

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A /Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de physico-chimie

Mémoire de fin d'étude

Présenté pour obtenir le diplôme de Master II
En : Biologie
Option : Biochimie Appliquée

Par :

M^{lle} : LAHBIB Sonia

M^{lle} : KITOUNE Samia

Sous le thème

Activités antihyperuricémie et antixanthine oxydoréductase in vivo de l'extrait des feuilles de Pistacia lentiscus

Soutenu le : 13/06/2013

Membres de jury : Grade et lieu :

Président : M^{lle} Ayouni K

(M.A.A) à U.A.M de Béjaia

PROMOTEUR : M^{me} RAHMANI M

(M.A.A) à U.A.M de Béjaia

EXAMINATEUR 1 : M^{me} CHERAFT N

(M.A.B) à U.A.M de Bejaia

EXAMINATEUR 2 : M^{lle} TAHIRI O

(M.A.A) à U.A.M de Béjaia

2012-2013



REMERCIEMENTS

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre DIEU qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous voudrions remercier Madame RAHMANI-BERBOUCHA M, Maître assistante au département de Biologie, Université A/MIRA de Béjaïa, pour avoir accepté de nous encadrer, pour nous avoir ouvert les portes du laboratoire de Biochimie Appliquée et pour ses conseils très importants durant toute la période de cette recherche. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous remercies Mademoiselle AYOUNI K, Maître assistante à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université A/MIRA de Béjaïa, pour son aide et ses encouragements, et d'avoir accepté d'être présidente du jury de notre mémoire.

Nous remercions également Mademoiselle CHERAFT N. et Mademoiselle TAHIRI O, Maîtres assistantes à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université A/MIRA de Béjaïa, pour leurs conseils et leur aide, de faire partie de notre jury afin d'examiner ce travail.

Nous adressons également nos remerciements à Mademoiselle Naïma et Ouahiba, des ingénieurs en biologie, kensa et saliha des doctorantes en biologie ; au niveau du laboratoire pour leurs soutiens et aide durant la période de notre stage pratique. Merci !

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.





Dédicaces

Je dédie ce travail :

***A mes très cher parents, je leurs dédie avec fierté ce mémoire, qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'ils m'a tant réservé, je suis très reconnaissante.*

A toute ma petite famille surtout :

***Nacéra*

***A mes sœurs : Nassima, Lila, Soraya et mon petit frère Nadjim, pour leurs amour et soutient*

***A ma cher tante Djamila et leurs fils Ferhat et Razak et tante Farida pour leurs soins et leurs amour.*

***A mes cher cousins et cousines.*

***A mes cher amis ; surtout nassima et samira et ma grande famille chaqu'un avec son nom.*

***Sans oublié notre promotion Biochimie Appliquée*

SAMIA





Dédicaces

Avec l'aide du tout puissant ALLAH ;

J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie ;

**A la mémoire de mes chers grands-pères, Aissa et Bessaou et ma
Grand-mère Dhahbia.**

A ma grand-mère, Yamina, pour tes conseils et encouragement.

A tous les âmes les plus chers de ma vie, ma mère Rachida et mon père Rachid, qui furent mes premiers enseignants à qui je dois tout. Que ce travail soit pour eux, une modeste récompense pour tous les sacrifices qu'ils ont toujours consacrés à mon égard. Qu'il me soit donné d'être digne de toute affection et leur confiance. Je prie le grand Dieu de vous garder en bonne santé pour une

Longue vie et de m'aider à être toujours votre fiercé.

Je vous aime énormément.

A tous mes frères ;Aissa et sa femme Nassima, Khaled et Abdelouhab.

Et, Karim et sa femme Karima ainsi leur fil Abdelhakim.

Et Adel et sa femme Salima

Et mes sœurs : Zahida et Samira ainsi son marie Ahmed et leur fille Aya.

Pour les chères : Wafa et Nassima

Et tous mes amis et copines de chambre.

Enfin, à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué

A la réalisation de ce travail.

SONIA ; MOUMA





Dédicaces

Avec l'aide du tout puissant ALLAH ;

J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie ;

**A la mémoire de mes chers grands-pères, Aissa et Bessaou et ma
Grand-mère Dhahbia.**

A ma grand-mère, Yamina, pour tes conseils et encouragement.

A tous les âmes les plus chers de ma vie, ma mère Rachida et mon père Rachid, qui furent mes premiers enseignants à qui je dois tout. Que ce travail soit pour eux, une modeste récompense pour tous les sacrifices qu'ils ont toujours consacrés à mon égard. Qu'il me soit donné d'être digne de toute affection et leur confiance. Je prie le grand Dieu de vous garder en bonne santé pour une

Longue vie et de m'aider à être toujours votre fiercé.

Je vous aime énormément.

A tous mes frères ;Aissa et sa femme Nassima, Khaled et Abdelouhab.

Et, Karim et sa femme Karima ainsi leur fil Abdelhakim.

Et Adel et sa femme Salima

Et mes sœurs : Zahida et Samira ainsi son marie Ahmed et leur fille Aya.

Pour les chères : Wafa et Nassima

Et tous mes amis et copines de chambre.

Enfin, à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué

A la réalisation de ce travail.

Sonia, Mouma



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes très cher parents, je leurs dédie avec fierté ce mémoire, qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'ils m'ont tant réservé, je suis très reconnaissante.

A toute ma petite famille surtout :

***Nacéra*

***A mes sœurs : Nassima, Lila, Soraya et mon petit frère Nadjim, pour leurs amour et soutient*

***A ma cher tante Diamila et leurs fils Ferhat et Razak pour leurs soins et leurs amour.*

***A mes cher amis et ma grande famille chaqu'un avec son nom.*

***Sans oublié notre promotion Biochimie Appliquée*

SAMIA



Liste des abréviations

ADN : Adénosine DiNucléotide.

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdienne.

APRT : l'Adénine PhosphoRibosyl Transférase.

AU : Acide Urique.

BSA : Albumine du Sérum Bovine.

C1 : Carbone.

CMC : Concentration Micellaire Critique.

DAHP : 3-désoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate.

EDTA : Ethylène diamine tetraaceticacid.

EGC : Epigallocatechine.

EGCG : Epigallocatechine gallate.

E-PF : Extraits de feuille de *Pistacialentiscus*.

EPSP : 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate.

ERA : Espèces Réactif Azotée

ERO : Espèces Réactif Oxygénées

FAD : Flavine adénine dinucléotide.

Fe /S: Fer/Soufre.

HCl : Acide HydroChlorique.

HGPRT : Hypoxanthine Guanine PhosphoRibosyl Transférase.

HHDP : Acide HexaHydroxyDiPhénique.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₃PO₄ : Acide OrthoPhosphorique.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %.

IP : Intra-Péritonéal.

K_i : Constante d'Inhibition

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide (oxydé).

NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide (réduit).

NO[·] : Oxyde nitrique

O₂^{·-} : Superoxyde.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

OP : Oxonate de Potassium.

PCT : Tubule Compliqué Proximal.

PF : *Pistacia* Feuille.

PM : Poids moléculaire.

S.E.M : Erreur Moyenne Standard

XDH : Xanthine déshydrogénase.

XO : Xanthine Oxydase.

XOI : Inhibiteur de la Xanthine Oxydase.

XOR : Xanthine oxydoréductase.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Les médicaments qui abaissent la concentration d'acide urique dans le sérum	9
II	Différentes plantes médicinales utilisées dans l'inhibition de l'activité de l'enzyme (XOR)	11
III	Effet des extraits éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> , oxonate de potassium et allopurinol sur l'activité de la xanthine oxydase (XO) et xanthine déshydrogénase (XDH) dans le foie des souris.	26

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Structure de l'acide urique	2
02	Schéma de la synthèse de l'acide urique	3
03	Structure de la XOR	4
04	Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydoréductase	5
05	Mécanisme proposé pour la dégradation de nucléotide d'adénine pendant le métabolisme d'éthanol	8
06	Effets d'inhibition de l'allopurinol et de son métabolite, oxypurinol, sur les étapes finales du métabolisme de purine	9
07	Photographie originale des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	12
08	Structure de l'acide digallique	14
09	Schéma générale des flavonoïdes	14
10	Structure d'une flavonol	15
11	Structure des catéchines	15
12	Schéma d'une anthocyanine	16
13	Photographie originale de la voie intrapéritonéale et de la voie orale (gavage)	20
14	Photographie qui montre le sacrifice et la récupération de sang	21
15	Photographie originale d'une dissection d'une souris et d'une récupération de foie	22
16	Effet de l'administration oral des extraits éthanoliques de <i>Pistacialentiscus</i> dans le sérum chez des souris traité préalable par l'oxonate de potassium	25

17	Effet de l'administration oral des extraits éthanoliques de <i>Pistacialentiscus</i> et d'oxonate de potassium par voie IP sur le niveau d'acide urique dans le sérum des souris normales.	26
-----------	--	-----------

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 01

Partie I : Synthèse bibliographique

I.1. Acide urique..... 02

I.2. Xanthine oxydoréductase (XOR)..... 04

I.3. Hyperuricémie..... 07

I.4. Thérapie de l'hyperuricémie 08

I.5. Présentation du *pistachier lentisque* 12

I.6. Métabolites secondaires de *Pistacialentiscus* 13

Partie II : Partie pratique

I.1. Matériel utilisé 18

II.1.1. Produits chimiques et réactifs..... 18

II.1.2. Animaux de laboratoire 18

II.1.3. Matériel végétale 18

II.2. Méthodes 18

II.2.1. Extraction et préparation des extraits 18

II.2.2. Test de l'activité hypouricémiante 19

II.2.3. Analyse statistique 23

Partie III : Résultats et discussion

III.1. Résultats	24
III.1.1. Activité hypouricémiant chez des souris normales	24
III.1.2. Activité hypouricémiant chez des souris traitées avec l'oxonate de potassium.....	25
III.1.3. Activité inhibitrice de la XO/XDH	26
III.2. Discussion	27
Conclusion.....	32
Références bibliographiques	33
Annexes	

Introduction générale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis les premières années de l'évolution de l'Homme, dans le traitement de divers genres de maladies, grâce à leurs constituants bioactifs qui servent comme des agents thérapeutiques alternatives, ou choix plus surs, ou dans quelques cas, comme le seul traitement efficace (**Mohamad et Daradka, 2009**).

Pistacia lentiscus est une plante médicinale douée de plusieurs activités biologiques notamment l'activité antioxydant (**Barotto et al., 2003**), l'activité antifongique (**Abbas et al., 2013**), l'activité diurétique (**Benachour et Benab, 2012**) et inhibe l'activité de XO lors de la goutte (**Berboucha et al., 2010 ; Bhourri et al., 2010**), cette dernière pourrait être à l'origine d'une activité antihyperuricémique *in vivo* et *in vitro*.

L'intérêt porté à l'acide urique responsable de l'hyperuricémie, pour être le facteur de risque principal pour le développement des maladies humaines telles que l'hypertension artérielle, la maladie rénale chronique et plus important dans le développement de goutte ; est un sous produit de la métabolisme des purines catalysé par la xanthine oxydoréductase (**Hassan et Gilbert., 2011. Ribeiro et al., 2012**).

La première approche thérapeutique de la goutte est d'utiliser des inhibiteurs de la xanthine oxydase comme l'allopurinol, qui est un puissant inhibiteur synthétique de la XOR (**da Silva et al., 2004**). Cet inhibiteur présente plusieurs effets secondaires indésirables comme les hépatites et les réactions allergiques (**Kong et al., 2000**), d'où l'importance de trouver de nouvelles molécules naturelles susceptibles d'être mieux tolérées par l'organisme, dont les plantes constituent une source potentielle de ces dernières. Ces inhibiteurs naturels sont des composés phénoliques qui incluent: les phénols simples, les acides cinnamiques, les flavonoïdes, les coumarines et les tannins (**Nacz et Shahidi, 2004**).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antihyperuricémique *in vivo* de *Pistacia lentiscus*, qui est riche en métabolites secondaires.

I.1.Acide urique

I.1.1. Présentation del'acide urique

L'acide urique (2,6,8-trihydroxypurine ou urate) c'est un composé organique de formule chimique $C_5H_4N_4O_3$ (**fig.1**) (**Giesecke et Tiemeyer,1984 ;Lippi et al., 2008**). A la température corporelle, il est très peu soluble dans le sérum. 98% est sous forme d'un anion urate(urate monosodique) au pH physiologique ; plus soluble que l'acide urique lui-même(**Ira, 2006; Bennesser et al., 2010; Hassan et Gilbert, 2011; Sekli, 2011**).

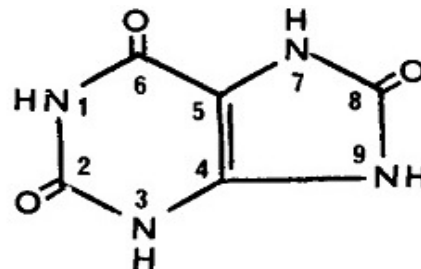


Figure 1 : Structure de l'acide urique (**Harparkash et Barry, 1990**).

Majoritairement trouvé dans l'urine, mais également dans d'autres fluides biologiques tels que le sang et la salive (**Perello et al., 2005**).

I.1.2. Métabolisme de l'acide urique

L'acide urique est le produit final de la voie métabolique des purines, qui est résumée dans la (**fig.2**)(**Chales et Guggenbuhl, 2005 ; Bennesser et al., 2010**) et démontre trois points :

- La contribution au pool miscible de l'acide urique est assurée seulement par l'ingestion des purines d'origine alimentaire et la synthèse endogène des nucléotides puriques dans le processus de biosynthèse de *novo*, consommateur d'énergie (6 moles d'ATP pour chaque mole d'IMP générée). L'enzyme clé est la phosphoribosyl pyrophosphate transférase(**Lafforgue et Legré, 2005 ; Alaoui et al., 2010; Richette et Bardin, 2010 ; Camponovo, 2011**).
- La biosynthèse des ribonucléotides puriques selon la voie d'épargne ou de recyclage (épargne d'énergie) grâce à deux enzymes: l'Adénine PhosphoRibosyl Transférase (APRT) et l'Hypoxanthine Guanine PhosphoRibosyl Transférase (HGPRT).Elle est efficace (récupération de 90 % des purines libres) (**Bennesser et al., 2010 ; Richette et Bardin, 2010**).
- La xanthine oxydase qui joue un rôle clé, responsable de la conversion de l'hypoxanthine (un oxyde) en xanthine (un dioxypurine) puis en acide urique (un trioxypurine) (**Bowman et Rand, 1980 ; Ira, 2006 ; Alaoui et al., 2010 ; Hassan et Gilbert, 2011**).

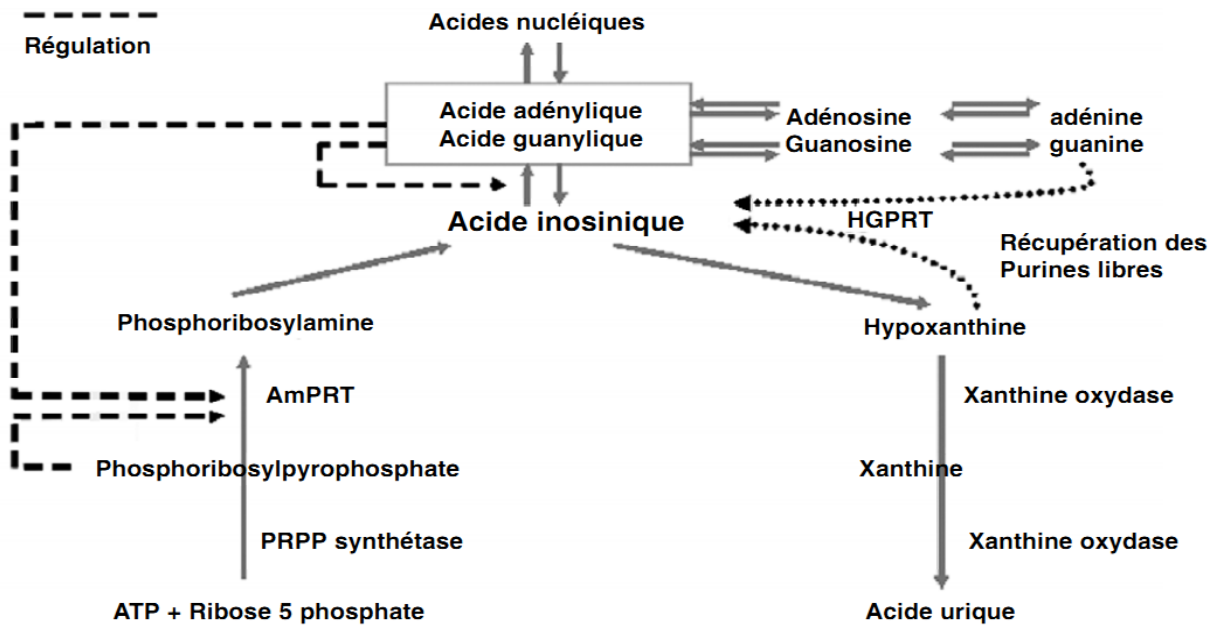


Figure 02 : Schéma de la synthèse de l'acide urique (Bennesseretal., 2010).

I.1.3. Excrétion rénal d'acide urique

L'excrétion rénale d'acide urique est donc un point clé à étudier pour la compréhension de la goutte. Cette étude est difficile du fait de la complexité des mécanismes et de leur variabilité d'une espèce à l'autre. En effet son excrétion implique l'appareil gastro-intestinal et les reins (le tubule compliqué proximal (PCT) et le glomérule), avec un tiers et deux-tiers, respectivement fournissant ainsi, un mécanisme homéostatique qui tend à réduire au minimum la réponse hyperuricémique (Wilcox, 1996 ; Hassan et Gilbert, 2011).

Chez l'Homme, la réabsorption nette d'acide urique vers le sang prédomine, en raison de la moindre excrétion d'acide urique filtré au niveau du glomérule. Cet échange rénal est médié par des molécules spécialisées exprimées par les cellules tubulaires proximales, comprenant les transporteurs GLUT9 (SLC2A9) et URAT1 (SLC2A12) (Enomoto et al., 2002 ; Graessler et al., 2006).

La filtration glomérulaire est réalisée à 100%, avec une réabsorption tubulaire de 90% menant seulement à 8-12% de l'acide urique excrété par le rein (Ira, 2006 ; Merrimana et Dalbeth, 2010 ; Hassan et Gilbert, 2011).

I.2.Xanthine oxydoréductase (XOR)

I.2.1. Définition et structure de la XOR

La xanthine oxydoréductase est une molybdoflavoprotéine (Hille et Massey, 1982 ;Mendel *et al.*, 2003), codée par un gène situé sur le chromosome 2p22, chez l'Homme (Brothman *et al.*, 1994), par contre chez la souris, il est situé sur le chromosome 17 (Cazzaniga *et al.*, 1994).

La XOR est constituée de deux sous unités identique de 150Kda (Carpani *et al.*, 1990 ; Eger *et al.*, 2000). Chaque sous unité contient quatre centres redox, comprenant : un centre molybdopterine de 85 KDa, situé à l'extrémité C-terminal, deux centres non identiques de Fe_2S_2 de 20 KDa situés à l'extrémité N-terminal et le FAD de 40 KDa, qui se localise dans la portion intermédiaire (fig. 3) (Eger *et al.*, 2000).

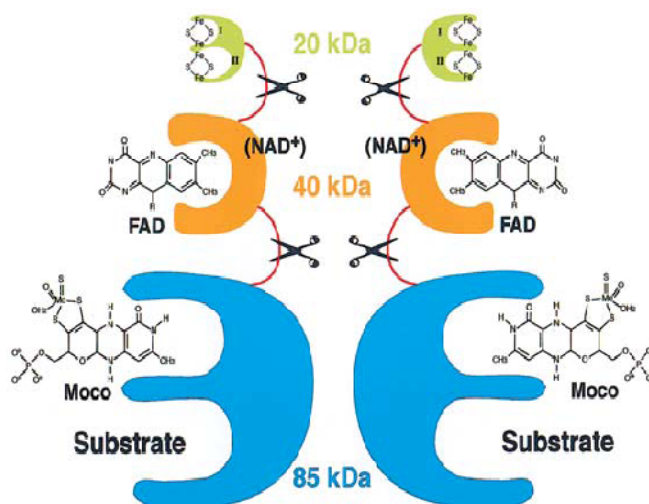


Figure 3: Structure de la XOR (Eger *et al.*, 2000)

I.2.2. Inter-conversion xanthine déshydrogénase / oxydase

La XOR existe sous deux formes: une forme déshydrogénase, EC 1.1.1.204 (XDH ou D), qui peut être converti en oxydase, EC 1.1.3.22(XO ou O). La conversion de la forme D à la forme O se fait soit par un traitement protéolytiques, tels que la trypsine et la pancréatine qui conduit à la formation d'une forme "O" irréversible ou par l'oxydation des groupements sulfhydriles (SH) (conversion réversible) (Corte et Stirpe, 1968 ; Corte et Stirpe, 1972; Eger *et al.*, 2000). Cette enzyme existe dans la plupart des tissus des mammifères sous forme déshydrogénase (Berry and Hare, 2004).

I.2.3. Distribution de la XOR

Elle est largement répartie dans le foie, l'intestin grêle (**granger et Parks, 1986**) et dans les glandes mammaires (**Linder et al., 1999**), comme elle a été aussi identifiée dans des tissus cardiaque de bovins et de souris (**Jarasch et al., 1986 ; Muxfeldt et Schaper, 1987 ; Bos et al., 1990**).

La XOR est également présente dans le lait bovin, en quantité élevées, dans lesquels, elle a été pour la première fois purifiée, il y a plus de soixante ans et qui demeure la source majeure de cette enzyme si bien étudiée (**Benboubetra et al., 1998**). Elle est aussi répartie chez d'autres espèces, à savoir les oiseaux et les plantes (**Kooij et al., 1994**).

I.2.4. Mécanisme enzymatique

La XOR catalyse l'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (urate) en utilisant le dioxygène comme accepteur d'électrons. En plus de la xanthine, un large spectre d'hétérocycles aromatiques et des aldehydes simples sont utilisés comme substrat de réduction par la XOR, l'oxygène sert seulement de substrat d'oxydation (**Ghisla et Massey, 1989**).

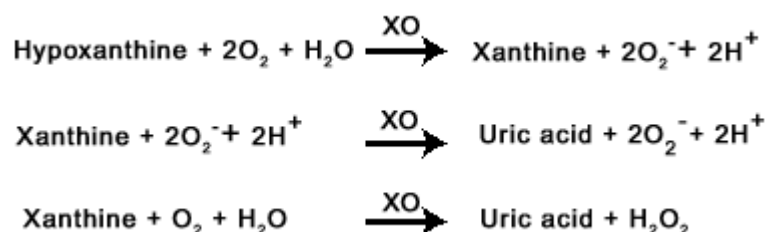


Figure 4: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydoréductase (**Blanchard et al., 2004**).

Le mécanisme réactionnel de la XOR est constitué de deux demi-réactions indépendantes; réductrice et oxydative. La demi-réaction réductrice a lieu au site molybdène (Mo) où la XOR accepte deux électrons du substrat (xanthine), réduisant le Mo (VI) au Mo (IV) (**Dempski et al., 1999**), et oxydant la xanthine en acide urique. Les électrons sont transférés rapidement du centre Mo au FAD, via les deux centres Fe/S (**fig. 4**) (**Bray et al., 1979**).

Contrairement à la réaction demi-réductrice, la réaction demi-oxydative a lieu au site FAD (**Hille et Nishino, 1995**), qui transfère des électrons entre le centre molybdoptérine et le FAD, par l'intermédiaire du centre Fe₂-S₂ aux accepteurs physiologiques (O₂ et/ou NAD⁺)

(Hille et Massey, 1981). La réoxydation de l'enzyme réduite permet d'oxyder l'oxygène moléculaire en $O_2^{\bullet -}$ et en H_2O_2 (Ballou et al., 1974 ; Hille et Massey, 1981 ; Anderson et Hille, 1991).

Le Mo et le FAD peuvent retenir plus de deux électrons chacun, alors que, les centres Fe/S peuvent accepter seulement un seul électron, de cette façon la XO porte au total six électrons dans le site actif sous des conditions fortement réductrices (Ballou et al., 1974 ; Hille et Massey, 1982).

I.2.5. Effet physiologique et pathologique de la XOR

a. Rôle physiologique

La XOR est l'enzyme clé du catabolisme des purines en oxydant l'hypoxanthine en xanthine puis cette dernière en acide urique (Hille et Nishino, 1995). Elle contribue également dans la transduction du signal, par l'intermédiaire des espèces réactives de l'oxygène (Bulkley et Meneshian, 2002 ; Brayt et Harrison, 1997). Ces dernières sont aussi à l'origine de la défense contre les micro-organismes, dans les organes et les liquides corporels (Mendel et al., 2003), aussi bien, chez les enfants qui reçoivent le lait maternel, riche en XOR, développent moins la gastroentérite (Blake et al., 2000).

b. Rôle pathologique

La XOR est la source potentielle des espèces réactives oxygénées (ERO), qui cause la peroxydation lipidique, perturbant ainsi l'architecture des membranes et libérant les enzymes lysosomiales (Weiss, 1986), l'oxydation de l'ADN, et le dysfonctionnement des enzymes (Kehrer, 2000).

Les espèces réactives de l'azote (ERN), Notamment l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}) (Benjamin et al., 1998), qui est à l'origine de la formation de la peroxy-nitrite ($ONOO^{\bullet}$) (Chumleey et al., 1998), est impliqué dans la nitration des résidus tyrosine (Akaike et al., 2000), qui mène au dysfonctionnement des protéines et conduisant par conséquent à différentes maladies cardiovasculaires, y compris la myocardite auto-immune et l'hypertension (Turko et Murad, 2002).

Au cours du métabolisme de l'AU, l'hyperactivité de la xanthine oxydase qui catalyse l'étape finale, induit à une hyperproduction de l'acide urique, qui joue un rôle crucial dans l'hyperuricémie, ainsi dans la goutte (Bowman et Rand, 1980).

L'hyperuricémie est une simple anomalie biologique (anomalies de métabolisme des purines et/ou anomalie d'excrétion rénale). C'est un facteur de risque pour la goutte (Cameron *et al.*, 1986 ; Aiyer et Alderman, 2004).

I.3. Hyperuricémie

I.3.1. Définition et épidémiologie

L'uricémie normale est définie par un taux d'acide urique compris, chez l'homme entre 50 et 60 mg/l (420 µmol/L) de 5 à 20%, et chez la femme entre 40 et 50 mg/l (360 µmol/L) de 3 à 5%, avec un écart type d'environ de 10, tandis que l'hyperuricémie se traduit comme une concentration plasmatique de l'acide urique supérieur à 70 mg/l (420 µmol/l) (Lafforgue et Legré, 2005 ; Boussellier, 2008 ; Bennesser *et al.*, 2010).

L'hyperuricémie varie selon les populations, l'âge et le sexe. Elle existe de 2,5 à 5% dans la population générale, mais elle est plus fréquente chez l'homme ; (5 à 20%) que chez la femme (3 à 5%). Aussi, chez les sujets âgés avec 4.1% et qui touche les vieux plus de 75 ans. Seul 10% des hyperuricémies évolue vers une goutte (Lafforgue et Legré, 2005 ; Bardin, 2007 ; Richette et Bardin, 2010).

Les taux sériques d'urate dépassent la limite de la solubilité, mènent à la cristallisation de l'urate de sodium dans les tissus mous et les articulations, formant ainsi des dépôts, appelés «microtophus», qui sera phagocyté par les polynucléaires neutrophiles et libèrent des enzymes lysosomiales, à caractère pro-inflammatoire, ainsi que d'autres médiateurs de l'inflammation (Bardin, 2007).

I.3.2. Origines de l'hyperuricémie

- L'hyperexpression de la XOR (Bennesser *et al.*, 2010).
- L'altération de l'excrétion rénale de l'acide urique (Richette et Bardin, 2010; Huang *et al.*, 2011).
- L'obésité, l'âge sont des facteurs connus pour influencer la concentration et la solubilité de l'urate monosodique (Tetsuya *et al.*, 2005 ; Ernst et Fravel, 2009).
- Déficit de la HPRT, dû à une mutation ponctuelle liée au chromosome X au niveau de l'exon 3 et qui change le codon CGT en CAT (48 arg>his) (Allen et Rice, 1996 ; Inokuchi *et al.*, 2004 ; Sapag *et al.*, 2013).

- Mutations des protéines impliquées dans le métabolisme d'urate, particulièrement de la xanthine oxydase (XO) (Lippi et al., 2008).
- Des médicaments qui sont inducteurs de l'hyperuricémie comme les cyclosporines A, Cytolytique et d'autre qui sont sporadiquement incriminés comme Antiulcéreux (omeprazole, anti-H2), Antirétroviraux...etc(Legré et al., 2002).
- Une ingestion excessive du fructose et de l'éthanol (fig. 5). Ce processus n'est pas régulé et se poursuit tant que le fructose et l'éthanol persiste (Tetsuyaetal., 2005 ; Bardina et Cohen-Solalb, 2011).

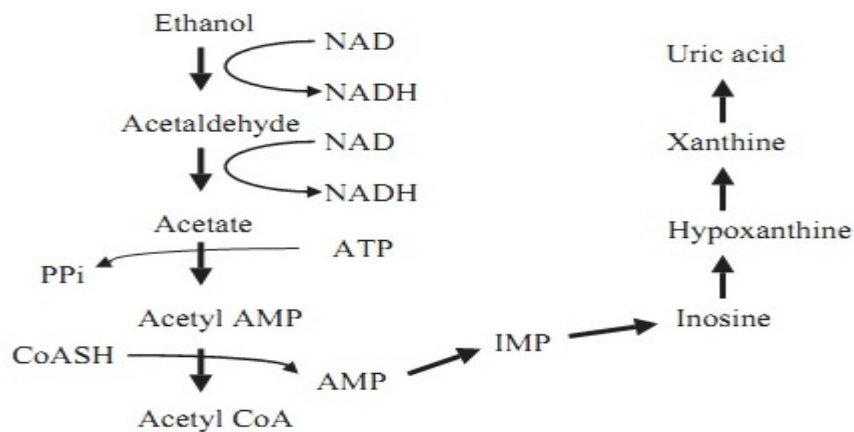


Figure 5 : Mécanisme proposé pour la dégradation de nucléotide d'adénine pendant le métabolisme d'éthanol (Tetsuya et al., 2005).

I.4. Thérapie de l'hyperuricémie

I.5.1. Traitement par des médicaments

La raison principale d'employer la thérapie hypouricémiante est d'empêcher les complications communes à long terme (Falasca, 2006 ; Boussellier, 2008).

Cette thérapie consiste à l'utilisation des médicaments, qui ont une action soit inhibitrice sur la (XO), soit favorisant l'excrétion rénale ou soit les deux à la fois dans le cas de goutte chronique et les maladies, comme le démontre le tableau I (Vikneswaran et Kit-Lam, 2009 ; Richette et Bardin, 2010).

Tableau I: Médicaments qui abaissent la concentration d'acide urique dans le sérum.

Agents inhibiteurs de la (XO)	Agents uricosuriques	Autres agents
<ul style="list-style-type: none"> • Allopurinol • Febuxostat 	<ul style="list-style-type: none"> • Probenecide • Sulfinpyrazone • Benzbromarone 	<ul style="list-style-type: none"> • Colchicine • Citrate • Salicylates (dose élevée) • AINS

Généralement, les deux agents hypouricémiques prescrits sont l'allopurinol et le probenecide, car ils possèdent peu d'effets secondaires (Umamaheswari *et al.*, 2007; Richette et Bardin, 2010). Le Febuxostat peut bientôt fournir une troisième alternative (Falasca, 2006).

A. Mécanisme d'action d'allopurinol et de febuxostat

L'allopurinol est employé comme la première ligne thérapeutique en raison d'une combinaison entre l'agréabilité, l'efficacité, la facilité d'administration, et d'un profil d'effet secondaire raisonnable (Richette et Bardin, 2010) et empêche aussi la formation du ERO (Kuo *et al.*, 2012).

L'allopurinol et son sous-produit oxydé, oxypurinol, sont des analogues structuraux d'hypoxanthine et de xanthine, respectivement (fig. 6), avec une inhibition compétitive de la XO, en bloquant l'interaction entre lui et son substrat, au niveau du site molybdène ainsi la biosynthèse de l'AU (Massey *et al.*, 1970 ; Ernst et Fravel, 2009).

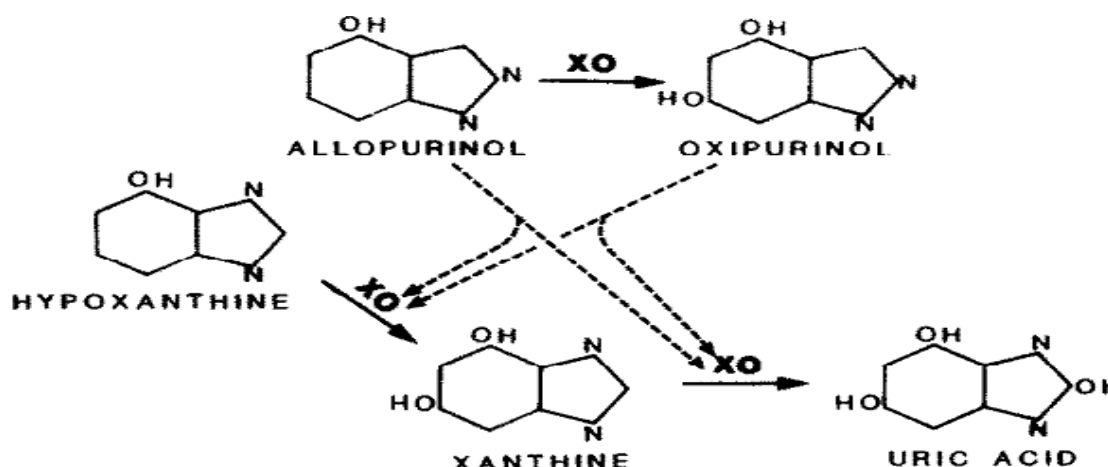


Figure 06 : Effets d'inhibition de l'allopurinol et de son métabolite, oxypurinol, sur les étapes finales du métabolisme de purine (Simmonds *et al.*, 1986).

B. Mécanisme d'action de febuxostat

Le Febuxostat n'est pas un analogue structural des purines, mais c'est un inhibiteur beaucoup plus sélectif, avec une affinité pour les deux formes de la XOR. Aussi, il possède une activité inhibitrice sur d'autres enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide urique (Ernst et Fravel, 2009 ; Dubost et al., 2011).

Cependant, ces deux médicaments ont quelques effets secondaires indésirables, tels que les problèmes d'hypersensibilité, le syndrome de Stevens-Johnson, hépatotoxicité et la toxicité rénale (Wang et al., 2010). Par conséquent, la recherche de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase (XOI) serait bénéfique non seulement pour traiter l'hyperuricémie et la goutte, mais aussi pour combattre également les diverses autres maladies, telles que l'hyperglycémie, l'inflammation et le rhumatisme, par l'utilisation des plantes médicinales (Zhu et al., 2004 ; Umamaheswari et al., 2007).

I.5.2. Traitement par des extraits naturels

Les plantes médicinales sont une source importante de la recherche des nouvelles drogues médicalement importantes, telles que la morphine, atropine et digoxine. De nombreuses études ont démontré que les effets des plantes médicinales qui sont utilisées dans le traitement de la goutte ont été basées, au moins en partie, sur l'action inhibitrice de la (XO). Quelques exemples d'extraits de plantes à effet inhibiteur de la XO, sont illustrés dans le tableau II (Cheng et al., 2000 ; Vikneswaran et Kit-Lam, 2009).

Tableau II: Différentes plantes médicinales utilisées dans l'inhibition de l'activité de l'enzyme (XOR).

Familles/ Espèces	Parties d'extrait	Composés phénoliques	Inhibition (%) et/ou IC ₅₀	Origines	Réf.
Cupressaceae/ <i>Biotaorientalis</i>	Feuilles	Flavonoïdes	43.38± 46.52	Sichuan, Chine	Zhu et al., 2004.
Anacardiaceae/ <i>Pistaciaintegerrima</i>	Feuilles	Polyphénols, tanins et flavonoïdes	IC ₅₀ >100µg/ml	Subalpine (Hima-laya)	Ahmad et al., 2008.
Euphorbiaceae/ <i>Phyllanthus niruri</i>	Feuilles	Lignans	76.84±2.01 IC ₅₀ = 39.39µg/ml	Malaisie	Murugaiyah et Chan, 2009.
Liliaceae/ <i>Smilax china</i>	Rhizome de porcelaine	saponines stéroïdales	56.21± 2.67 IC ₅₀ = 44µM	Chine	Chen et al., 2011.
Loganiaceae/ <i>Strychnos nux-vomica</i>	Feuilles	triterpènes	72.5± 0.2 IC ₅₀ = 7.75µg/ml	Indian	Umamahes-warietal., 2007.
Lamiaceae/ <i>Hyptisbrevipes</i> Poit.	Racines	flavonoïdes, coumarines et polyphénols	=99 IC ₅₀ = 6.2µg/ml	Amerindians (panama)	González, et al., 1995.
Lauraceae/ <i>Cinnamomum cassia</i>	Branches	Extrait méthanolique	=10.3 et =5.2 IC ₅₀ = 58µg/ml	Chine	Kong et al., 2000.
<i>Cinnamomumcassia</i>	Branches	glycosides phénolique, C.A. de cinnacasolide	IC ₅₀ = 7.8 à 36.3 µg/mL	/	Bae et al.,2012

Pistacia lentiscus est parmi les plantes médicinales, rapportée à avoir plusieurs activités biologiques, grâce à sa richesse en molécules biologiquement actives, tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, qui se sont révélées d'après plusieurs études, à la base d'un traitement pour les différentes maladies.

Berboucha et ses collaborateurs (2010), ont démontré que ces feuilles inhibent la XO à $30.52 \pm 6.10\%$ ($IC_{50}=27.52\mu\text{g/ml}$). Mais l'activité antihyperuricémique qui se base, en partie, sur l'inhibition de la (XOR) n'est pas encore réalisée, d'où l'originalité de ce travail.

I.5. Présentation du *pistachier lentisque*

I.5.1. Classification taxonomique

Pistacia lentiscus appartient à la famille des Anacardiaceae (syn. Pistaciaceae). En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistaciaterebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Quezel et Santa, 1962**).

Classification actuelle : (Ansari et al., 2012).

- **Règne:**Plantae
- **Embranchement** :Spermatophyta
(Angiospermae)
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** :Dicotyledones
- **Ordre:**Sapindales
- **Famille** :Anacardiaceae (Pistaciaceae)
- **Genre** : Pistacia
- **Espèce** : *Pistacialentiscus*
- **Nom binomial** : *Pistacialentiscus* L.



Figure 07 :Photographie originale des feuilles de *P. lentiscus*

I.5.2. Caractères botaniques

Pistacialentiscus généralement connu sous le nom d'arbre de mastic (**Bruneton, 2001**), et sous le nom de tidekt (chez certaines tribus berbères). C'est un arbuste qui s'étend jusqu'à 3 à 4 mètres de hauteur (**Baba Aissa, 1999 ; Alloune et al., 2012 ; Mezni et al., 2012**), a une odeur résineuse forte et a une écorce lisse et grise; des feuilles persistantes, composées, alternes pourvues d'un pétiole ailé (**fig.7**). Les fleurs en grappes spiciformes, denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égal au plus la longueur d'une foliole. Le fruit petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité (**Yahya, 1992 ; Iserin, 2001 ; More et White, 2005**).

I.5.3. Distribution

Le Pistacier lentisque est largement distribué dans toute la région méditerranéenne (**Mezni et al., 2012**), qui est caractérisé par la pénurie d'éléments nutritifs et d'eau, et exposé à une longue période du rayonnement solaire et des températures élevés (**Afef et al., 2007**).

Il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux. En Algérie, le lentisque se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières (**More et White, 2005**).

I.5.4. Utilisation de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus est communément utile pour son développement dans les terres semi-aride, ainsi, elle permet la restauration des sols contaminés des régions méditerranéennes (**Moreno-Jiménez et al., 2009**).

Les principaux produits dérivés de *Pistacia lentiscus*, comme le bois qui est très apprécié en ébénisterie, la résine des branches ou du tronc est fortement aromatique qui durcit au contact de l'air, appelée mastic, ce dernier extrait dans la confection des liqueurs, aromatiser certains confitures, blanchir les dents et traiter les problèmes de gingivites. Aujourd'hui encore, le mastic est employé dans l'industrie agro-alimentaire évidemment comme agent mastécatoire, dans l'industrie photographique et dans les soins dentaires (**Seigue, 1985**).

L'essence de mastic entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutique, ainsi l'essence des feuilles et des rameaux, est utilisée en aromathérapie et phytothérapie pour ces propriétés décongestionnantes. Les huiles de *Pistacia lentiscus* sont utilisées dans la confection du savon et l'éclairage (**Seigue, 1985**).

I.6. Métabolites secondaires de *Pistacia lentiscus*

I.6.1. Généralité sur les polyphénols

Les phénols sont des métabolites secondaires qui se reconnaissent par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique. Ils ont une large distribution, dans les fruits et les végétaux (**Richter, 1993 ; Bruneton, 1999**).

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse, celle, via le shikimate (l'acide shikimique), l'autre est celle de l'acétate (**Bruneton, 1999**).

I.6.2. Composés phénoliques simples

a. Acides phénoliques

L'acide gallique appartient à la classe des acides hydroxybenzoïques (Agata et al., 1990 ; D'Archivio et al., 2007). L'acide digallique est rapporté dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* (fig. 8) (Bhouri et al., 2010). Il a un effet sur l'inhibition de la xanthine oxydase de 14, 17 et 21% à des concentrations de 50, 100 et 150 µg/mL, respectivement et protège contre la peroxydation lipidique, à une dose de 200 et 400 µg/mL (55% et 68 %) (Bhouri et al., 2010).

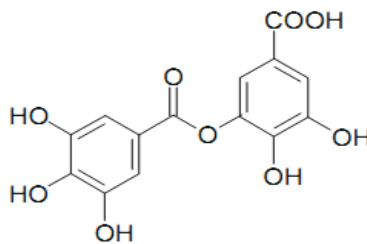


Figure 8 : Structure de l'acide digallique (Bhouri et al., 2010)

I.7.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments des végétaux, presque toujours hydrosolubles. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (fig. 9) (Bruneton, 1999).

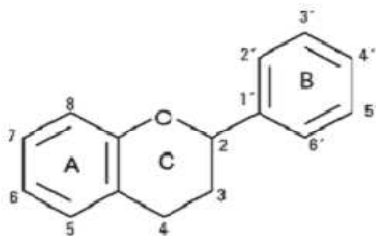


Figure 9 : Schéma générale des flavonoïdes (Manetas et al., 2007)

Les flavonoïdes possèdent plusieurs rôles dont ils sont utilisés pour le traitement de la goutte par l'inhibition de la xanthine oxydase (XO) (Da Saliva et al., 2004), ils inhibent l'activation microsomale (Bhouri et al., 2010), ils sont des antioxydants (Bruneton, 1999) et protègent contre plusieurs maladies chroniques telles que le cancer, l'asthme...etc (Aroma et al., 2002).

Chez *Pistacia lentiscus*, trois principaux types de flavonoïdes sont rencontrés, notamment les flavonols, les anthocyanes et les flavan-3-ol (McKay et Blumberg, 2002 ; Azaïzeh et al., 2005 ; Abbas et al., 2013).

a. Flavonols

Les flavonols représentent la majorité des flavonoïdes les plus omniprésentes en nourritures. Ils préviennent plusieurs maladies chroniques, en particulier les maladies cardiovasculaires et le cancer (fig. 10) (McKay et Blumberg, 2002).

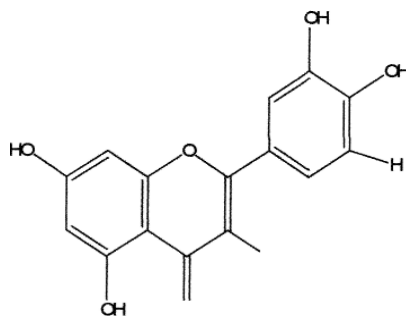


Figure 10: Structure d'une flavonol (Bruneton, 1999).

▪ Catéchine

Les catéchines sont des antioxydants présents dans le pistachier (McKay et Blumberg, 2002), trouvées dans beaucoup de fruits tels que des abricots et cerise (fig. 11) (Manetas *et al.*, 2007).

Parmi les catéchines qui sont présent dans le pistachier ; l'épigallocatechine gallate (EGCG), qui inhibe l'éclosion des œufs (Molanet *et al.*, 2003 ; Abbas *et al.*, 2013) et induit l'apoptose des cellules cancéreuses chez l'Homme (Butler *et al.*, 1998), et l'épigallocatechine (EGC), qui possède un rôle inhibiteur des dommages de l'ADN (Elmets *et al.*, 2001).

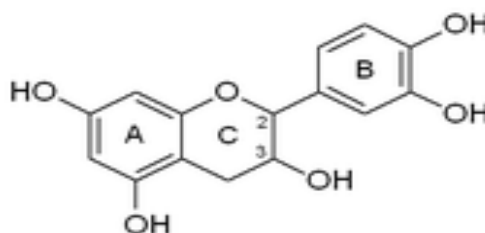


Figure 11: Structure des catéchines (Manetas *et al.*, 2007)

Des recherches faites sur cinq catéchines de thé ont révélé qu'ils inhibent la XO, par une inhibition un compétitive, dont l'épicatéchine, l'épigallocatechine (EGC), et l'épicatéchine gallate (une inhibition mixte), par contre l'épigallocatechine gallate (EGCG) exerce un effet compétitif (Apostolide *et al.*, 1997).

Ahmad et ses collègues ont testés l'activité hypouricimiantes des feuilles de *Pistaciaintegerrima*, ils ont montrés que la quercetine et le kaempferol inhibe la XO,*in vitro*, avec une IC₅₀ de 0.65 µg/ml et 1.87 µg/mL.

C. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des colorants hydrosolubles, responsables des couleurs rouges, bleues, et pourpre des fruits, légumes, fleurs, et autres tissus végétaux (**Bruneton, 1999**). Ils se produisent principalement comme des glycosides appelé des anthocyanidines, avec la partie de sucre, principalement attachée à la position 3 sur le cycle C ou sur la position 5 et 7(**fig. 12**) (**Eger et al., 2002**).Ils ont un effet photo-protecteur (**Bruneton, 1999 ; Azaizeh et al., 2005 ;Manetas et al., 2010**).

Kobayashi et ses collègues (1999) ont fait des études sur l'apigenidine , la cyanidine et la delphinidine. En effet, ces substances inhibent la XO à une concentration de 29 nM,27,8µM et 52,4 µM, respectivement.

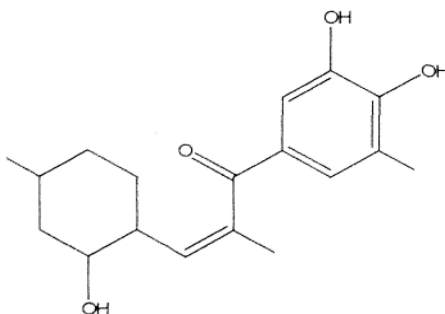


Figure 12 : Schéma d'une anthocyanine (cyanidine) (**Bruneton, 1999**)

d. flavan-3-ol

Les flavan – 3 – ols sont présents dans le pistachier sous forme de monomère des tannins condensés ou de prothocyanidines, également de leurs dérivés galloyl (**Abbas et al., 2013**). Des essais de **Molan et ses collègues (2003)** ont été faites sur ces derniers, ont prouvé qu'ils inhibent le développement des infections, par les larves.

I.7.4.Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques hydrosolubles,présents dans *Pistacialentiscus*qui ont la propriété tannante, ainsi ils possèdent plusieurs rôles tels que l'effet astringent, effet vasoconstricteur,

favorise la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlure ...etc (**Bruneton, 1999 ; Bhourri et al., 2010 ; Abbas et al., 2013**).

Il existe deux types de tannins :

a. Tannins condensés ou les proanthocyanidines

Ils sont connus, sous le nom de tannins condensés ou flavonolglycosylés. Ils sont constitués d'une unité de flavan-3-ol liés entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Bruneton, 1999**). Les extraits de *Pistacia lentiscus* possèdent de hautes concentrations de tannins galloylés (**Abbas et al., 2013**).

Les flavonolglycosylés ont des propriétés antioxydantes par la présence de myricétine et de la quercétine glycosylée, prévient l'hépatotoxicité, comme elle peut induire une hépatotoxicité qui due à leurs activités en fonction de la concentration (**Filippich et al., 1994 ; Cabiddu et al., 2000 ; Romani et al., 2003 ; Abbas et al., 2013**).

b. Tannins hydrolysables

Ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un acide phénol, le sucre est généralement le glucose. L'acide phénol peut être, l'acide gallique dans le cas des tannins galliques, ou l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) dans le cas des tannins éllagiques (**Bruneton, 1999**).

En général le fruit de *Pistacia lentiscus* est caractérisé par la présence des dérivés galloylés, ellagitannin et galloylquinique (**Bhourri et al., 2010**). Les tannins sont doués d'une activité antibactérienne (**Funatogawa et al., 2004**). De même l'activité inhibitrice de la XO a été rapporté pour les tannins hydrolysables et les tannins condensés (**Agata et al., 1990**).

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'effet antihyperuricémique et anti-xanthine oxydoréductase, *in vivo*, de l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

I.1. Matériel utilisé

II.1.1. Produits chimiques et réactifs

Oxonate de potassium, allopurinol, KCl, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , xanthine, acide hydrochlorique (HCl), NaOH et nicotinamide adénine dinucléotides (NAD^+) (Sigma). Albumine du sérum bovine (BSA), éthanol, chloroforme, kit du réactif de l'acide urique, bleu de coomassie, acide orthophosphorique (H_3PO_4 , 85%) et carboxyméthylcellulose (CMC).

II.1.2. Animaux de laboratoire

Des souris mâles d'une race Albinos (24-30g) ont été achetées de l'institut Pasteur d'Alger et ont été logées au niveau de l'animalerie, dans des cages (320 cm, 180 cm, 160 cm) pendant une semaine, pour adapter leur environnement avant de les utiliser dans l'expérimentation. Tous ces souris ont été soumises à un cycle de 12h lumière/12h obscurité et à une température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), avec un accès libre à l'eau et à l'alimentation

II.1.3. Matériel végétale

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* (**fig.7**) ont été récoltées dans la forêt d'Azrun' Bechar, un site situé dans la localité d'Amizour, de la wilaya de Béjaïa, loin de tout impact de pollution, en fin juin, 2012. Après la récolte, les feuilles ont été laissées sécher dans un endroit sec, à température ambiante et à l'abri de la lumière. La matière sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, afin d'obtenir une poudre fine ($63\mu\text{m}$).

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction et préparation des extraits

L'extraction a été faite par un solvant caractérisé par sa forte polarité qui est l'éthanol. Il est utilisé pour extraire un maximum de composés, à partir de la poudre des feuilles de *Pistacia lentiscus*. En effet, la poudre de plante est macérée dans de l'éthanol, pendant 24H. Après une étape de décantation, le surnageant est mis à évaporation sous hotte, afin d'obtenir l'extrait ethanologique, qui sera utilisé ultérieurement dans le test de l'activité hypo-uricémiante.

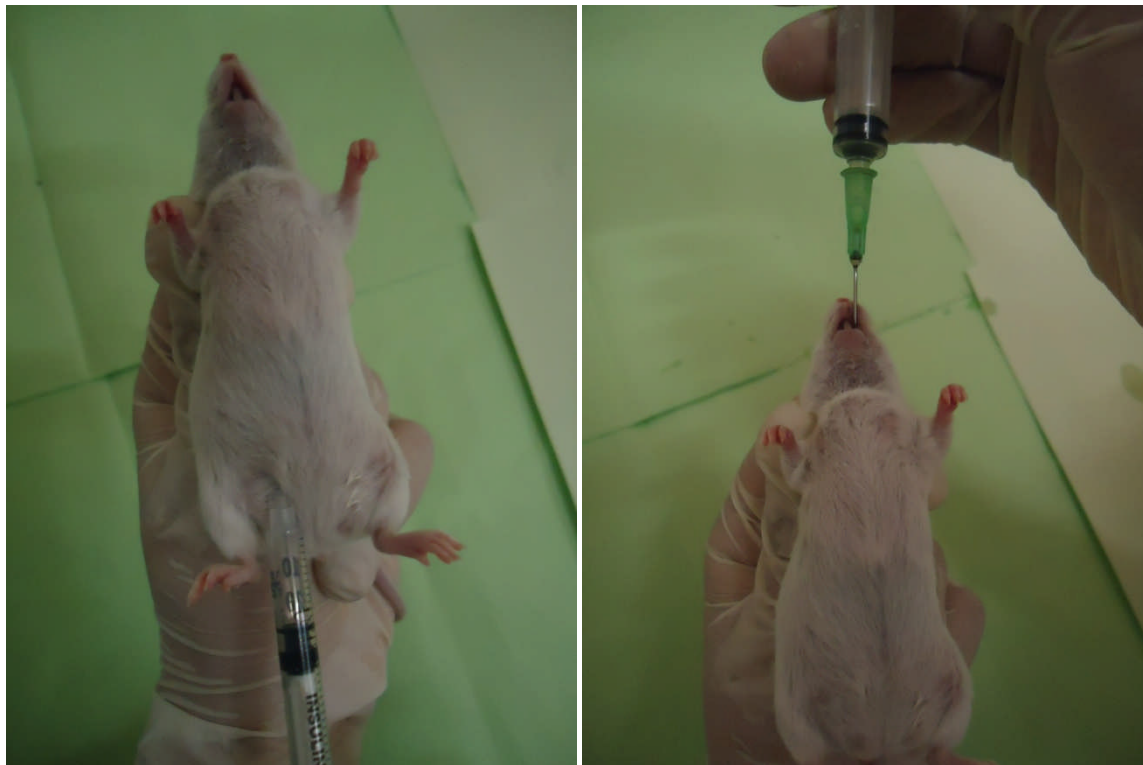
II.2.2. Test de l'activité hypouricémiante

Cet test est basé sur l'utilisation de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* à différentes concentrations chez des groupes de souris normales et chez d'autres groupes de souris traitées avec l'oxonate de potassium, afin d'induire des niveaux élevés en acide urique dans le sérum (Hall et al., 1990 ; Zhu et al., 2004).

A. Administration de drogue

Les souris ont été divisées en dix groupes (n=8), pour servir aux tests du contrôle positif (Oxonate de potassium, 250mg/kg) et négatif (véhicule), les contrôles de l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus*, à trois concentrations de 100, 200 et 400mg/kg sur des souris normales et trois tests sur des souris hyperuricémiantes, avec les mêmes concentrations d'extrait, pendant trois jours. L'allopurinol est utilisé comme molécule de référence (10mg/kg).

La nourriture a été retirée des animaux une heure et demi, avant l'administration de drogue. Le volume de la suspension à administrer est basé sur le poids corporel, mesuré immédiatement avant chaque traitement. Toutes les drogues ont été administrées par voie orale une fois quotidiennement durant trois jours, une heure après l'injection intrapéritonéale (IP) de l'oxonate de potassium (**fig. 13**).



(A)

(B)

Figure 13 : Photographie originale ; (A) la voie intrapéritonéale, (B) la voie orale (gavage)

B. Sacrifice et prélèvement du sang

Au 3^{ème} jour du traitement et une heure après l'administration finale des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et de l'allopurinol, les souris ont été sacrifiées (**fig. 14**). Le sang est récupéré et laissé coaguler, pendant une heure à température ambiante. Par la suite, une étape de centrifugation a été réalisée, à 5000g pendant 10 minutes afin de récupérer le sérum. Ce dernier est congelé à -20°C, jusqu'à son utilisation pour le dosage de l'acide urique ultérieurement.



Figure 14 : Photographie originale qui montre le sacrifice et la récupération de sang.

C. Préparation de l'homogénat du foie

Le foie des souris a été excisé par une dissection (**fig.15**), immédiatement après le prélèvement du sang, lavé directement dans une solution de KCl froide et homogénéisé dans 10% (poids/volume) du tampon phosphate (0.05M contenant 0,5mM EDTA, à pH 7.5). L'homogénat a été alors centrifugé à 5000 \times g pendant 10min. La couche lipidique a été enlevée soigneusement, et par la suite le surnageant est soumis à une deuxième centrifugation à 5000 \times g pendant 10min, afin de récupérer le surnageant, qui est ensuite stocké à -80°C , jusqu'à l'analyse des tests des activités enzymatiques.

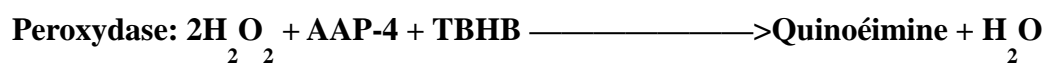
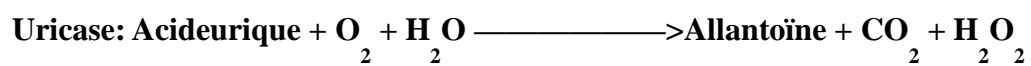


Figure 15 : Photographie originale d'une dissection d'une souris et d'une récupération de foie

D. Dosage de l'acide urique

Le dosage de l'acide urique a été fait par un kit de réactif (*Spinreact*), dont 20µl de sérum ont été ajoutés à 1 ml du réactif. Une lecture d'absorbance a été effectuée à 520 nm, après 10 min d'incubation, à température ambiante. Les résultats des concentrations de l'acide urique sont exprimés en mg/dl, par rapport à une solution d'acide urique standard de 8mg/ml.

Le principe de la réaction est comme suit :



E. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976), en réalisant une courbe d'étalonnage avec l'albumine du sérum bovin (BSA).

40 μ L de chaque homogénat dilué ont été ajoutés à 1ml du réactif de Bradford. Après une incubation à l'obscurité, pendant 10min, l'absorbance est mesurée à 595 nm. Les concentrations en protéines ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage et exprimées en mg/ml.

F. Analyse des activités de la XO/XDH

Le surnageant a été employé pour analyser les activités enzymatiques de la XO/XDH par la mesure de la concentration d'acide urique formé, à 290nm contre un blanc qui est constitué du tampon-potassium.

Le mélange réactionnel contient 3.5ml du tampon phosphate (0.05M, à pH 7.5), 0.1ml de l'homogénat du foie et 1ml d'oxonate de potassium et 0.5ml de la solution du NAD⁺ (pour la mesure de l'activité de la xanthine déshydrogénase). Après une incubation de 15min à 37°C, la réaction est initiée par l'ajout de 1ml de xanthine. Ensuite, 0,5ml d'une solution de HCl ont été ajoutés après 10 min d'incubation, afin d'arrêter la réaction. La lecture d'absorbance est effectuée, après une étape de centrifugation, à 5000g, pendant 5min.

Les résultats des activités de la XO/XDH ont été exprimés en nanomole par minute par milligramme de protéine.

II.2.3. Analyse statistique

Tous les résultats sont exprimés comme une moyenne \pm S.E.M. de six souris pour chaque groupe. L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel GraphPad Prism 5.03, par l'analyse de la variance (ANOVA) suivi du test de Dunnett's. Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées significatives.

III.1.Résultats

III.1.1. Activité hypouricémiante chez des souris normales

Des souris normales ont été traitées oralement avec l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacialentiscus* à différentes concentrations 100, 200 et 400 mg/kg, durant trois jours, afin d'examiner une possibilité d'un effet hypouricémiant. Les résultats obtenus sont démontrés dans le tableau I dans l'annexe II.

Chez un groupe de souris normale (véhicule) ayant reçu par voie orale que du CMC (0.8%), le niveau d'acide urique dans le sérum est de 3.11 ± 0.35 mg/dl (**fig.16**). Cependant, après une administration orale des différentes doses de 100, 200 et 400 mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* aux groupes des souris normales, n'ont montré aucun effet significatif sur la réduction des niveaux d'acide urique dans le sérum (2.65 ± 0.35 , 2.76 ± 0.13 et 2.72 ± 0.38 mg/dl), présentant une inhibition de 14.79, 11.25 et 12.54%, respectivement (**tableau I, annexe II**) en comparant avec le véhicule.

Tandis que le groupe de souris traité par la molécule de référence l'allopurinol, la concentration de l'acide urique a été réduite significativement ($P < 0.001$), jusqu'à 0.31 ± 0.02 mg/dl (33,11%), après une administration par voie orale d'une dose de 10mg/kg.

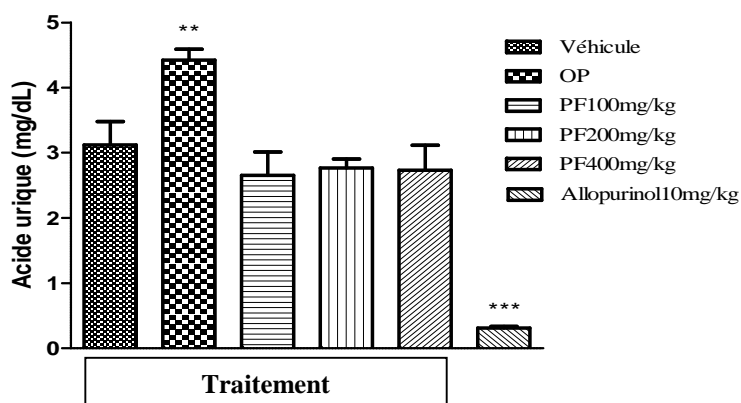


Figure 16 : Effet de l'administration orale des extraits éthanoliques de *Pistacialentiscus* et d'oxonate de potassium par voie IP, sur le niveau d'acide urique dans le sérum des souris normales.

III.1.2. Activité hypouricémiante chez des souris traitées avec l'oxonate de potassium

Le traitement des souris avec de l'oxonate de potassium ; inhibiteur d'uricase (Ishibuchi et al., 2001 ; Zhu et al., 2004), conduit à une élévation des concentrations d'acide urique dans le sérum, afin d'induire une hyperuricémie. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau II dans l'annexe II.

Les souris traitées avec l'oxonate de potassium peuvent servir non seulement de modèle animal utile dans l'étude de la pathologie de l'hyperuricémie, mais également dans la recherche des agents thérapeutiques possibles (Stavric et al., 1975 ; Hall et al., 1990 ; Wang et al., 2010).

Initialement, la moyenne du niveau d'acide urique dans le sérum chez le groupe de souris normale était de 3.11 ± 0.35 mg/dl (fig.17). Chez d'autres groupes de souris qui ont été traitées avec de l'oxonate de potassium seul (250mg/kg), le niveau d'acide urique a été élevé jusqu'à 4.42 ± 0.16 mg/dl (130.54%), une augmentation considérée significative de l'acide urique sérique ($P < 0.001$) (Fig.16). Ainsi l'oxonate de potassium administré par voie intrapéritonéale (IP), induit ainsi l'hyperuricémie.

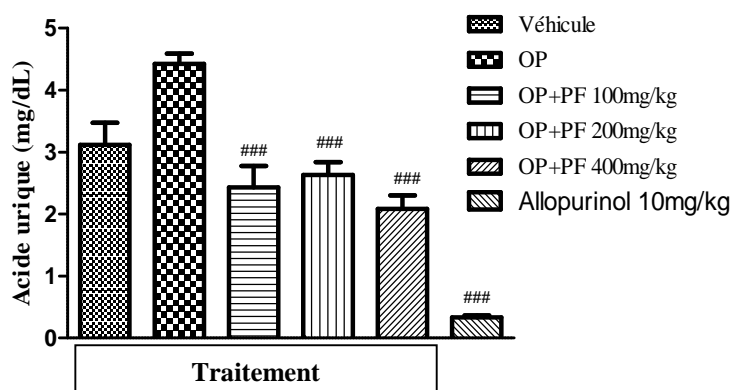


Figure 17 : Effet de l'administration orale des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* dans le sérum chez des souris traitées préalablement par l'oxonate de potassium.

Par contre, les groupes de souris traités oralement avec des doses journalières, pendant trois jours de 100, 200 et 400 mg/kg de l'extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus*, ont significativement ($P < 0.001$) réduit les niveaux d'acide urique dans le sérum à 2.43 ± 0.34 , 2.63 ± 0.21 et 2.08 ± 0.23 mg/dl, avec une inhibition de 45.02%, 40.49% et 52.94%, respectivement (tableau II, annexe II), deux heures après la première injection de

l'oxonate de potassium par voie IP. Ainsi les extraits sont capables d'induire une diminution des niveaux d'acide urique dans le sérum, chez les groupes de souris hyperuricémiques.

Par ailleurs, l'administration orale de l'allopurinol (10mg/kg), chez des souris ayant reçu par voie IP la solution de l'oxonate de potassium (250 mg/kg), pendant trois jours, affecte significativement ($P < 0.001$) le taux d'acide urique, en le réduisant à une concentration de 0.33 ± 0.02 mg/dl, avec un 92.53%, par rapport aux taux exhibés par l'effet de l'oxonate de potassium (4.42 ± 0.16 mg/dl).

III.1.3. Activité inhibitrice de la XO/XDH

Les effets des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur les activités de la XO/XDH du foie de souris normales et hyperuricémiques sont illustrés dans le tableau III.

Tableau III: Effet des extraits de *Pistacia lentiscus*, oxonate de potassium et allopurinol sur l'activité de la xanthine oxydase (XO) et xanthine déshydrogénase (XDH) dans le foie des souris.

Traitement	Doses (mg/kg)	Animaux	XO(AU µmol/min/mg de protéine) moy± S.E.M	XDH (AU nmol/min/mg de protéine)moy± S.E.M	% d'inhibition	
					XO	XDH
Véhicule	-	6	27.16 ± 0.89	25.67 ± 0.64	-	-
E-PF	100	6	25.62 ± 1.32	25.00 ± 0.66	5.68	2.61
E-PF	200	6	26.01 ± 1.87	24.69 ± 1.47	4.22	3.83
E-PF	400	6	20.65 ± 0.97**	23.17 ± 1.76	23.97	7.5
Allopurinol	10	6	08.79 ± 1.16***	09.21 ± 1.51***	67.62	64.09
OP	250	6	28.88 ± 1.65	30.76 ± 1.70	-	-
OP + E-PF	100	6	26.40 ± 0.86	27.53 ± 0.76	8.58	10.49
OP + E-PF	200	6	24.21 ± 0.51#	25.63 ± 0.51##	16.14	16.68
OP + E-PF	400	6	23.03 ± 1.28###	24.38 ± 0.94###	20.25	20.75
OP+Allo	250+10	6	06.90 ± 1.17####	06.60 ± 2.37####	76.07	78.53

- E-PF : extrait de feuille de *Pistacia lentiscus*, OP : oxonate de potassium et Allo : allopurinol
- ** $P < 0.01$ en comparant avec le groupe de véhicule.
- *** $P < 0.001$ en comparant avec le groupe de véhicule.
- ## $P < 0.01$ en comparant avec le groupe de l'oxonate de potassium
- #### $P < 0.001$ en comparant avec le groupe de l'oxonate de potassium

Après le traitement des souris normales avec l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*, l'activité enzymatique de la xanthine oxydase (XO) a été réduite significativement à la concentration de 400 mg/kg ($P < 0.01$), avec une réduction de la concentration de l'acide urique de 20.65 ± 0.97 nmol/min/mg de protéine. Par contre à 100 et 200 mg/kg, aucune activité inhibitrice (5.6% et 4.22%) n'a été exhibée (**tableau III**).

Par ailleurs, ces différentes concentrations 100, 200 et 400 mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* n'ont montrées aucune activité enzymatique sur la forme réduite la XDH du foie des souris, avec une inhibition de 2.61 et 3.83 et 9.75%, respectivement.

Par contre le traitement des souris ayant une hyperuricémie induite par l'oxonate de potassium, avec l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscusa* réduit l'activité enzymatique de la xanthine oxydase et déshydrogénase significativement, à la concentration de 200 mg/kg à 16.14 % ($P < 0.05$) et 16.14 % ($P < 0.01$), à 400 mg/kg à 20.25 et 20.75% ($P < 0.01$, $P < 0.001$), respectivement. Cependant la dose de 100 mg/kg n'a exhibé aucune activité inhibitrice de la XO (8,58%) et également de la XDH (10.49%) (Tableau V).

Tandis que la molécule de référence, l'allopurinol, a empêché significativement l'activité enzymatique de la XO à 67.62% ($P < 0.001$) et de la XDH à 64.09% ($P < 0.001$), avec une dose de 10mg/kg, après un traitement de trois jours, chez les souris normales et de 76.07% ($P < 0.001$) et 78.53% ($P < 0.001$) pour les deux formes XO et XDH, respectivement, chez les souris hyperuricémiantes, illustrant par conséquent son pouvoir inhibiteur de la XOR.

III.2. Discussion

La goutte est une complication chronique de l'hyperuricémie, provoquée par le dépôt des cristaux d'urate monosodiques dans les articulations et les tissus (**Chalès et Guggenbuhl, 2005 ; Richette et Bardin, 2010**). Le traitement hypouricémiant classique consiste soit à inhiber les enzymes impliquées dans la production de l'acide urique, soit à augmenter son excrétion par les reins (**Garay et al., 2012**).

L'allopurinol, introduit en 1965, constitue toujours le traitement de première ligne pour la goutte chronique, avec une uricémie ciblée à moins de $360 \mu\text{M}$ (**Garay et al., 2012**), son action contribue à l'inhibition de l'enzyme XO, responsable de la catalyse de l'étape finale de

la production de l'acide urique (Alann, 1997). Suite à ses effets secondaires indésirables, tels que l'hypertension, les réactions allergiques et le syndrome de Steven-Johnson's (Kumar et al., 1996 ; Wallach, 1998), une alternative pour l'allopurinol est d'utiliser des plantes médicinales comme un exemple, les espèces arbustives qui sont riches en composition chimique et en teneur en composés phénoliques (Pistachier lentisque, ...) (Boubaker et al., 2004).

Pistacia lentiscus qui a fait l'objet de notre étude est connu pour ses vertus médicinales (Bruneton, 2001 ; Alloune et al., 2012 ; Ansari et al., 2012), tel que l'effet hépatoprotecteur dans les maladies chroniques du foie (Azeizeh et al., 2005), l'activité antioxydante, et l'activité inhibitrice de l'activité de XO/XDH, en bloquant la synthèse de l'AU par l'utilisation des extraits éthanoliques de ses feuilles (Bhouri et al., 2010).

La diminution des niveaux de l'urate, a été testée, *in vivo*, sur des souris traitées par l'oxonate de potassium. Ce dernier fonctionne comme un inhibiteur compétitif de l'urate oxydase (uricase) dans le foie des souris. Lorsque le complexe oxonate-uricase est formé, prévient l'attachement de l'acide urique à l'uricase, bloquant ainsi son activité de convertir l'AU en allantoiné ce qui résulte une augmentation de l'AU dans le sérum et les urines. Tous les inhibiteurs compétitifs de l'uricase sont les substituants des purines et les s-azapurine (Fridovich, 1965 ; Chartrand et al., 1969).

Dans cette présente étude, nous avons démontré après un traitement des trois jours, chez les souris hyperuricémiantes après l'administration orale des différentes doses des extraits des feuilles *Pistacia lentiscus*, une réduction significative des niveaux d'AU dans le sérum, des souris traitées à l'oxonate de potassium (OP). Cela est dû probablement aux constituants actifs des extraits du *Pistachier lentisque*, tels que les polyphénols notamment les flavonoïdes, rapportés à voir plusieurs rôles, à savoir la réduction du stress oxydatif, via l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres, la phospholipase et l'oxyde nitrique synthase. Ainsi, une activité inhibitrice de la XO qui peut contribuer en partie à l'effet hypouricémiant de l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Les composés polyphénoliques actifs de notre plante ont été rapportés à voir une activité antihyperuricémique par de nombreuses études, *in vivo*, qui ont été réalisées sur différentes parties des plantes médicinales, ces travaux ont été démontrés d'après Wang et ses collaborateurs en 2010.

Ainsi les études *in vivo* de **Zhu et ses collaborateurs (2004)**, se sont basées sur l'utilisation des substances naturelles ; notamment la quercétine et la rutine, appartenant aux flavonols, dans un traitement de trois jours avec l'administration de différentes concentrations de 50, 100 et 150 mg/kg, ces dernières ont exhibé une réduction significative de l'acide urique à 3.77, 3.52 et 3.21 mg/dl, respectivement.

Kong et ses collaborateurs en 2004 ont utilisé des extraits aqueux d'un cortex *Ermiào* et d'un cortex *phellodendride* des fines herbes chinoises avec des concentrations de 840 et 480 mg/kg qui sont administrés oralement dans un traitement de 7 jours, ont significativement réduits le niveau d'acide urique à 40.8 et à 27.7%, respectivement, des résultats qui s'avèrent moins importants que ceux exhibés par les extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* à 100, 200 et 400 mg/kg.

Cependant, chez les groupes de souris normales, aucun effet de l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* sur la réduction des niveaux d'acide urique dans le sérum.

Umamaheswari et ses collaborateurs en 2007 ont en corrélation à nos résultats par utilisation des extraits méthanoliques de *Datura metel* de la famille Solanaceae L. et *Strychnos nux-vomica* (Loganiaceae L.) qui ont été administrés au groupe de souris normales et qui n'ont pas produit une activité significative hypouricémique dont la réduction est de 10.63 ± 0.17 et 11.30 ± 0.19 mg/dl, à la concentration de 200 mg/kg, respectivement, par rapport au groupe qui a été traité avec l'oxonate de potassium (11.42 ± 0.14 mg/dl).

Huang et ses collaborateurs (2011) ont eu les mêmes résultats ; après le traitement des souris normales par des substances naturelles tels que la Genistéine (4.5, 9.0, 18.0 mg/kg) et Apigénine (175, 350, 700 mg/kg).

D'après nos résultats de l'activité enzymatique de XO/XDH dans du foie des souris est minimale, elle est observée seulement à la concentration de 400 mg/kg et d'une façon très basale à la concentration de 200 mg/kg sur la forme XO. Ce résultat a été prouvé **en 2008 par Ahmad et ses collaborateurs** par utilisation des fractions n-BuOH insolubles des feuilles de *Pistacia integerrima* ont une inhibition très basse ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$), dont l'extrait d'acétate éthylique et de n-BuOH contenant fortement les composés polaires (monoglycosides et polyglycosides) des extraits ont eu $IC_{50} = 20$ et $IC_{50} = 19 \mu\text{g/ml}$, respectivement.

Des résultats similaires ont été menés récemment en 2012 par **Kuo et ses collègues**, sur l'utilisation de l'extrait des fleurs de *Hibiscus sabdariffa L* (HSE), qui sont riches en acides polyphénoliques, en flavonoïdes et en anthocyanines. Cette plante est couramment utilisée en médecine pour traiter l'hypertension, l'inflammation et les désordres de foie.

Le traitement des souris préalablement injectées avec une solution d'oxonate de potassium avec les extraits de HSE des différentes concentrations en teneurs en composés actifs (1, 2 et 5%) ont montré une réduction significative du taux d'acide urique du sérum des souris, sans avoir un effet inhibiteur sur l'activité de la XO du foie.

D'après les résultats de **Kuo et ses collègues**, qui sont en corrélation avec nos résultats nous laissons à suggérer que la réduction de la concentration plasmatique en acide urique après un traitement par l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* est due en partie sur l'inhibition de la XOR du foie et/ou agissent sur la fonction rénale comme un agent uricosurique.

Les extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* ont exhibé une inhibition très faible, cela s'explique que nos extraits agissent très probablement sur l'activité rénale en favorisant l'excrétion d'une urine riche en acide urique. Cette constatation a été démontrée d'après l'étude de Biochimie Appliquée de l'activité diurétique de ces extraits éthanoliques de feuilles, *in vivo*, au niveau du laboratoire de l'université A/mira de Béjaïa par **Benachour et Benrab (2012)**, dont l'administration par voie intra-gastrique d'une concentration à 200mg/kg de l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* a induit une augmentation significative du volume cumulé urinaire à 69%. Cette augmentation des urines est très probablement liée à une augmentation de l'excrétion de l'acide urique des urines.

Cliniquement, d'après **Wright et ses collaborateurs en 2003** ont confirmé, qu'environ 90 % des patients présentent une goutte attribuée à une réduction de l'excrétion rénale de l'urate.

Cette excrétion via le système des transporteurs rénaux de l'urate chez les souris est similaire à celui de l'Homme (**Dan et al., 1989 ; Cihlar et al., 1999 ; Hosoyamada et al., 1999**). Les principaux transporteurs d'anion organiques rénaux sont urate, transporteur 1 (URAT1), glucose transporteur 9 (GLUT9) et l'anion organique transporteur 1 (OAT1) codés par SLC22A12, SLC2A9 et SLC22A6 qui régulent les concentrations sériques en AU dans le sang (**Ichida et al., 2004 ; Li et al., 2004**).

Pistacia lentiscus est très connu par sa richesse en flavonoïdes, qui pourraient jouer le rôle d'un agent uricosurique. Ce dernier effet est démontré, en **2010 par Wang et ses collaborateurs**, qui ont constaté une augmentation significative du taux d'acide urique dans les urines de souris traitées avec une molécule naturelle, la morine (2,3,4,5,7-pentahydroxyflavone), avec des doses de 20, 40 et 80mg/kg. Cet effet est accompagné par une réduction de l'acide urique sérique. Cela est dû à l'augmentation des niveaux des protéines rénales (mGLUT9 et mURAT1) qui étaient probablement dus à une haute régulation de leurs mRNA, chez les souris traitées avec OP.

Cette étude a apporté très probablement que l'hyperuricémie induite par l'OP et le traitement avec les extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* a développé une régulation rénale des protéines mGLUT9 et mURAT1, qui sont significativement atténué après le traitement par les extraits éthanoliques de feuille de *Pistacia lentiscus* ce qui conduit à la réduction de l'absorption de l'urate et le perfectionnement de l'excrétion par le rein. Cela suggère l'action uricosurique des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* qui augmente l'élimination rénale de l'AU par la régulation de mURAT1, mGLUT et mOAT chez les souris traitées par OP.

Par ailleurs, l'effet hypouricémiant de l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus* à des concentrations de 100, 200 et 400 mg/kg est considéré très importante, en comparaison avec les extraits aqueux de *Simiaopill* qui ont réduits l'acide urique à des concentrations plus élevés à savoir 507, 1014 et 2028 mg/kg.

Plusieurs études *in vivo* sur l'effet antihyperuricémique des extraits de plantes, utilisée en médecine traditionnelle, qui ont été rapportés à avoir un effet uricosurique ; en influençant l'expression des mRNA des transporteurs rénaux (**Junior et al., 2009 ; Meera et al., 2009 ; Gowada, 2009**).

Conclusion et perspectives

L'activité anti-hyperuricémique a été testée sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*, sur un modèle animal, en induisant l'hyperuricémie, par l'oxonate de potassium, inhibiteur de l'uricase.

- Une réduction significative des taux d'acide urique sérique a été enregistrée, en utilisant 100, 200 et 400 mg/kg, chez les souris hyperuricémiques.
- Seul l'extrait à 400 mg/kg a exhibé une inhibition significative ($p < 0,01$) (23.97 %) de la xanthine oxydase. L'allopurinol a significativement inhibé l'activité enzymatique de la XO et de la XDH ($p < 0,001$) (67.62 % et 64.09%), respectivement.
- Chez les souris hyperuricémiques, juste l'extrait à 200 et 400 mg/kg ont montrés une inhibition significative ($p < 0,01$ et $p < 0,001$) de l'activité XO/XDH avec 16.14 et 16.68%, 20.25 et 20.75%, respectivement.
- Malgré la richesse des feuilles de *Pistacia lentiscus* en métabolites secondaires connus à avoir un effet anti-xanthine oxydoréductase, *in vitro*, l'effet, *in vivo*, n'a pas été révélé, soit à cause d'une concentration faible de ces composés dans l'extrait brut, ou bien par rapport à leur biodisponibilité dans l'organisme.
- Cette réduction d'acide urique dans le sérum, pourrait être attribuée à l'effet uricosurique de l'extrait de *Pistacia lentiscus*, qui doit être confirmé, par d'autres études qui vont confirmer les taux d'expression des transporteurs rénaux, aussi bien l'augmentation de l'élimination rénale de l'acide urique.

Enfin, cette étude indique que *Pistacia lentiscus* est une plante potentiellement médicinale utile pour le traitement de l'hyperuricémie et ainsi de la goutte, qui se corréle avec les données ethnobotaniques sur l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle, ceci constitue la base pour l'enquête postérieure pour isoler les constituants actifs et le développement des drogues.

Références Bibliographiques

A

Abbas, N., Azaizeh, H., Landau, S., Halahleh, F., Markovics, A., Muklada, H., and Ungar, E. D. (2013). Polyphenols from *Pistacia lentiscus* and *Phillyrea latifolia* impair the excystation of gastro-intestinal nematode larvae. *Veterinary Parasitology*, **191**: 44–50.

Afef, A. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, **165**: 1-13.

Agata, I., Hatano, T., Noro, T., Okuda, T., Yasuhara, T., and Yoshihara, R. (1990). Effects of interaction of tannins with co-existing substances. Inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**: 1224-1229.

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

Akaike, T., Maeda, H., and Sawa, T. (2000). Tyrosine Nitration by Peroxynitrite Formed from Nitric Oxide and Superoxide Generated by Xanthine Oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**: 32467-32474.

Alann, B. (1997). Principles of medical biology. Chapter 36: Treatment of Gout and Hyperuricemia. *Molecular and Cellular Pharmacology*, **8**: 723-735.

Allen, S.M. and Rice, S.N. (1996). Risperidone antagonism of self-mutilation in lesch-nyhan patient. *Prog-Neuro-Psychopharmacol et bio-psychiat*, **20**: 793-800.

Alloune, R., Liazid, A., and Tazerout, M. (2012). Etudes comparatives de deux plantes oléagineuses locales Pour la production du biodiesel en Algérie. *Revue des Energies Renouvelables SIENR*, **12** :19 – 22.

Anderson, R. F., and Hille, R. (1991). Electron Transfer in Milk Xanthine Oxidase as Studiedby Pulse Radiolysis. *The Journal of Biological Chemistry*, **266**: 5608-5615.

Ansari, S.H., Nahida, A., and Siddiqui, A-N.(2012). *Pistacia lentiscus*: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4**: 16-20.

Antonio. G., Gonzàlez, A.G., Isabel, L., Bazzocchi .B., Moujir, L., Ravelo, A.G., Correa, M.D., and Gupta, M.D. (1995). Xanthine oxidase inhibitory activity of some Panamanian plants from Celastraceae and Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, **46**: 25-29.

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

Aromaa, A., Hakulinen, T., Heliovaara, M., Jarvinen, R., Kneki, P., Kumpulainen, J., and Rissanen, H. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases.*Am. J. Clin. Nutr.*, **76**: 8-560.

Aurangzeb, H. (2008). Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout. *Journal of Ethnopharmacology*, **117**: 478-482.

Aiyer, K. J. V., and Alderman, M. (2004). Uric acid: role in cardiovascular disease and effects of losartan. *Current Medical Research and Opinion*, **20**: 369 – 379.

Azaizeh, H., Bomzona, A., Coganb, U., Ljubuncic, P., and Songa, H. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**: 198–204.

B

Baba Aissa. (1999). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et de Maghreb substances végétales d'Afrique d'orient et de d'occident. Librairie moderne-Ruiba.

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

Ballou, D.P., Massey, V., Olson, J. S., and Palmer, G. (1974). The Reaction of Xanthine Oxidase with Molecular Oxygen. *Journal of Biological Chemistry*, **249**: 4351-4362.

Bardina, T and Cohen-Solalb, A., (2011). Goutte et pathologies cardiovasculaires. *Revue du Rhumatisme*, **78** : 129-133.

Bardin, T. (2007). Progrès en pathologie microcristalline. *Revue du Rhumatisme*, **74** : 52-57.

Baudière, A., Monange, Y., and Gauquelin, T. H. (2002). Le Monde des Plantes; Intermédiaire des Botanistes. *Toulouse*, **477**: 2-5.

Becker, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology and Medicine*, **14**: 615–631.

Benboubetra, M., Blake D. R., Bryant, R., Harrison, R., Page, S., Rouquette, M., Stevens, C. R., Tosh, D., and Wish, W. D. (1998). Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localised on the outer surface of human endothelial and epithelial cells in culture. *FFBS Letters*, **426**: 397-401.

Benesser, H., Tazi Mezalek, Z., Harmouche, H., Aouni, M., and Maaouni, A. (2010). La goutte : nouvelle recommandation. *Médecine interne*, **17**: 119-133.

Benjamin, N., Blake, D. R., Eisenthal, R., Millar, T. M., and Stevens, C. R. (1998). Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. *FEBS Letters*, **427**: 225-228.

Berboucha, M., Ayouni, K., Benboubetra, M., and Atmani, D., (2010). Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *Journal of medicinal food*, **13**: 1-9.

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.

Bhouri, W., Boubaker, J., Bouhleb, I., Chekir-Ghedira, L., Derbel, S., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., Kilani, S., Mariotte, A. M., Sghaier, M., and Skandrani, I. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacialentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, **24**: 509–515.

Blake, D. R., Bodamyali, T., Clinch, J. G., Kanczler, J. M., Millar, T. M., and Stevens, C. R. (2000). Antibacterial properties of xanthine oxidase in human milk. *The lancet*, **356**: 829-830.

Blanchard, A., Bordier, L., Duvic, C., Hérody, M., Nédélec, G., and Sarret, D. (2004). Hypo-uricémie, un vieux sujet et de nouveaux concepts. *Presse Med*, **33** : 63-555.

Bockris, J.O.M., Conway, B.E., Sarangapani, S and Yeager, E. (1983). *Comprehensive treatise of electrochemistry*, New York: Plenum Press., pp: 59.

Borges, F., Fernandes, E., and Roleira, F. (2002). Progress Towards the Discovery of Xanthine Oxidase Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, **9**: 195-217.

Bos, E., de Jong, J. W., Huizer, T., Nieukoop, S., Stroeve, R. J., and van der Meer, P. (1990). Xanthine Oxidoreductase Activity in Perfused Hearts of Various Species, Including Humans. *CircRes*. **67**: 770-773.

Boubaker, A., Kayouli, C., and Buldgen, A. (2004). Composition chimique et teneur en composés phénoliques des espèces arbustives du Nord-Ouest de la Tunisie. *Zaragoza : CIHEAM ; Cahiers Options Méditerranéennes*, **62** : 315-317.

Boukeloua, A. (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae).

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER, Biologie, Université mentouri de constantine : 228.

Boussellier, M.R.P. (2008). Intérêt de l'utilisation de l'allopurinol dans l'insuffisance cardiaque chez le chien : étude bibliographique. Thèse pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE, vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse : TOU 3-4066.

Bray, R. C., Gutteridge, S., Stotter, D. A., and Tanner, S. J. (1979). The Mechanism of Action of Xanthine Oxidase: **THE RELATIONSHIP BETWEEN THE RAPID AND VERY RAPID MOLYBDENUM-ELECTRON-PARAMAGNETIC-RESONANCE SIGNALS.** *Biochem. J.*, **177**: 357-360.

Bray, R. C., and Harrison, R. (1997). Xanthine oxidase: Enzymology and Pathophysiology. Introductory remarks. *Biochemical Society Transaction*, **25**: 749-750.

Brothman, A. R., Hoidal, J. R., Huecksteadt, T. M., Lin Zhu, X., and Xu, P. (1994). Assignment of human xanthine dehydrogenase gene to chromosome 2 p 22. *Genomics*, **23**: 289 - 291.

Bruder, G., Heid, H. W., and Jarasch, E. D. (1986). Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. *Acta Physiologica Scandinavica*, **548**: 39-46.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Paris ; Edition TEC et DOC-Lavoisier, 266- 411.

Bulkley, G. B., and Meneshian, A. (2002). The Physiology of Endothelial Xanthine Oxidase: From Urate Catabolism to Reperfusion Injury to Inflammatory Signal Transduction. *Microcirculation*, **9**: 161–175.

Butler, R., Pascka, A. G., and Young, C. Y. F. (1998). Induction of apoptosis in prostate cancer cell lines by the green tea component, (–)-epigallocatechin-3-gallate, *Cancer Letters*, **130**: 1–7.

C

Carpani, G., Garattini, E., Ghezzi, P., Racchi, M., and Terao, M. (1990). Purification and characterization of mouse liver xanthine oxidase. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, **279**: 237 – 241.

Cabiddu, A., Decandia, M., Kababya, D., Molle, G., and Sitzia, M. (2000). The use of polyethylene glycol to reduce the anti-nutritional effects of tannins in goats fed woody species. *Small Ruminant Research*, **38**: 157- 164.

Cameron, J. S., Davies, P. M., Morris, G. S., and Simmonds, H. A. (1986). Allopurinol in renal failure and the tumourlysis syndrome. *Clinical Chemical Acta*, **160**: 189–195.

Camponovo, C. (2011). Distribution de la fraction d'excrétion rénale du lithium et de l'acide urique dans l'étude de population hercules. Mémoire de maîtrise en médecine 299. Faculté de biologie et de médecine, université de lausanne, pp : 1-33.

Castola, V., Bighelli, A., and Casanova, J. (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 79-88.

Cazzaniga, G., Galbiati, F., Lo Schiavo, P., Garattini, E., Segalla, F., Seldin, M. F., and Terao, M. (1994). Chromosomal mapping, isolation, and characterization of the mouse xanthine dehydrogenase gene. *Genomics*, **23**: 380 – 402.

Cha, S. H., Chairoungdua, A., Enomoto, A., Jutabha, P., Kimura, H., and Shigeta, Y. (2002). Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*, **417**: 447-52.

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

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

Chumleey, P., Freeman, B. A., Houston, M., Radi, R., and Rubbo, H. (1998). Xanthine Oxidase Reaction with Nitric Oxide and Peroxynitrite. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **355**: 1–8.

Corte, E. D., and Stirpe, F. (1968). The regulation of rat-liver xanthine oxidase: activation by proteolytic enzyme. *FEBS letters*, **2**: 83-84.

Corte, E. D., and Stirpe, F. (1972). The regulation of rat liver xanthine oxidase: involvement of thiol groups in the conversion of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) into oxidase (type O) and purification of the enzyme. *Biochem. J.*, **126**: 739 - 745.

D

D'Archivio, M., Di Benedetto, R., Filesi, C., Gargiulo, R., Giovannini, C., and Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*, **43**: 348-361.

Da Silva, S. L., Da Sliva, A., Da Silva, A. B. F., Honorio, K. M., Marangoni, S., and Toyama, M. H. (2004). The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, **684**:1 -7.

Dempski, R., Hille, R., and Xia, M. (1999). The Reductive Half-reaction of Xanthine Oxidase. **REACTION WITH ALDEHYDE SUBSTRATES AND IDENTIFICATION OF THE CATALYTICALLY LABILE OXYGEN.** *The Journal of Biological Chemistry*, **274**: 3323-3330.

Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., and Roncalés., P. (2011). Antimicrobial activity of Pistacialentiscus and Saturejamontana essential oils against Listeria

monocytogenes CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, **22**: 1046-1053.

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

E

Eger, B. T., Enroth, C., Nishino, T.N. Okamoto, K., and Pai, E. (2000). Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *The National Academy of Sciences*, **97**: 10723-10728.

Elmets, C. A., Katiyar, S., Matsui, M., Mukhtar, H., Singh, D., and Tubesing, K. (2001). Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **44**:425–432.

Ernst, M and Fravel, M., (2009). Febuxostat: A Selective Xanthine-Oxidase/Xanthine Dehydrogenase Inhibitor for the Management of Hyperuricemia in Adults With Gout. *Clinical Therapeutics*, **31**: 2503-2518.

F

Falasca, G. F., (2006). Metabolic diseases: gout. *Clinics in Dermatology*, **24**: 498-508.

Filippich, LL. J., Oelrichs, P. B., Pearce, C. M., and Zhu, J. (1994). Isolation and structure determination of terminalina toxic condensed tannin from *Terminalia oblongata*. *Natural Toxins*, **2**: 144–150.

Funatogawa, K. Hatano, T., Hayashi, S., Hirai, Y., Ito, H., Shimomura, H., and Yoshida, T. (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins dericinal plants againts *Helicobacter pylori*. *Microbial.Immunol*, **48**: 251 – 261.

G

Giesecke, D. and Tiemeyer, W. (1984). Defect of uric acid uptake in Dalmatian dog liver. *Experientia*, 40:1415-6.

Hassan, I., Gilbert, D. (2011). Acide urique et fonction rénale. *Revue du Rhumatisme*, 78 : 134-141, Paris, France.

Ghisla S and Massey V. (1989). Mechanims of flavoprotein-catalysed reactions. *Eur. J. Biochem.* 181:1-17.

Granger, D. N., and Parks, D. A. (1986).Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiologica Scandinavica*, 548:87-99.

Graessler, J., Graessler, A., Kopprasch, S., Kuhlisch, E., Unger, S., and Tausche, A. K. (2006). Association of the human urate transporter 1 with reducedrenal uric acid excretion and hyperuricemia in a German Caucasianpopulation. *Arthritis Rheum*, 54: 292-300.

H

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.

Harparkash, K.,and Barry, H. (1990). Action of biologically- relevant oxidizing species upon uric acid.Identification of uric acid oxidation products. *Chem.-Biol Interactions*, 73: 235-247.

Hassan, I., and Gilbert, D. (2011). Acide urique et fonction rénale. *Revue du Rhumatisme*, 78: 134-141, Paris, France.

Hille, R., and Massey, V. (1982). The presence of a reducible disulfide bond in milk xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 257: 8898-890.

Hille, R., and Massey, V. (1981).Studies on the Oxidative Half-reaction of Xanthine Oxidas.*The Journal of Biological Chemistry*, 256: 9090-9095.

Hille, R., and Nishino, T. (1995). Flavoprotein structure and mechanism. 4. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *The FASEB Journal*, **9**: 995-1003.

Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Chen, J., and 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.

I

Inokuchi, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S., Tsutsumi, Z., Ka, T., Asako, Y. Cheng, J., Hashimoto-Tamaoki, T., Toshikazu, Hada., and Tetsuya, Y. (2004). Identification of a New Point Mutation in Hypoxanthine Phosphoribosyl Transferase Responsible for Hyperuricemia in a Female Patient. *Metabolism*, **53**: 1500-1502.

Ira, P. (2006). An update on gout. *Indian Journal of Rheumatology*, **1**: 60-65.

Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins*. 2ième édition Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296.

J

Jason, D and Anil, B. (2003). Clinical manifestations and treatment of Gout. *Elsevier Science Inc.*, **10**: 19-23.

Junior, A.G., Boffo, M.A. Bothlh-Louenço, E.L., Alvesstefanol, M.E., Leit-Kassya, C.A., and Andran-Marques, U.C. (2009). Natriuretic and diuretic effet of *tropaeo liummajus* (Tropaeolium) in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, **122**: 517-522.

K

Kehrer, J. P. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, **149**: 43–50.

Kim, S. H. (2003). Anti-angiogenic, antioxidant and xanthine oxidase inhibition activities of the mushroom *Phellinuslinteus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**: 113-116.

Kobayashi, H., Nagao, A., and Seki, M. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci.Biotechnol.Biochem*, **63**: 1787 – 1790.

Kong, L.D., Cai, Y., Huang, W.W., Cheng, H.K-C., and Tan, R.X. (2000). Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinalplants used to treat gout. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**: 199-207.

Kumar, A., Edward, N., White, M. I., Johnston, P. W., and Catto, G. R. (1996). Allopurinol, erythema multiforme and renal insufficiency. *BMJ.*, 312: 173-174.

Kuo, C Y., Erl-Shyh Kao, E S., Chan, K C., Huei-Jane 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.

L

Lafforgue, P and Legré, V. (2005). Maladies et Grands Syndromes – Arthropathies microcristallines (225). *Faculté de Médecine de Marseille*, **3**: 3-22.

Legré, V., Pham, T., and Lafforgue, P., (2002). Gouttes iatrogènes. *Revue de Rhumatologie*, **69** : 397-401.

Linder, N., Rapola, J., and Raivio, K. O. (1999). Cellular expression of xanthine oxidoreductase protein in normal human tissues. *Journal of technical Methods and Pathology*, **79**: 967-974.

Lippi, G., Montagnana, M., Franchini, M., Favaloro, E., and Targher, G., (2008). The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease. *Elsevier Clinica. Chimica. Acta.*, **392**: 1-7.

Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H., and Bomzon, A., (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**: 198-204.

M

Manetas, Y., and Nikiforou, C. (2010). Strength of winter leaf redness as an indicator of stress vulnerable individuals in *Pistacia lentiscus*. *Flora*, 205:424–427. *Ann Ist Super Sanità*, **43**: 348-361.

Markovics, A., Cohen, I., Muklad, H., Glasser, T.A., Dvash, L., Ungar, E.D., Azaizeh, H., and Landaub, S.Y. (2012). Consumption of *Pistacia lentiscus* foliage alleviates coccidiosis in young goats. *Veterinary Parasitology*, **186**: 165-169.

McKay, D. L., and Blumberg, J. B. (2002). The Role of Tea in Human Health: An Update. *Journal of the American College of Nutrition*, **21**: 1–13.

Meera, R., Devi, P., Muthumani, P., Kameswari, B., and Eswara-priya, B. (2009). Evaluation of diuretic activity from *Tylophoraindica* leave extracts. *Journal of pharmaceutical.Science and research*, **1**: 112 – 116.

Mendel, R., Garratini, E., Romao, M. J., Terao, M., and Wright, R. (2003). Mammalian molybdo-flavoenzymes, an expanding family of proteins: structure, genetics, regulation, function and pathophysiology. *Biochemical Society*, **372**: 15-32.

Merrimana, T.R and Dalbeth, N. (2010). Bases génétiques de l'hyperuricémie et de la goutte. *Revue du rhumatisme monographies*, **77**: 328-334.

Mezni, F., Maaroufi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Khouja, M L., and Khaldi, A., (2012). Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**: 5266-5271.

Mitcheh, A. (1986). *Tous les Arbres de nos Forêts*. Paris: Édition Bordas, p 319.

Molan, A. L., Meagher, L. P., Spencer, P. A., and Sivakumaran, S. (2003). Effect of flavan-3-ols on in vitro egg hatching, larval development and viability of infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*, *International Journal for Parasitology*, **33**:1691–1698.

Montserrat-Martí, G and Pérez-Rontomé, C. (2002). Fruit growth dynamics and their effects on the phenological pattern of native *Pistacia* populations in NE Spain. *Flora*, **197**: 161-174.

More, D., and White, J. (2005). Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. *Flammarion*, **797**: 18.

Murad, F., and Turko, I. V. (2002). Protein Nitration in Cardiovascular Diseases. *Pharmacological Reviews*, **54**: 634-4619.

Muxfeldt, M., and Schaper, W. (1987). The activity of xanthine oxidase in heart of pigs, guinea pigs, rabbits, rats, and humain. *Basic Res Cardiol*, **82**: 486-492.

P

Perello, J., Sanchis, P., and Grases, F., (2005). Determination of uric acid in urine, saliva and calcium oxalate renal calculi by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **824**: 175-180.

Perez-Ruiz F, Calabozo M, Erauskin GG, Ruibal A, and Herrero-BeitesAM.(2002). Renal underexcretion of uric acid is present in patients with apparenthigh urinary uric acid output. *ArthritisRheum*, **47**:610-3.

Q

Quezel, P., and Santa, S. (1962). *Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*. Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Tome **1** :p 611.

R

Ranjith, A., Meena, R., Aravind, S G., and Arumughan, C. (2011).Tetrahydroamentoflavone (THA) from *Semecarpus anacardium* as a potent inhibitor of xanthine oxidase. *Journal of Ethnopharmacology*, **133**: 1117-1120.

Ribeiro, M., Aparecida, C., periera, M L., Grad-Guimaraes, A., Dias, J., et Saude-and Guimaraes, D A., (2012). Pharmacological basis for use of Lychnophoratrichocarpha in gouty arthritis: Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, **142**: 845–850.

Richette, P and Bardin, T., (2010). Gout. *Seminar : fédération de rhumatologie*, **375**: 318-328.

Richter, G. (1993). *Métabolisme des végétaux. (Physiologie et biochimie)*. Edition DUNOD : 318-339.

Rodman, J. S., (2002). Intermittent versus continuous alkaline therapy for uric acid stones and ureteral stones of uncertain composition. *Elsevier science inc., urology*, **60**: 378-382.

Rodriguez-Pierrez, C., Quirantes-Pinie, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Khodir, M., Segura-Carretero, A., and Ferniandez-Gutierrez, A., (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Accepted Manuscript*, **50**: 1-30.

Romani, A., Baratto, M. C., Basosi, R., Galardi, C., Pinelli, P., Pogni, R., Tattini, M., and Visioli, F. (2003). Antioxidant Activity of Galloyl Quinic Derivatives Isolated from *P. lentiscus* leaves. *Free Radical Research*, **37**: 405-412.

S

Sadikun, A. (2008). Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphonstamineus* methanol extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **118**: 354-360.

Sapag, A., Frischling, E., and Laborde, H., (2013). Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency in a patient with a Madrid II mutation. *Joint Bone Spine*, **80**: 93-95.

Sekli-Belaidi, F. (2011). Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4- éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat, Génie des Procédés et de l'Environnement, université de Toulouse, pp : 1-168.

Seigue, A. (1985). *La forêt Circum méditerranéenne et ses Problèmes*. Paris : Maisonneuve et Larose, pp 22 – 27, pp 137 – 139.

Simmonds, H.A., Cameron, J.S., Morris, G.S., and Davies, M.P. (1986). Allopurinol in renal failure and the tumour lysis syndrome. *Clinica. Chimica. Acta.*, **160**:189-195.

T

Tetsuya, Y., Yuji, M., and Sumio, T., (2005). Effect of ethanol on metabolism of purine bases (hypoxanthine, xanthine, and uric acid). *Elsevier Clinica. Chimica. Acta.*, **356**: 35-57.

U

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

V

Vikneswaran, M and Kit-Lam, C., (2009). Mechanisms of antihyperuricemic effect of *Phyllanthus niruri* and its lignin constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, **124**: 233-239.

W

Wallach, S. L. (1998). The side effects of allopurinol. *Hosp. Pract.*, **33**: 22.

Wang, X., Wang, C P., Hu, Q H., Lv, Y Z., Zhang, X., Yang, Z O., and Kong, 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.

Weiss, S.J. (1986). Oxygène, ischemia and inflammation. *Acta physiologica Scandinavica*, **548**: 9-37.

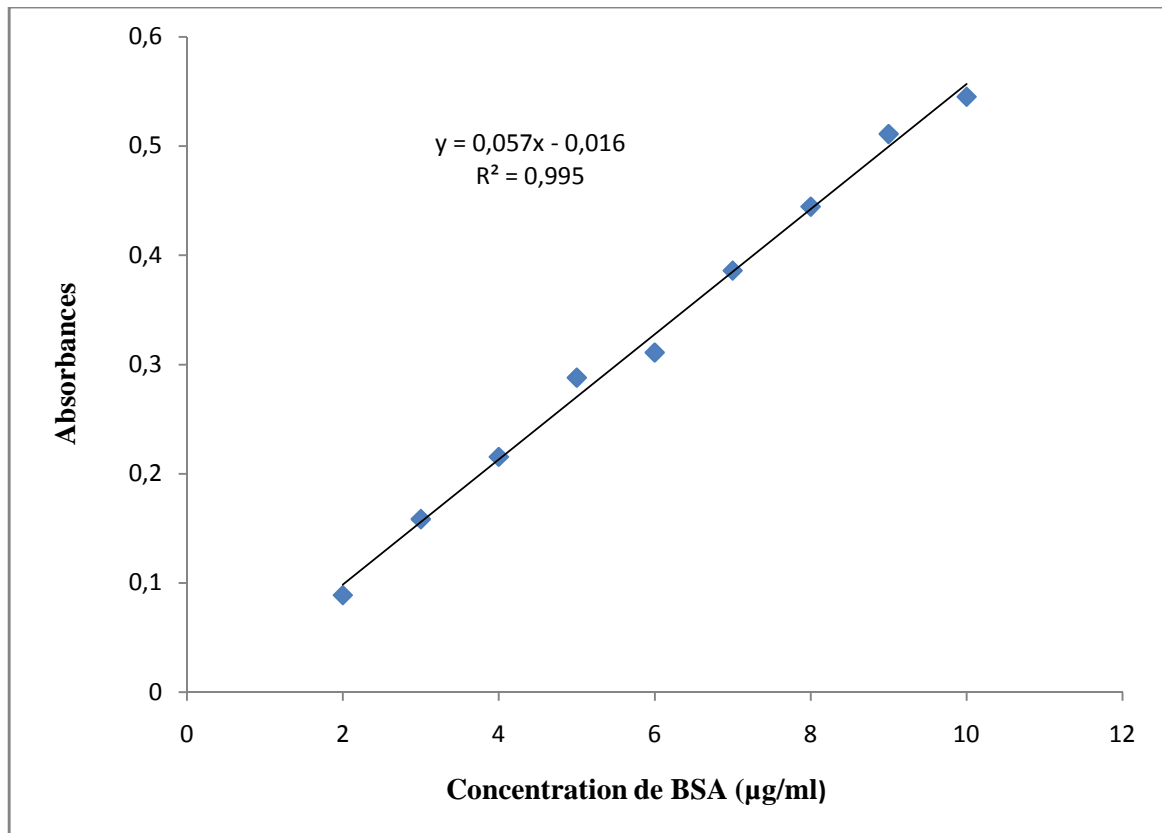
Wilcox, W D. (1996). Abnormal serum uric acid levels in children. *Journal of Pediatrics*, **128**: 731-741.

Υ

Yahya, M. (1992). La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie. *Ain Taya*, p59.

Z

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

Annexe I: Courbe d'étalonnage**Figure 1:** Graphe de la courbe d'étalonnage.

Annexe II : Résultats des extraits éthanolique des feuilles de *Pistacialentiscus* chez les souris hyperuricémiques (Tableau I) et normales (Tableau II).

Tableau I : Effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur les concentrations d'acide urique dans le sérum, chez des souris normales.

Traitement	Animaux	Doses (mg/kg)	Niveaux d'AU (mg/dl) moy ± S.E.M	Inhibition (%)
Véhicule	06	-	3.11 ± 0.35	-
E-PF	06	100	2.65 ± 0.35	14.79
E-PF	06	200	2.76 ± 0.13	11.25
E-PF	06	400	2.72 ± 0.38	12.54
Allopurinol	06	10	0.31 ± 0.02**	33.11

- E-PF : extraits de feuilles de *Pistacialentiscus*.
- (%) d'inhibition = $100((\text{véhicule} - \text{l'expérience}) / \text{véhicule})$.
- **P<0.01 en comparant avec le groupe de véhicule.

Tableau II : Effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur les concentrations d'acide urique dans le sérum, chez les souris traitées avec l'inhibiteur de l'uricase, l'oxonate de potassium.

Traitement	Animaux	Doses (mg/kg)	Niveaux d'AU (mg/dl) moy ± S.E.M	Inhibition (%)
Véhicule	06	-	3.11 ± 0.35	-
OP	06	250	4.42 ± 0.16	-
OP + Extrait	06	100	2.43 ± 0.34###	45.02
OP + Extrait	06	200	2.63 ± 0.21###	40.49
OP + Extrait	06	400	2.08 ± 0.23###	52.94
OP + Allopurinol	06	10	0.33 ± 0.02	92.53

- OP : oxonate de potassium.
- (%) d'inhibition = $100((\text{OP seul} - \text{l'expérience}) / \text{OP seul})$.
- ###P<0.001 en comparant avec le groupe d'oxonate de potassium seul.

Résumé

L'action hyperuricémique de l'extrait éthanolique du *Pistacia lentiscus*, une plante médicinale locale utilisée dans le traitement des ulcères d'estomac, le rhumatisme et la goutte, a été évaluée *in vivo*, en utilisant l'oxonate de potassium comme inducteur de l'hyperuricémie chez les souris. L'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* a significativement réduit les niveaux d'acide urique (0,001). Seul l'extrait à 400 mg/kg qui a exhibé une activité inhibitrice de la XO, avec 23.97 % chez les souris normales, par contre, chez les souris hyperuricémiques, l'extrait à 200 et 400 mg/kg a exhibé 20.25 % de XO et 20.75 % sur les deux formes. Par ailleurs l'allopurinol a significativement inhibé 67.62 % de XO et 64.09 % de XDH à 10mg/kg. L'effet hypouricémiant de l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus* pourrait être liée à un effet uricosurique en grande partie, en agissant sur les transporteurs rénaux.

Mots clés : hyperuricémie, *Pistacia lentiscus*, extrait éthanolique, xanthine oxidoreductase

Abstract

Hyperuricemic action of ethanolic extract from *Pistacia lentiscus*, local medicinal plant used in the treatment of stomach ulcers, rheumatism and the drop was evaluated *in vivo*, using potassium oxonate which induce this action to mice. The levels of uric acid (0.001), was significantly decreased with the ethanolic extract from the leaves of *Pistacia lentiscus*. Only the extract at 400 mg/kg which exhibit an inhibiting activity of the XO with a level of 23.97 % from standard mice, but at the hyperuricemic mice the extract at 200 mg/kg and 400 mg/kg have exhibit 20.25 % of XO and 20.75 % for XO/XDH. In addition the allopurinol has significantly inhibited 67.62 % of XO and 64.09 % of XDH at 10mg/kg. The hyperuricemic effect of the extract from the leaves of *Pistacia lentiscus* could be mainly related to an effect uricosuric, in acting at the renal transporters.

Key words: hyperuricemia, *Pistacia lentiscus*, ethanolic extract, xanthine oxidoreductase