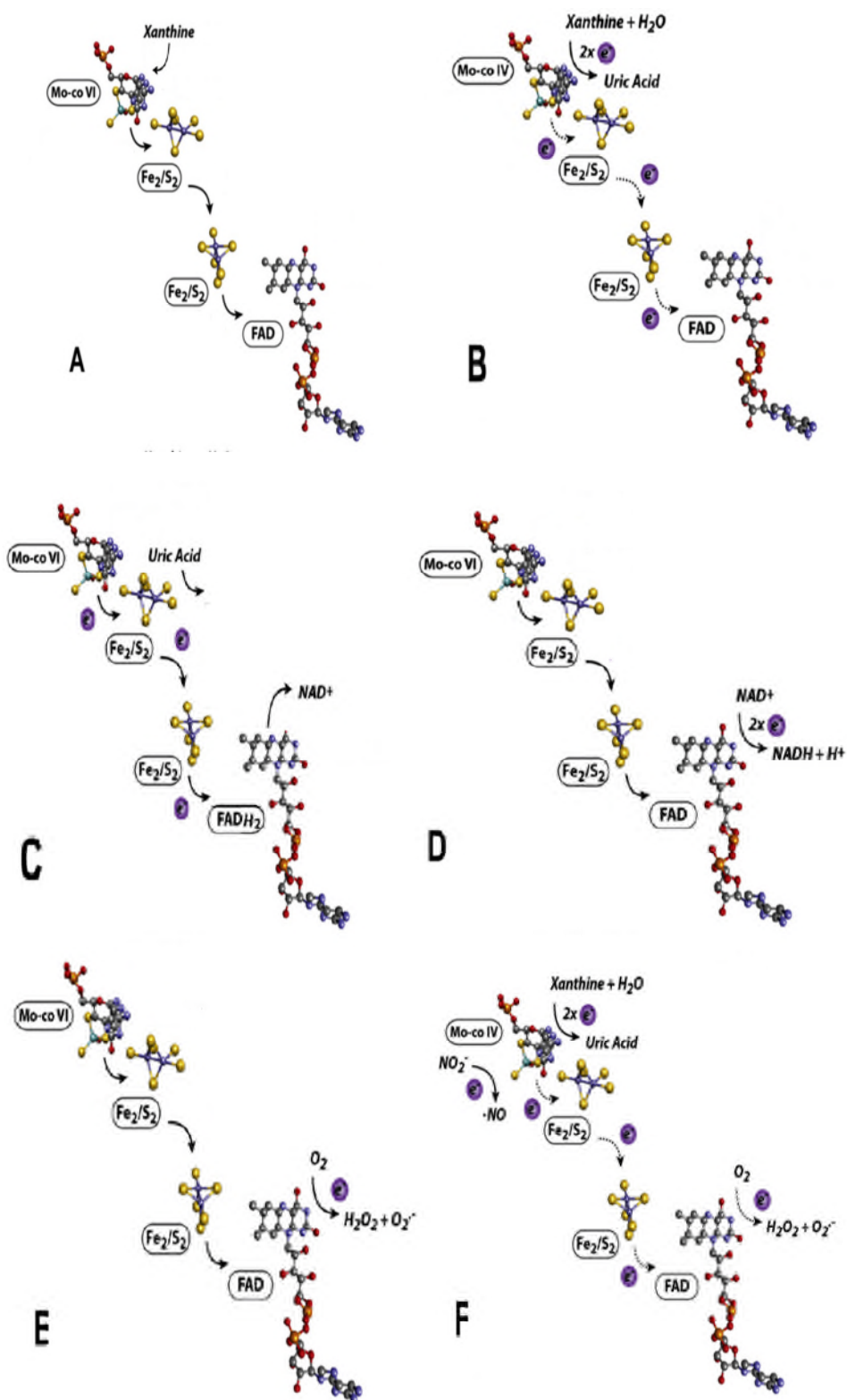
## Annexes

**Annexe 0I :** Tableau des teneurs en purines des principaux produits alimentaires (mg/100g) (Pruna et Daudon, 2008).

Origine	Nature	Type	Teneur		
Animale	Viandes		110-150		
		Abats	Rognons Foie	220-270 450-550	
	Poissons	Anchois		240	
		Thon à l'huile		290	
		Truite		300	
		Sardines		345	
		Sardine à l'huile		480	
		Sprat (harenguet) fumé		800	
		Végétale	Pois chiches secs		110
			Lentilles sèches, haricots blancs secs		125-130
Graines de soja			190		
Haricots mungo secs			220		



**Annexe II :** Courbe d'étalonnage établie par l'utilisation de la BSA pour le dosage des protéines



Annexe III : Mécanisme d'action de la XOR (Hille, 1996; Cantu-Medellin et Kelley, 2013, modifiée).

## Résumé

Dans cette étude, nous avons examiné les effets préventif et curatif de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* contre l'hyperuricémie sur des souris, ainsi que son potentiel inhibiteur sur l'activité de la xanthine oxydoréductase hépatique sous ses deux formes XO/XDH. L'administration orale de l'extrait à des concentrations différentes (100, 200 et 400 mg/Kg) a induit une baisse significative (50%) et sans dose dépendance des taux sériques d'acide urique chez les souris hyperuricémiques. Cependant, l'allopurinol a été plus efficace provoquant une atténuation du taux d'acide urique considérable (90%) atteignant un niveau au dessous de la normale. Un effet similaire a été visible chez les souris normales ce qui préconise un effet préventif de l'extrait de cette plante. D'autre part, l'extrait à des concentrations différentes (100, 200 et 400 mg/Kg) n'a exercé aucune inhibition sur l'activité de la XO/XDH suggérant l'implication d'autres mécanismes hypouricémians de l'extrait et expliquant en partie l'effet comparable observé entre les souris normales et hyperuricémiques.

**Mots-clés :** acide urique, hyperuricémie, xanthine oxydoréductase, *Fraxinus angustifolia*, uricosurique.

## Abstract

In this study, we examined the preventive and curative effects of the ethanolic extract of *Fraxinus angustifolia* against hyperuricemia on mice, as well as its inhibitory potential on hepatic XO/XDH activity. Oral administration of the extract at different concentrations (100, 200 and 400 mg/Kg) significantly reduced serum uric acid levels (50%) in hyperuricemic mice without dose-dependence. However, allopurinol was more efficient in attenuating serum urate levels to very low values (90%) reaching levels below normal. A similar effect was seen in normal mice which advocates a preventive effect of the extract. On the other hand, the different concentrations of the extract (100, 200 and 400mg/Kg) didn't exert any effect on XO/XDH activity suggesting the implication of other hypouricemic mechanisms of the extract and partly explain the observed comparable effect between normal and hyperuricemic mice.

**Key-words:** uric acid, hyperuricemia, xanthine oxydoreductase, *Fraxinus angustifolia*, uricosuric.