

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Pharmaco-Toxicologie



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

**Évaluation des activités biologiques
de *Pistacia lentiscus***

Présenté par :

BOUSEBISSI Ikram & IMCHAL Célia

Soutenu le : **06 Juillet 2024**

Devant le jury composé de :

M. BRIBI Nouredine	Professeur	Président
M^{me}. ABDERRAHIM Sabiha	MCA	Examinatrice
M^{me}. RAHMANI- BERBOUCHA Meriem	MAA	Promotrice
M^{me}. BOUCHEFFA Saliha	MCA	Co-Promotrice

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la patience, la volonté et nous a guidé à réaliser ce travail.

Nos plus sincères remerciements s'adressent à notre chère promotrice Madame RAHMANI-BERBOUCHA. M., pour sa simplicité, sa collaboration, sa disponibilité ainsi qu'au précieux conseils et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de notre travail.

Nous tenons à remercier les membres de jury (Mr BRIBI N. & Mme ABDERRAHIM S.) pour avoir accepté d'examiner notre travail sans oublier l'ensemble des enseignants de notre faculté SNV en général et nos enseignants du département Biologie Physico-Chimique en particulier, ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'études.

Nous remercierons également notre Co-promotrice, Mme BOUCHEFFA S. Ainsi qu'à Madame BAHLOUL.N, pour leur disponibilité, ses orientations, et les efforts qu'elles avaient consentis avec beaucoup de sympathie et de patience, mais également toute l'équipe du laboratoire de biochimie appliqué, à nos collègues, ainsi qu'à notre ingénieure de laboratoire pour leur disponibilité

Enfin nos vifs remerciements sont adressés plus particulièrement à nos très chers parents, qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider, nous orienter avec beaucoup d'amour et nous supporter tout au long des années d'études.

Nous voudrions adresser nos sincères reconnaissances et nos gratitudes les plus profondes à tous ceux qui ont aidé à l'accomplissement de ce travail.

Dédicaces

Avec un immense plaisir et une profonde joie que je dédie ce modeste travail à mes chers parents. Leur affection, leur amour et leurs sacrifices permanents pour mon avenir m'ont soutenu tout au long de mes années d'études. Je leur dois toute ma vie, mon respect, et je les remercie infiniment.

A mon très chère frère, Mustapha, que dieu le garde pour moi,

À mes chères cousines adorées, à toute ma famille et à tous mes amis, merci pour les moments passés ensemble, ainsi que pour leurs conseils

et leur soutien moral.

À mon binôme, l'adorable Célia, en témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des merveilleux moments que nous avons partagés. J'ai eu l'honneur

de travailler avec toi et je te remercie du fond du cœur.

Je tiens énormément à remercier ma sœur DYLIA pour son soutien moral inestimable et son enthousiasme contagieux, qui m'ont accompagnée tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Enfin, à toute personne qui m'a encouragée ou aidée tout au long de mon cursus, je vous exprime ma profonde gratitude.

Ikram

Dédicaces

*Avant tout, j'aimerai dédier ce travail à mon père qui a été toujours présent, sans sa confiance, sa compréhension, son soutien et surtout la bonne éducation qu'il nous a donné, je ne serai jamais ce que je suis aujourd'hui. Tout mon respect et mon affection
papa.*

*J'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma très chère mère, qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances et qui n'a pas cessé de m'encourager durant toutes mes années d'études. Les mots ne suffiront pas et
n'exprimeront pas tout ce que j'aimerai dire.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma sœur Kahina pour son soutien moral inestimable et son enthousiasme contagieux, qui m'ont accompagnée tout au long de la
réalisation de ce mémoire.*

A ma tante Houda, pour son soutien inestimable et ses encouragements chaleureux

A mes très chers frères, Fatah, Bachir et yuba, que dieux les garde pour moi.

A ma belle-sœur Lydia, ainsi que mon petit neveu Kylian, merci pour votre amour

*À mes chères cousines adorées, Naima, Assia, Asma, Houda, Biba, Chaïma, Yasmine,
Imene, Aïcha*

*À mes copines, Baya, Imene, Keltoum, Tinhinane, Wiwi, Yasmine, merci pour leur
soutien moral*

*A toi mon binôme Ikram, En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de
tous les moments que nous avons passés ensemble.
Je te remercie.*

A toute la promotion Pharmacologie Toxicologie 2024

Célia

Liste des abréviations

ABCG2 :	ATP-binding cassette super-family G member 2
ADMET :	Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity
ADT :	AutoDock Tool
AINS :	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
ANOVA :	Analyse de la variance
ASC :	Apoptosis associated speck-like protein containing a caspase
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
BSA :	Bovine Serum Albumin
Cag A :	Cytotoxin associated gene A
COX :	Cyclo-oxygénase
CRP :	La protéine C réactive
DPPH :	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
FAD :	La flavine adénine dinucléotide
FRAP :	Ferric Reducing Antioxidant Power
GLUT :	Glucose Transporter
GPCR :	Récepteur couplé aux protéines G
IPP :	Pompe à protons
LDL :	low density lipoprotein
IL-1β :	Interleukine 1 bêta
MAPK :	Mitogen-activated protein kinases
MDA :	Malondialdéhyde
MYD :	Myéloïde
NAD :	Nicotinamide adénine dinucléotide
NET :	Neutrophil extracellulaire trap
NETs :	Neutrophiles extracellular traps
NF-κB :	Nuclear factor kappa beta
NLRP :	NOD-like receptor protein
OAT :	Organic Anion Transporter
PDB :	Protein Data Bank
PF :	Pistachia feuilles éthanolique

PFA :	Pistachia feuilles aqueux
PG :	Pistachia graines éthanolique
PGA :	Pistachia graines aqueux
PRE :	Pistachia écorce des racines éthanolique
PREA :	Pistachia écorce des racines aqueux
RMSD :	Root Mean Square Deviation
ROS :	Espèces réactives de l'oxygène
THA :	Tetrahydroamentoflavone
TLR :	Toll-like receptors
TNF-α :	Facteur de nécrose tumorale alpha
TPTZ :	2,4,6-Tripyridyl-s-triazine
UMS :	Urat monosodique
URAT :	Urate anion transporter
Vac A :	Vacuolating cytotoxin A
XDH :	Xanthine dehydrogenase
XO :	Xanthine oxydase

Liste des figures

Figure 1 : Points de contrôle dans la progression de l'hyperuricémie vers les manifestations cliniques de la goutte.....	9
Figure 2 : Colonisation de la muqueuse gastrique et genèse des lésions par <i>H.pylori</i>	12
Figure 3 : Réaction enzymatique d'hydrolyse de l'urée catalysée par l'uréase.....	13
Figure 4 : Photographies originales des feuilles, écorces des racines et graines de <i>P.lentiscus</i>	16
Figure 5 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction des feuilles et écorce des racine de <i>P.lentiscus</i>	18
Figure 6 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction des graines de <i>P.lentiscus</i>	19
Figure 7 : Effet inhibiteur de la molécule de référence, Allopurinol sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i>	24
Figure 8 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PF) et aqueux (PF A) des feuilles de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i>	25
Figure 9 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PERE) et aqueux (PERA) d'écorce des racines de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i>	27
Figure 10 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PG) et aqueux (PGA) des graines de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i>	28
Figure 11 : Effet inhibiteur de l'acide borique sur l'activité enzymatique de l'uréase, <i>in vitro</i>	30
Figure 12 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PF) et aqueux (PF A) des feuilles de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase, <i>in vitro</i>	31
Figure 13 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PER) et aqueux (PERA) d'écorce des racines de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase, <i>in vitro</i>	32
Figure 14 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PG) et aqueux (PG A) des graines de <i>P.lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase, <i>in vitro</i>	33
Figure 15 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'allopurinol avec la xanthine oxydase (XO).....	35
Figure 16 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'acide gallique avec la xanthine oxydase (XO).	37
Figure 17 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'acide élлагique avec la xanthine oxydase (XO).	38

Figure 18 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de la quercétine-3-Glucoside avec la xanthine oxydase (XO).	39
Figure 19 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de la catéchine avec la xanthine oxydase (XO).....	40
Figure 20 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire du theogallin avec la xanthine oxydase (XO).....	41

Liste des tableaux

Tableau I : Exemples d'activités biologiques de <i>P.lentiscus</i>	5
Tableau II : Différents types de traitements de la goutte	10
Tableau III : Taux d'extraction des différentes parties de <i>P.lentiscus</i>	23
Tableau IV : Pouvoir réducteur des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, de l'écorce des racines et des graines de <i>P.lentiscus</i>	23
Tableau V : Valeurs des $IC_{50} \pm S.D.$ et les coefficients de corrélations (R^2), pour les différents extraits de <i>P.lentiscus</i> et l'Allopurinol.	29
Tableau VI : Valeurs des $IC_{50} \pm S.D.$ et les coefficients de corrélations (R^2), pour les différents extraits de <i>P.lentiscus</i> et de l'acide borique.	34
Tableau VII : Résultats des forces de liaison (Scores du docking, ΔG), des constantes d'inhibition (K_i), des types de liaison et leurs distances entre les ligands testés et la XO.36	

Table des matières

Liste des abréviations.....	5
Liste des figures.....	7
Liste des tableaux.....	9
Introduction.....	12
Chapitre I.....	3
Revue bibliographique	3
I.1. <i>Pistacia lentiscus</i>	3
I.1.1. Description de la plante	3
I.1.2. Utilisations traditionnelles	3
I.1.3. Composition chimique et activités Pharmacologiques de <i>P.lentiscus</i>	4
I.2. Arthrite goutteuse.....	6
I.2.1. Définition de la goutte	6
I.2.2. Prévalence et facteurs de risques	6
I.2.3. Symptômes et diagnostique.....	8
I.2.4. Physiopathologie	8
I.2.5. Traitements de la goutte.....	9
I.3. Ulcère gastrique	10
I.3.1. Définition.....	10
I.3.2. Facteurs de risque	11
I.3.3. Traitements de l'ulcère	13
I.4. Docking moléculaire	14
Chapitre II.....	3
Matériel & méthodes	3
II.1. Matériel	16
II.1.1. Matériel végétal	16
II.2. Méthodes	16
II.2.1. Séchage, broyage et extraction.....	16
II.2.2. Évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de réduction du fer (FRAP) des extraits de <i>P.lentiscus</i>	19
II.2.3. Évaluation de l'effet inhibiteur de la xanthine oxydase par les extraits de <i>P.lentiscus</i>	20
II.2.4. Evaluation de l'effet inhibiteur de l'uréase	21
II.2.5. Docking moléculaire	21
II.2.6. Analyse statistique des résultats.....	22
Chapitre III.....	16

Résultats & discussion	16
III.1. Résultats	23
III.1.1. Extraction des composés phénoliques	23
III.1.2. Pouvoir antioxydant des extraits des feuilles, d'écorce des racines et du fruit de <i>P. lentiscus</i>	23
III.1.3. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i>	24
III.1.3.1. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i> , par la molécule de référence, Allopurinol	24
III.1.3.2. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, <i>in vitro</i> , par les extraits des feuilles, de l'écorce des racines et des graines de <i>P. lentiscus</i>	25
III.1.3.3 Détermination des concentrations inhibitrices à 50%, IC50	28
III.1.4. Activité inhibitrice de l'uréase, <i>in vitro</i>	29
III.1.4.1. Evaluation de l'activité inhibitrice de la molécule de référence, acide borique, sur l'activité enzymatique de l'uréase de Jack Bean, <i>in vitro</i>	29
III.1.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits feuilles, écorce des racine et graines de <i>P. lentiscus</i> sur l'activité enzymatique de l'uréase de Jack Bean (<i>Canavalia ensiformis</i>), <i>in vitro</i>	30
III.1.4.3 Détermination des concentrations inhibitrices à 50%, IC50	34
III.1.5. Docking moléculaire	35
III.2. Discussion	42
Les plantes médicinales représentent une source inexhaustible de substances aux activités biologiques et pharmacologiques variées. Les extraits naturels isolés des plantes utilisées en médecine traditionnelle peuvent constituer des ressources pour le développement de nouveaux médicaments (Ennabili et al., 2006 ; Al-Rooqi et al., 2023)	42
Conclusion	23
Références bibliographiques	59
Annexes	

Introduction

Introduction

Étant donné que les médicaments synthétiques entraînent dans la plupart du temps des effets secondaires complexes, l'intérêt de l'humanité se tourne de plus en plus vers la recherche et le développement de la médecine traditionnelle à base de plantes. En fait, depuis son apparition sur Terre, l'Homme a toujours eu des relations étroites avec le monde végétal (**Benhammou & Bekkara, 2009**).

Les plantes ont toujours fait partie de son alimentation. En plus de cette approche nutritionnelle essentielle, l'être humain a su utiliser diverses plantes spécifiques sous différentes formes pour traiter ses maladies. Au fil des siècles et des cultures, la médecine par les plantes s'est développée. De nombreuses nouvelles formes de préparations à base de plantes à des fins thérapeutiques ont ainsi émergé (**Bhat et al., 2005**).

Pistacia lentiscus, une espèce très utilisée en médecine traditionnelle qui fait partie des grandes familles des Anacardiaceae, largement répartie dans le bassin méditerranéen, et très connue pour traiter plusieurs maladies notamment, l'arthrite goutteuse et l'ulcère gastrique (**Grundwag, 1976 ; Bammou et al., 2015**).

Dans ce contexte, l'inhibition de deux enzymes cruciales en relation directe avec ces deux maladies fait l'objet de plusieurs études au cours des dernières années (**Ahmad et al., 2008 ; Abdel-Sater, 2011 ; Nabati et al., 2012 ; Ha et al., 2022**).

En fait la xanthine oxydase (XO) est une enzyme cruciale dans la production d'acide urique ou l'accumulation excessive de ce dernier, peut entraîner des conditions l'hyperuricémie et la goutte (**Harrison, 2002**). Actuellement, l'allopurinol est utilisé comme inhibiteur de référence de la xanthine oxydase dans le traitement de la goutte. Cependant, son usage à long terme est limité par ses effets secondaires (**Pacher et al., 2006**). Cela justifie la recherche de nouveaux inhibiteurs naturels de la XO.

Parallèlement, l'uréase est une enzyme impliquée dans la dégradation de l'urée en ammoniacque et dioxyde de carbone, un processus crucial dans diverses infections bactériennes, notamment celles causées par *Helicobacter pylori*, responsable des ulcères gastriques (**Mobley et al., 1995**). L'acide borique, inhibiteur standard de l'uréase, présente des limitations en termes de toxicité et d'efficacité (**Abdulmir & Heng, 2010**). Par conséquent, l'identification de nouveaux inhibiteurs naturels de l'uréase revêt une importance médicale considérable.

Le développement de nouveaux médicaments a longtemps été un processus coûteux et chronophage. Cependant, les avancées en informatique et en bio-informatique, notamment le docking moléculaire, ont révolutionné ce domaine (**Sahu et al., 2024**).

De ce fait, le docking et la dynamique moléculaire sont désormais des outils essentiels pour prédire la position préférentielle d'un ligand dans un récepteur et vérifier la stabilité de leur complexe (**Tao et al., 2020**).

Ce travail est partagé en deux principaux volets, le premier volet consiste en l'évaluation des effets pharmacologiques des extraits de feuilles, d'écorce des racines et des graines de *P.lentiscus*, à savoir l'effet anti-oxydant, via l'étude du pouvoir réducteur du fer (FRAP), l'effet anti-goutte et anti-ulcère, *in vitro*, qui consiste à réaliser des tests d'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase et de l'uréase, respectivement. Le second volet, vise à déterminer le mécanisme moléculaire d'interaction qui se déroule entre l'enzyme (xanthine oxydase) et ses inhibiteurs, à savoir, la molécule de référence, allopurinol ; et les composés majoritaires dans l'extrait des feuilles de *P.lentiscus*. Un criblage virtuel par le Docking est réalisé et l'énergie de liaison est déterminée.

Chapitre I

Revue bibliographique

I.1. *Pistacia lentiscus*

I.1.1. Description de la plante

Pistacia lentiscus L., communément appelé le lentisque, a été initialement décrit par le botaniste Linné en 1753 (Zerey-Belaskri, 2019). C'est une espèce végétale appartenant à la famille des Anacardiaceae, largement distribués dans les régions méditerranéennes et se présente sous forme d'un arbrisseau vivace pouvant atteindre 1 à 3 mètres de hauteur et jusqu'à 2 mètres de largeur. Ses fruits, des drupes arrondies mesurant de 3 à 4 mm de diamètre, initialement rouges, noircissent à maturité (Grundwag, 1976 ; Bammou et al., 2015). La floraison s'étend d'avril à juin, tandis que la fructification survient entre octobre et novembre. Cette plante est largement répandue dans les pays méditerranéens et joue un rôle significatif dans la flore algérienne. Elle est connue sous différents noms selon les régions, tels que "Amadagh" ou "Tidekt" en Kabylie, et "Dro" en arabe local, reflétant ainsi la richesse linguistique et culturelle de la région ainsi que l'importance de cette plante dans les traditions et les usages locaux (Benhammou & Bekkara, 2009 ; Beldi et al., 2021).

I.1.2. Utilisations traditionnelles

Depuis l'Antiquité, la plante *P.lentiscus* a été une ressource inestimable, imprégnant divers aspects de la vie quotidienne par son rôle crucial dans la culture et la médecine. Ses multiples composantes ont été exploitées à des fins variées, de la thérapie à la fabrication artisanale et industrielle (Benhammou & Bekkara, 2009).

En fait, *P.lentiscus* couvre un large éventail de troubles, incluant l'eczéma, les infections buccales, les diarrhées, les calculs rénaux, la jaunisse, les maux de tête, l'asthme et les problèmes respiratoires. De plus, l'huile extraite des fruits est souvent utilisée en application externe pour traiter les brûlures et les douleurs dorsales et réputée pour son efficacité dans le traitement des varices, de la lourdeur des jambes et des hémorroïdes (Bozorgi et al., 2013).

P.lentiscus agit également comme antipyrétique et anti-inflammatoire, et est particulièrement efficace contre *Helicobacter pylori*, soulageant ainsi les ulcères gastriques, et dans le traitement de l'arthrite goutteuse (Duru et al., 2003 ; Beldi et al., 2021 ; Blama et al., 2024).

L'incision des tiges permettait de recueillir le mastic, une substance précieuse aux multiples vertus médicinales, utilisée pour traiter diverses affections incluant les troubles bronchiques, les ulcères, les douleurs gastriques et abdominales, ainsi que pour favoriser la diurèse (**Paraschos et al., 2012**).

D'une autre part, les feuilles étaient précieuses pour leur utilisation dans le tannage et la teinture, tandis que les baies étaient une source d'huile pour l'éclairage. La résine, de sa part, servait également à la fabrication d'adhésifs et pour protéger divers matériaux comme le verre et le métal (**Siano et al., 2020**). Aussi, utilisée dans la fabrication du chewing-gum traditionnel en Iran, ainsi que dans la composition de dentifrices et de produits d'obturation dentaire. L'huile essentielle dérivée de l'oléorésine trouvait, quant à elle sa place dans la parfumerie, la cosmétique et comme agent aromatisant dans l'alimentation (**Duru et al., 2003**).

I.1.3. Composition chimique et activités Pharmacologiques de *P.lentiscus*

P.lentiscus est une plante qui offre une richesse de composés chimiques dans ses différentes parties, ce qui suscite un vif intérêt dans les domaines de la phytochimie et de la médecine. L'analyse des extraits de différentes parties de lentisque a permis d'identifier plusieurs métabolites. En effet, plusieurs acides phénoliques ont été détectés, parmi lesquels figure l'acide gallique, acide digallique et acide quinique (**Castola et al., 2000 ; Romani et al., 2002 ; Mehenni et al., 2016**). Les dérivés de l'acide quinique, les dérivés galloyl du glucose et de l'acide quinique, comme l'acide 5-O-digalloyl quinique ont été aussi caractérisés (**Vaya & Mahmood, 2006 ; Rodríguez-Pérez et al., 2013 ; Bammou et al., 2015**).

De plus, *P.lentiscus* est riche en flavonoïdes, essentiellement les flavonols (Myricétine), les flavanols (Catechine), les flavonols glycosilés (Myricitine-Rhamnoside et quercétine-Glucoside), les flavones (lutéoline et apigénine) et les anthocyanines (**Romani et al., 2002; Mehenni et al., 2016**).

Par ailleurs, les leucoanthocyanes, tanins totaux et galliques, ainsi que des flavonoïdes ont été caractérisés dans la partie du fruits de *P.lentiscus* (**Arab et al., 2015**). L'analyse réalisée par **Longo et ses collègues (2007)** sur les fruits de *P.lentiscus* a révélé la présence de trois anthocyanes: la cyanidine 3-O-glucoside, la delphinidine 3-glucoside et la cyanidine 3-O-arabinoside (**Longo et al., 2007**).

D'une autre part, l'huile extraite des fruits est principalement composée d'acides gras mono-insaturés, notamment l'acide oléique, et de phytostérols, dont le β -sitostérol prédomine, le cholestérol et le stigmastérol (**Trabelsi et al., 2012**).

En plus de ces composés, la plante renferme également des monoterpènes, tels que le α -pinène, le β -myrcène et le limonène, les stérols, dont le β -sitostérol, le cholestérol et le stigmasterol, font également partie de sa composition (Magiatis et al., 1999).

Cette diversité de composés confère à *P.lentiscus* un potentiel thérapeutique remarquable et en fait un sujet d'étude important pour la recherche scientifique. Plusieurs activités pharmacologiques de *P.lentiscus* ont été révélées. Un certain nombre de ces activités sont décrites dans le **Tableau I**.

Tableau I : Exemples d'activités biologiques de *P.lentiscus*

Activités Biologiques	Partie de la plante	Extraits/Composés	Effet thérapeutique	Références
Anti-ulcéreuse	Feuilles	-Extrait aqueux -Flavonoïdes et tanins	-Effet protecteur contre les lésions gastriques induites par HCl / éthanol chez le rat	Dellai et al., 2013
Anti-oxydante	Feuilles	-Acide digalloyl quinique, - Gallocatechine, -Myricétine-3-O-rhamnoside	-Forte activité antioxydante, évaluée par le test DPPH, et une inhibition significative de l'enzyme XO	Boucheffa et al., 2022
Anti-inflammatoire	Huile du fruit	-Acides gras insaturés (Acide oléique, linoléique, et palmitique) -Sesquiterpènes (β -caryophyllène)	-Inhibition de la COX-1 et COX-2 -Réduction de l'expression TNF- α , de l'IL-1 β et de l'interféron- γ	Ben Khedir et al., 2016
Hépatoprotectrice	Feuilles et fruit	-Catéchine, -Quercétine glucosylé	-Effet hépatoprotecteur sur l'hépatite aigue induite par le paracétamol, diminution de la nécrose tissulaire et réduction des taux de MDA et des transaminases	Mehenni et al., 2016
Anti-cancéreuse	Feuilles et fruit	-Acide gallique, -Myricétine	-Inhibition de la croissance des lignées cellulaires du mélanome	Remila et al., 2015
Anti-microbienne	Huile essentielle des parties aériennes	-Linalol, formiate, α -Longipinène, Chamigrene, -Acide propanoïque	-Forte activité antimicrobienne contre une gamme de bactéries (Gram ⁺ , Gram ⁻), comprenant <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abdoul-latif et al., 2021
Anti-diabétique	Feuilles et fruits	-Extrait éthanolique	Inhibition des enzymes α -amylase et α -glucosidase (enzyme digestive qui hydrolyse les polysaccharides)	Mehenni et al., 2016; Elloumi et al., 2022
Anti-xanthine oxydase	Feuilles et fruits	Extraits éthanolique et fractions aqueuses	Inhibition de l'enzyme xanthine oxydase	Berboucha et al., 2010
Cicatrisation des plaies	Feuilles	-Extrait de feuilles -Flavonoïdes glycosylés (myricétin-3-O-rhamnoside et quercétine-3-O-rhamnoside)	-Accélération de la cicatrisation et biosynthèse élevée de collagène dans les tissus de la plaie. -Diminution des niveaux de la CRP et du marqueur d'angiogenèse chez des rats étudiés	Elloumi et al., 2022

Les résultats de ces études confirment que la plante *P.lentiscus* se caractérise par un potentiel bioactif varié et intéressant. Nous nous intéressons dans ce mémoire à son potentiel anti-arthrite goutteuse et anti-ulcer.

I.2. Arthrite goutteuse

I.2.1. Définition de la goutte

La goutte, une forme d'arthrite inflammatoire, remonte à l'Antiquité, décrite pour la première fois par les Égyptiens il y a 2600 ans (**Guilbert, 1820**). Son lien avec l'acide urique a été établi au XIXe siècle par Garrod et Charcot, tandis que la présence de microcristaux d'urate de sodium dans les articulations touchées a été confirmée, en 1961 par des chercheurs américains (**Mccarty, 1961 ; Nuki & Simkin, 2006**).

La goutte se produit en raison d'une hyperuricémie chronique, caractérisée par un excès d'acide urique dans le sang, qui dépasse sa capacité de dissolution dans le plasma, se cristallise ainsi et déclenche une réponse inflammatoire du système immunitaire (**Fiddis et al., 1983 ; Lioté, 2011**). Ces dépôts de cristaux provoquent des crises aiguës d'arthrite douloureuse et peuvent entraîner des lésions articulaires à long terme (**Singh et al., 2021**).

I.2.2. Prévalence et facteurs de risques

La goutte est universellement reconnue comme la forme d'arthropathie la plus répandue à l'échelle mondiale. Au cours des récentes années, sa prévalence et son incidence ne cessent de croître (**Scuiller et al., 2020 ; Punzi et al., 2024**). Parmi les nombreux facteurs contribuant à cette tendance, l'hyperuricémie joue un rôle majeur, caractérisée par des niveaux élevés d'acide urique dans le sang, dépassant généralement 70 mg/L chez les hommes et 60 mg/L chez les femmes (**Kapetanovic et al., 2018 ; Scuiller et al., 2020**).

L'hyperuricémie peut être primaire, souvent héritée et liée à une diminution de l'élimination rénale de l'acide urique (**Bardin & Richette, 2011 ; Korng Ea, 2011**), ou secondaire, résultant de divers facteurs, tels qu'une alimentation riche en purines ou certains traitements (**Perez-Ruiz et al., 2002 ; Dalbeth et al., 2016**).

Cette augmentation chronique de l'acide urique résulte de la dégradation des bases puriques présentes à la fois, dans l'ADN endogène (80 %) et exogène (20 %) provenant de l'alimentation. Le catabolisme complet des purines mène à l'acide urique par l'action successive d'une 5'nucleotidase, de la purine nucléoside phosphorylase et de la xanthine oxydase (**Kuntz & Lioté, 2003 ; Schlienger, 2014**)

Cette dernière est essentielle pour les deux dernières étapes du catabolisme des purines : l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, puis de la xanthine en acide urique (**Cristine, 2004**). En effet, le processus débute par une demi-réaction de réduction au niveau du centre Mo de l'enzyme, où l'hypoxanthine ou la xanthine est oxydée, réduisant ainsi le molybdène de l'état VI à l'état IV. Ce processus est médié par le transfert de deux électrons du molybdène au centre FAD via les centres Fe₂/S₂, qui agissent comme des réservoirs d'électrons. La suite de la réaction implique une demi-réaction d'oxydation au niveau du site FAD, où les électrons transférés du Mo vers le FAD réoxydent le molybdène en MoVI, libérant l'acide urique. Cette étape est suivie par la réduction du FAD en FADH₂. L'accepteur final d'électrons est soit le NAD⁺ si la réaction est catalysée par la Xanthine déshydrogénase (XDH), soit l'oxygène moléculaire (O₂) si elle est catalysée par la XO (**Harrison, 2002 ; Okamoto et al., 2013**). Dans ce dernier cas, l'O₂ est réduit soit d'une manière univalente pour produire le radical superoxyde (O₂⁻), soit d'une manière bivalente pour produire le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Cao et al., 2011; Ribeiro et al., 2021**). Ces espèces réactives de l'oxygène entraînent un stress oxydatif et de la cytotoxicité dans certaines conditions physiologiques et pathologiques (**Liu et al., 2021**).

Par ailleurs, contrairement à d'autres mammifères, où l'uricase transforme l'acide urique en allantoïne, chez l'homme, la concentration plasmatique en acide urique est régulée par un équilibre entre son apport et son élimination, principalement par les reins (**Korng Ea, 2011; Lipkowitz, 2012**). En effet, environ 70 % de l'acide urique est excrété par voie urinaire, grâce à des transporteurs, tels que URAT-1, OAT-1, -3, -4, GLUT-9 et ABCG2 (**Hyndman et al., 2016**), tandis que le reste (30 %) est éliminé par la voie gastro-intestinale (**Chen et al., 2016**).

D'une autre part, des facteurs comme l'âge et le sexe, avec une prédominance masculine et un risque accru chez les femmes ménopausées en raison de la diminution de l'effet protecteur des estrogènes (**Wallace et al., 2004; Hak et al., 2010**), ainsi que des facteurs nutritionnels, tels qu'une alimentation riche en viande rouge et en alcool, peuvent accroître le risque de goutte.

De plus, certains médicaments comme les diurétiques peuvent augmenter le risque de goutte, en réduisant l'excrétion rénale d'acide urique (**Saag & Choi, 2006 ; Bardin & Richette, 2011 ; Kuo et al., 2015**). Enfin, les polymorphismes génétiques, également affectent les transporteurs d'urate et jouent un rôle dans ce défaut d'élimination, comme URAT-1, GLUT9 et ABCG2 (**Bardin & Richette, 2011**).

I.2.3. Symptômes et diagnostique

La goutte commence souvent discrètement avec une hyperuricémie asymptomatique, puis se manifeste par des douleurs articulaires intenses (signes d'inflammation), principalement ressentis dans les membres inférieurs, notamment les orteils, les chevilles et les genoux et pouvant évoluer vers une atteinte poly-articulaire. Avec le temps, des dépôts d'urate de sodium, appelés tophi (masses blanchâtres), se forment autour des articulations touchées, pouvant entraîner des ulcérations (**Punzi & Oliviero, 2007 ; Pascart & Flipo, 2011**).

Le diagnostic est confirmé par l'identification des cristaux d'urate monosodique dans le liquide synovial, généralement prélevé lors d'une arthrocentèse, ou par des méthodes d'imagerie telles que l'échographie, qui deviennent de plus en plus courantes pour confirmer le diagnostic (**Neogi et al., 2015 ; Punzi et al., 2024**).

I.2.4. Physiopathologie

Lorsque la concentration d'acide urique dépasse sa limite de solubilité dans les liquides biologiques, des cristaux d'urate de sodium se forment, déclenchant une réaction inflammatoire à l'origine de la crise de goutte (**Chhana et al., 2015**). Cette réaction implique une interaction des cristaux d'urate monosodique (UMS) avec les cellules immunitaires, activant des voies inflammatoires, telles que l'inflammasome et la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et le TNF- α . Les cristaux d'UMS opsonisés sont phagocytés par les cellules immunitaires, induisant la libération de cytokines inflammatoires et des dérivés réactifs de l'oxygène (**Figure 1**) (**Lioté & Ea, 2007 ; Hang-Korng, 2011**)

Pendant la poussée aiguë de goutte, des mécanismes de résolution de l'inflammation interviennent, y compris la modification des cristaux, la transition monocyte-macrophage et la formation de neutrophiles extracellular traps (NETs), qui limitent l'inflammation (**Dalbeth et al., 2019 ; Galozzi et al., 2021**). Malgré la résolution apparente, une inflammation persiste silencieusement pendant la période inter-critique (**Lioté, 2011**).

Sans traitement, des crises de goutte répétées peuvent conduire à une arthrite goutteuse chronique caractérisée par la formation de tophi et une inflammation continue, favorisant ainsi la croissance des cristaux (Dalbeth et al., 2016 ; Patil et al., 2021).

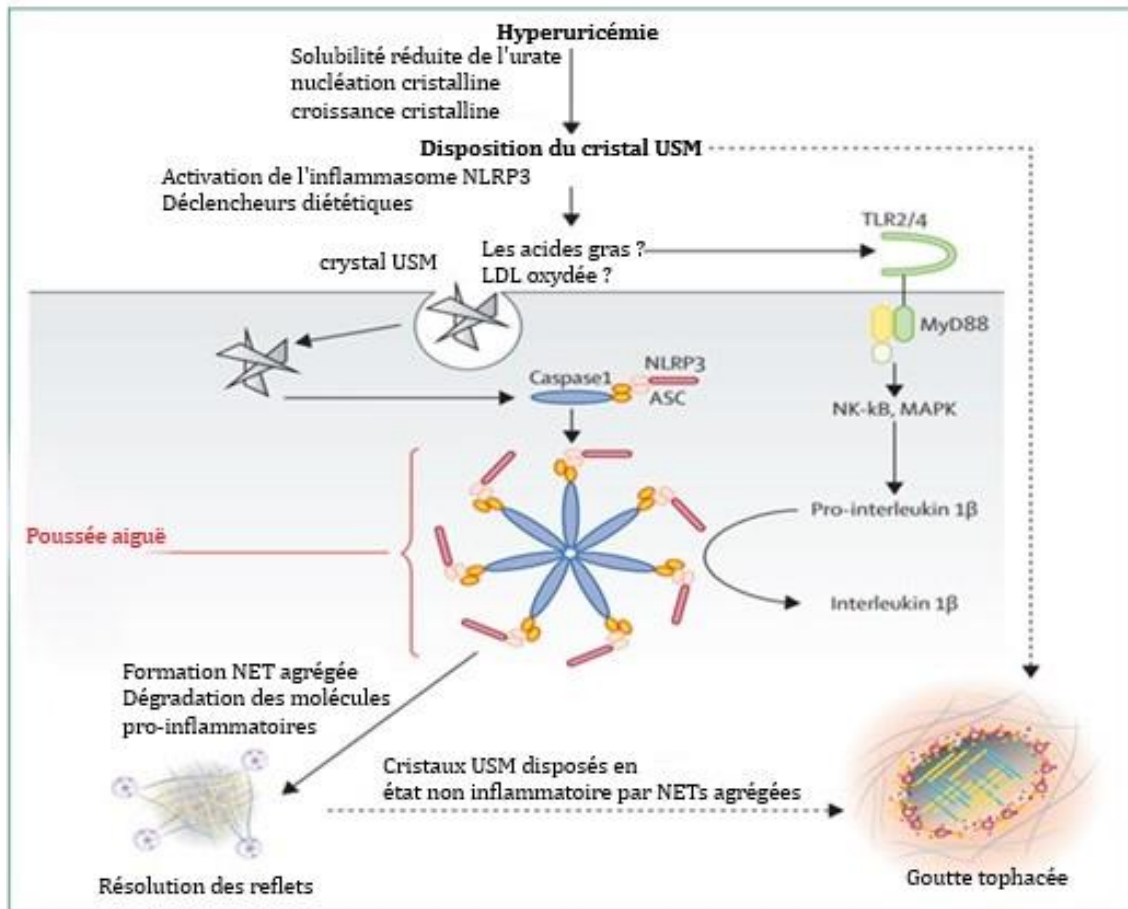


Figure 1 : Points de contrôle dans la progression de l'hyperuricémie vers les manifestations cliniques de la goutte (Dalbeth et al., 2019).

I.2.5. Traitements de la goutte

L'objectif principal du traitement de la goutte est de réduire les niveaux d'acide urique dans le sang pour prévenir les dépôts articulaires et réduire la fréquence et la gravité des crises (Punzi et al., 2024). Le choix des médicaments dépend des contre-indications basées sur les antécédents médicaux et les facteurs de risque du patient. Le **tableau II** résume les différents traitements utilisés pour le traitement de la goutte.

Tableau II : Différents types de traitements de la goutte

Médicament	Type du médicament	Mécanisme d'action	Effets indésirables	Références
AINS	Synthétique	-Inhibition de la cyclooxygénase, réduisant ainsi l'inflammation et la douleur associées à la goutte	Ulcères gastriques, insuffisance rénale, risque cardiovasculaire accru	Kannuthurai & Gaffo, 2023
Colchicine	Naturel	-Bloque l'inflammation articulaire en empêchant la phagocytose des cristaux d'urate monosodique par les cellules immunitaires -Maintient un pH peu propice à la cristallisation	Diarrhée, nausées, myopathie	Dalbeth et al., 2014; Kannuthurai & Gaffo, 2023
Glucocorticoïdes	Synthétique	-Réduit l'inflammation en inhibant la cascade inflammatoire et la réponse immunitaire dans la goutte	Ostéoporose, hypertension, diabète	Pillinger & Mandell, 2020; Kannuthurai & Gaffo, 2023
Allopurinol	Synthétique	-Inhibiteur purinique compétitif de la xanthine oxydase, réduisant la production d'acide urique et prévenant ainsi les crises de goutte	Réactions cutanées, hépatotoxicité, syndrome de Stevens-Johnson	Dalbeth & Stamp, 2007; Lioté & Bardin, 2007
Febuxostat	Synthétique	-Inhibiteur non compétitif de la xanthine oxydase, réduisant la production d'acide urique et contrôlant la goutte	Insuffisance hépatique, réactions allergiques, augmentation des AVC	Bardin & Richette, 2011; Pillinger & Mandell, 2020
Anti-interleukine 1	Semi-synthétique	-Bloque l'interleukine-1, réduisant l'inflammation et les symptômes de la goutte	Réactions au site d'injection, infections, réactions allergiques	Kannuthurai & Gaffo, 2023

I.3. Ulcère gastrique

I.3.1. Définition

L'ulcère est une affection persistante et récurrente de la muqueuse et la sous-muqueuse de l'estomac et du duodénum. Cette condition entraîne une perte de tissu de la paroi digestive, parfois jusqu'à la couche musculaire, et laisse souvent une cicatrice après guérison. Contrairement aux lésions superficielles telles que les érosions, abrasions et exulcérations, qui restent limitées à la muqueuse et guérissent sans laisser de cicatrice, les ulcères ont tendance à être plus profonds (Bouarioua et al., 2007 ; Shahzad et al., 2024).

Ils peuvent être simples ou multiples, et leur taille peut varier de moins de 5 mm à plusieurs centimètres. Bien que leur localisation principale soit l'estomac et le duodénum, ils peuvent également se développer dans d'autres parties du tractus gastro-intestinal, y compris l'œsophage, l'intestin grêle et la muqueuse gastrique ectopique (**Laucirica et al., 2023**).

I.3.2. Facteurs de risque

Bien que l'étiologie de l'ulcère gastrique demeure largement inconnue, il est admis que son développement résulte d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs et les mécanismes de défense de la muqueuse gastrique. Ce déséquilibre, souvent multifactoriel, survient lorsque les facteurs agressifs, tels que la sécrétion d'acide gastrique, la pepsine, les espèces réactives de l'oxygène, la consommation d'alcool et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), et les infections microbiennes (*Helicobacter pylori* et autres) surpassent les mécanismes de défense naturels (**Malfertheiner et al., 2009**).

Ces facteurs peuvent altérer la barrière épithéliale et prédisposer à la formation de lésions muqueuses. Cependant, des mécanismes de protection comme la sécrétion de mucus, la production de bicarbonate, la synthèse des prostaglandines et une microcirculation tissulaire normale jouent un rôle crucial dans la prévention des ulcères gastriques (**Figure 2**) (**Abdel-Sater, 2011 ; Gupta et al., 2021**).

En outre, il est important de noter que plus de 90 % des ulcères duodénaux et plus de 70 % des ulcères gastriques sont dus à l'infection par *Helicobacter pylori* (**Laucirica et al., 2023**). Cette dernière est une bactérie à Gram négatif qui colonise la muqueuse gastrique, se présentant sous forme de bacille incurvé en S. Elle utilise ses flagelles pour pénétrer le mucus gastrique et échappe à l'immunité humorale, lui permettant de persister et de provoquer une inflammation chronique. Ses principaux facteurs de virulence incluent les cytotoxines Vac A et Cag A (**Majumdar & Looi, 2024**).

La Vac A forme des canaux membranaires dans les cellules gastriques, induisant la vacuolisation et l'apoptose (**Montecucco & De Bernard, 2003 ; Robinson et al., 2012**), tandis que la Cag A est transloquée vers les cellules épithéliales, activant des cascades moléculaires conduisant à la prolifération cellulaire et à des remaniements du cytosquelette. Cag A active également la voie NF- κ B, induisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'interleukine IL-8, ce qui déclenche une réaction inflammatoire au site infectieux (**Brandt et al., 2005 ; Backert et al., 2015**).

De plus, *H. pylori* possède un arsenal enzymatique riche, notamment l'uréase, qui lui permet de survivre dans l'environnement acide de l'estomac et de coloniser la muqueuse gastrique. Cette enzyme lui permet de résister à l'acidité gastrique en augmentant le pH de son micro-environnement, favorisant ainsi sa survie et sa colonisation, principalement au niveau antral (Sobhani et al., 1991 ; Megraud, 1994 ; Abdel-Sater, 2011).

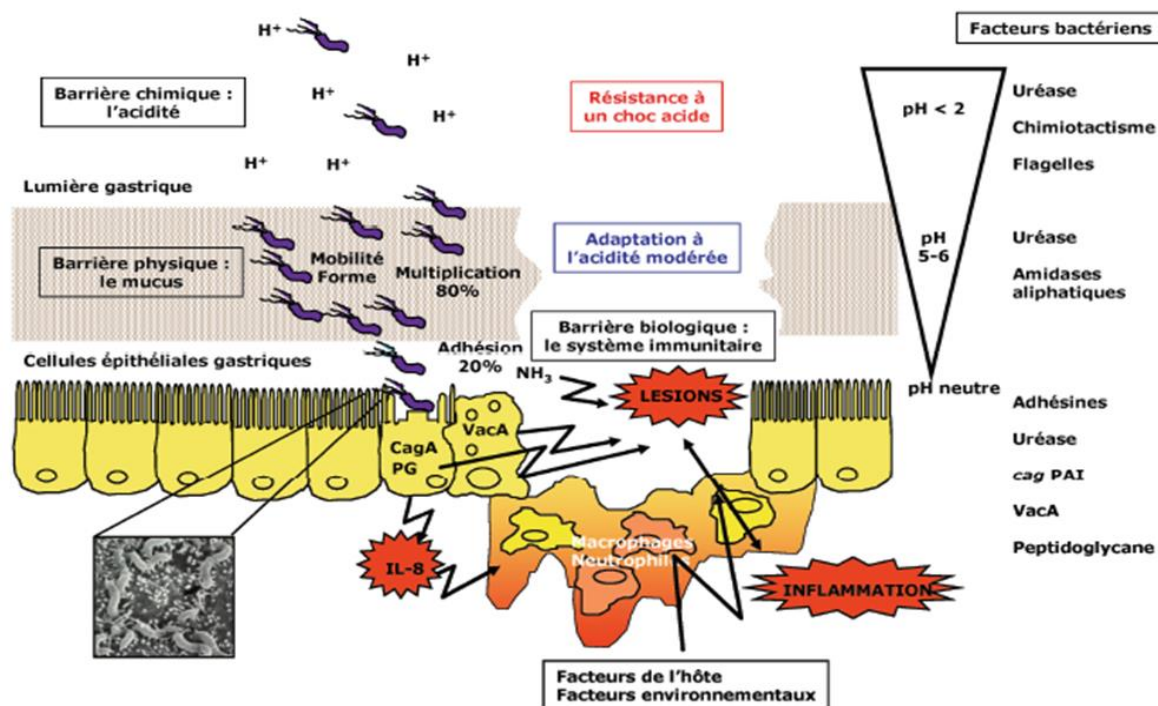


Figure 2 : Colonisation de la muqueuse gastrique et genèse des lésions par *H. pylori* (Breurec, 2011).

En effet, l'uréase, une métalloenzyme dépendante du nickel, non-oxidoreductase est produite par divers organismes vivants, tels que les plantes, les bactéries et les champignons. Appartenant à la super-famille des amidohydrolases et des phosphotriestérases, elle joue un rôle catalytique crucial en décomposant l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone (Figure 3).

Cette décomposition commence par l'hydrolyse enzymatique de l'urée en ammoniac et en carbamate. Le carbamate se décompose ensuite spontanément en une seconde molécule d'ammoniac et de dioxyde de carbone. Cette série de réactions entraîne une augmentation du pH, avec des conséquences néfastes sur la santé humaine, animale et l'écosystème (Zambelli et al., 2011).

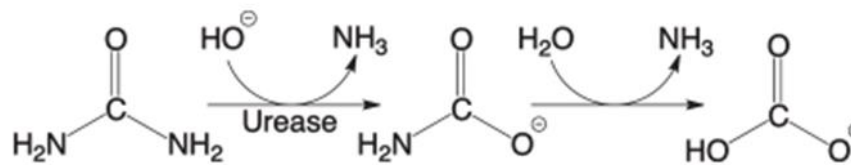


Figure 3 : Réaction enzymatique d'hydrolyse de l'urée catalysée par l'uréase (Zambelli et al., 2011).

I.3.3. Traitements de l'ulcère

Le traitement des ulcères gastriques implique une approche combinée visant à réduire la production excessive d'acide chlorhydrique et à éliminer *H.pylori*. Pour cela, différentes stratégies thérapeutiques sont utilisées, associant un ou plusieurs antibiotiques avec un anti-sécrétoire.

Les antibiotiques sont souvent administrés en association pour éradiquer l'infection bactérienne, favorisant ainsi la cicatrisation de l'ulcère et prévenant les récurrences (Ferrero et al., 1990 ; Brown et al., 1992). Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) agissent de manière irréversible pour réduire la sécrétion acide de façon plus efficace que les antagonistes des récepteurs de l'histamine de type 2 (H2RA). Ces médicaments sont associés à des effets indésirables, tels que la diarrhée, les nausées et les maux de tête (Lewin, 1995 ; Bisch et al., 2016). Les H2RA, tels que la cimétidine et la ranitidine, inhibent de manière compétitive et réversible les récepteurs H2, réduisant ainsi la sécrétion acide (Malfertheiner et al., 2012). En outre, les antiacides et le sucralfate agissent en réduisant la production de prostaglandines pro-inflammatoires, favorisant ainsi la guérison des ulcères (Cryer et al., 2016).

Différentes stratégies thérapeutiques sont utilisées, à savoir la trithérapie (La thérapie de première ligne), qui associe les IPP et des antibiotiques, tels que la clarithromycine, l'amoxicilline et le métronidazole (Papastergiou et al., 2014); la quadrithérapie bismuthée, qui ajoute un antibiotique supplémentaire comme la tétracycline ou le bismuth à la trithérapie pour augmenter son efficacité (O'Connor et al., 2010); la thérapie séquentielle, qui commence par une phase initiale utilisant IPP et antibiotique, puis ajout d'autres antibiotiques pour une élimination plus complète de *H.pylori* (Bensaada et al., 2019); et la quadrithérapie génotype, qui cible les antibiotiques spécifiques, en fonction de la résistance génétique de la souche de *H. pylori* (Malfertheiner et al., 2012). Chaque approche a ses propres avantages et effets indésirables potentiels, à savoir diarrhée, nausées, goût métallique et réactions allergiques aux antibiotiques.

L'augmentation de l'antibio-résistance diminue l'efficacité des thérapies actuelles contre *H.pylori* et peut laisser présager des difficultés futures dans la capacité à traiter l'ulcération gastrique avec des antibiotiques (**Majumdar & Looi, 2024**).

Après avoir examiné les pathologies de la goutte et l'ulcère gastrique, il est crucial de souligner l'importance du Docking moléculaire. Cette technique, lorsqu'elle est associée aux études expérimentales, ouvre de nouvelles perspectives pour la compréhension et le traitement de ces maladies.

I.4. Docking moléculaire

Le Docking moléculaire, apparu dans les années 1980, est aujourd'hui un outil incontournable dans la recherche scientifique et médicale (**Kuntz et al., 1982**). Il s'agit d'une méthode de modélisation qui explore les interactions entre différentes molécules, généralement une petite molécule (ligand/médicament) et une macromolécule (protéine/enzyme, ADN, etc.), mais parfois entre protéines elles-mêmes (**Meng et al., 2011**).

Ce processus d'amarrage implique deux étapes fondamentales : le docking qui génère des poses du ligand dans le site actif de la protéine, tandis que le scoring évalue leur affinité, basé sur l'énergie libre et le type de liaison. Ces étapes permettent de sélectionner des ligands candidats pour des tests biologiques. Dans cette perspective, des logiciels spécialisés aident à visualiser et analyser les interactions parmi lesquels AutoDock, GOLD, Flex, Dock, MOE Dock, et Surflesx-Dock, sont largement utilisés dans la communauté scientifique (**Asiamah et al., 2023**).

Principalement utilisé dans la recherche pharmaceutique, le docking moléculaire prédit les interactions protéine-ligand, facilitant ainsi la conception de médicaments pour une variété de maladies, telles que la goutte (**Kumar et al., 2024**) et l'ulcère (**Yang et al., 2022**), ainsi que pour les médicaments ciblant les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) (**Scharf et al., 2019**). Son utilité s'étend à d'autres domaines, tels que la médecine personnalisée (permet de prédire la réponse des patients à certains médicaments en fonction de leur profil génétique), l'industrie agroalimentaire (optimiser les arômes et les additifs alimentaires) et l'agrochimie (concevoir de nouveaux pesticides et herbicides) (**Jiao et al., 2021**).

Le docking moléculaire est également une méthode polyvalente qui trouve des applications essentielles dans des domaines clés de la biologie moléculaire, tels que la génomique et la protéomique (**Dnyandev et al., 2021**).

Par ailleurs, en étudiant les interactions entre les protéines et l'ADN/ARN, le docking moléculaire permet de mieux comprendre des processus fondamentaux, tels que la régulation génique, la réplication de l'ADN, ainsi que la transcription et la traduction des gènes (Monika *et al.*, 2010).

De plus, cette technique est également utilisée pour analyser les interactions protéine-protéine, offrant, ainsi des perspectives précieuses sur la manière, dont les protéines interagissent pour réguler divers processus cellulaires (Silberberg *et al.*, 2014).

Enfin, le docking moléculaire joue un rôle crucial dans la recherche sur les produits naturels, en expliquant les utilisations traditionnelles des plantes médicinales et en identifiant de nouvelles applications potentielles des composés phytochimiques. Grâce à son pouvoir de criblage virtuel et d'analyse des interactions moléculaires, il accélère la découverte de médicaments tout en réduisant les délais et les coûts, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la découverte de composés bioactifs et le développement de traitements innovants (Mandal *et al.*, 2021).

L'objectif de notre travail est d'étudier expérimentalement les activités inhibitrices, *in vitro*, de deux enzymes principales impliquées dans l'arthrite goutteuse et l'ulcère gastrique, à savoir la xanthine oxydase et l'uréase, respectivement. Le docking moléculaire sera également employé afin de comprendre et développer les interactions moléculaires de quelques molécules bioactives contenus dans les extraits de *P.lentiscus*, une plante médicinale utilisée traditionnellement pour le traitement de ces deux maladies.

Chapitre II
Matériel & méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les feuilles, l'écorce des racines et le fruit (graines) de *P.lentiscus* (**Figure 4**), qui ont été récoltés en mois juin et novembre 2020, respectivement, dans la région de Barbacha, située au Sud de la wilaya de Bejaia-Algérie, loin de tout impact de pollution.



Figure 4 : Photographies originales des feuilles, écorces des racines et graines de *P.lentiscus*

II.2. Méthodes

II.2.1. Séchage, broyage et extraction

Les différentes parties de la plante ont été séchées à l'abri de la lumière et à température ambiante. Les feuilles et l'écorce des racines ont été broyées et tamisées jusqu'à l'obtention de poudres fines, tandis que le broyage des graines donne une pâte huileuse. L'extraction suivie dans cette étude a été basée sur la méthode de **Chiang et ses collaborateurs (1993)**, avec quelques modifications rapportées par **Atmani et son équipe, 2009**.

La première étape consistait en la macération des poudres fines des feuilles et de l'écorce de *P.lentiscus* dans de l'éthanol (rapport 1:5, m/v), pendant 24h. Après décantation, le surnageant a été évaporé sous pression réduite dans un évaporateur rotatif pour obtenir l'extrait éthanolique.

Dans la deuxième étape, les extraits secs d'éthanol des feuilles (**PF**) et de l'écorce des racines (**PERE**) obtenus, ont été solubilisés dans de l'acétate d'éthyle et de l'eau (rapport 1:4, v/v), puis les phases organique et aqueuse ont été séparées et séchées après décantation. Enfin, la troisième étape d'extraction a impliqué la remise de l'extrait organique d'acétate d'éthyle dans un mélange chloroforme/eau (rapport 1:4, v/v). Après séparation, les extraits chloroforme et aqueux ont été obtenus (**Figure 5**).

Les graines de leur part, ont été d'abord delipidées par une extraction à l'hexane, suivie d'une extraction avec de l'éthanol et de l'eau, consécutivement. Cette méthode a été débutée par macération du broyat des graines dans l'hexane pendant 24h, après décantation, les deux phases ont été séparées et le précipité de poudre a été récupéré, séché et remis dans de l'éthanol ou de l'eau pendant 24h. Après décantation, l'extrait éthanolique (**PG**) est obtenu après évaporation à l'évaporateur rotatif, tandis l'extrait aqueux (**PGA**) a été réduit en poudre par lyophilisation (**Figure 6**).

Le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0) / E] * 100$$

Où : **P₁** : Poids d'extrait après évaporation (g).

P₀ : Poids vide du cristalliseur ou boîte de Petri (g).

E : Poids de la poudre végétale utilisée.

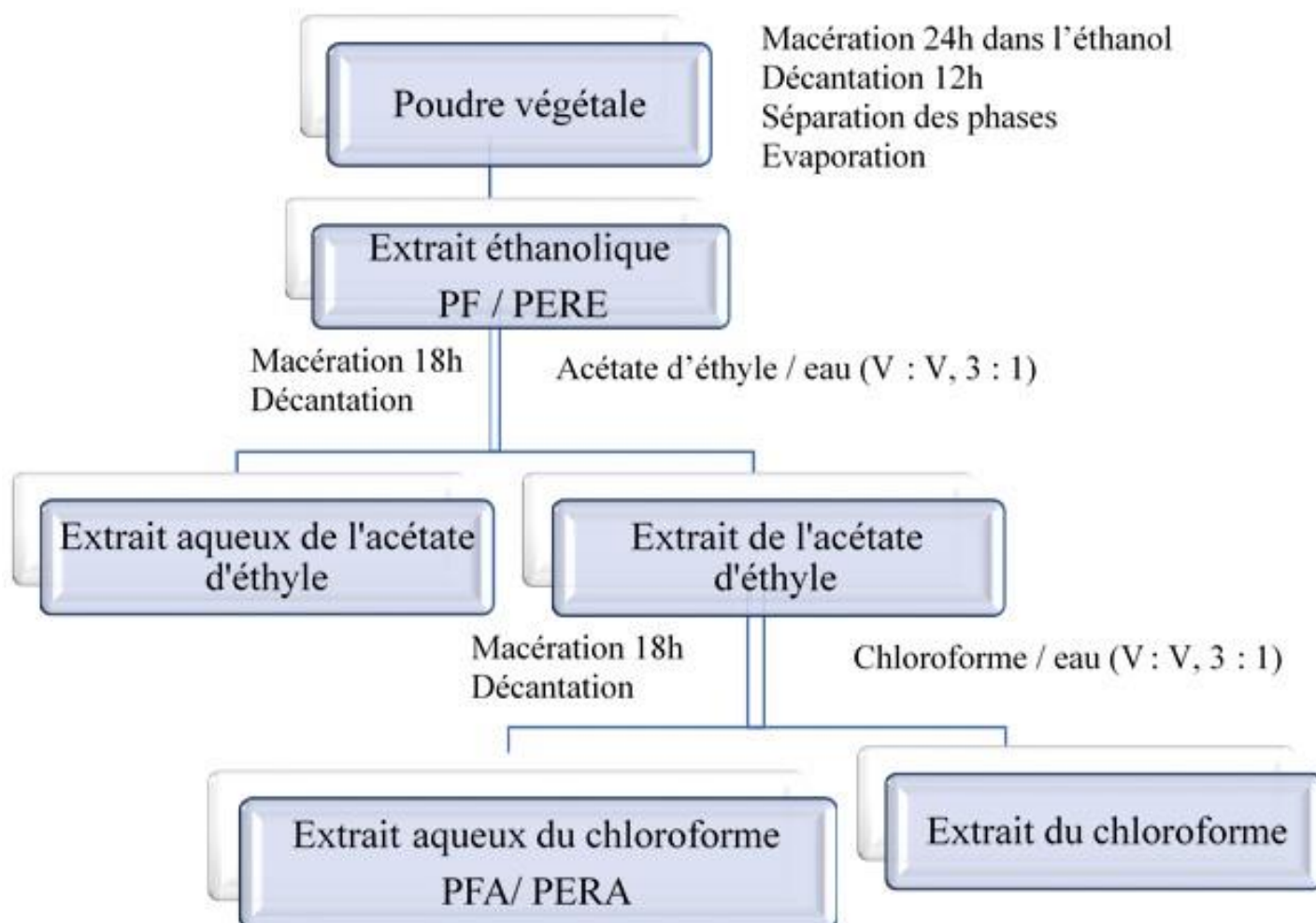


Figure 5 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction des feuilles et écorce des racine de *P.lentiscus*.

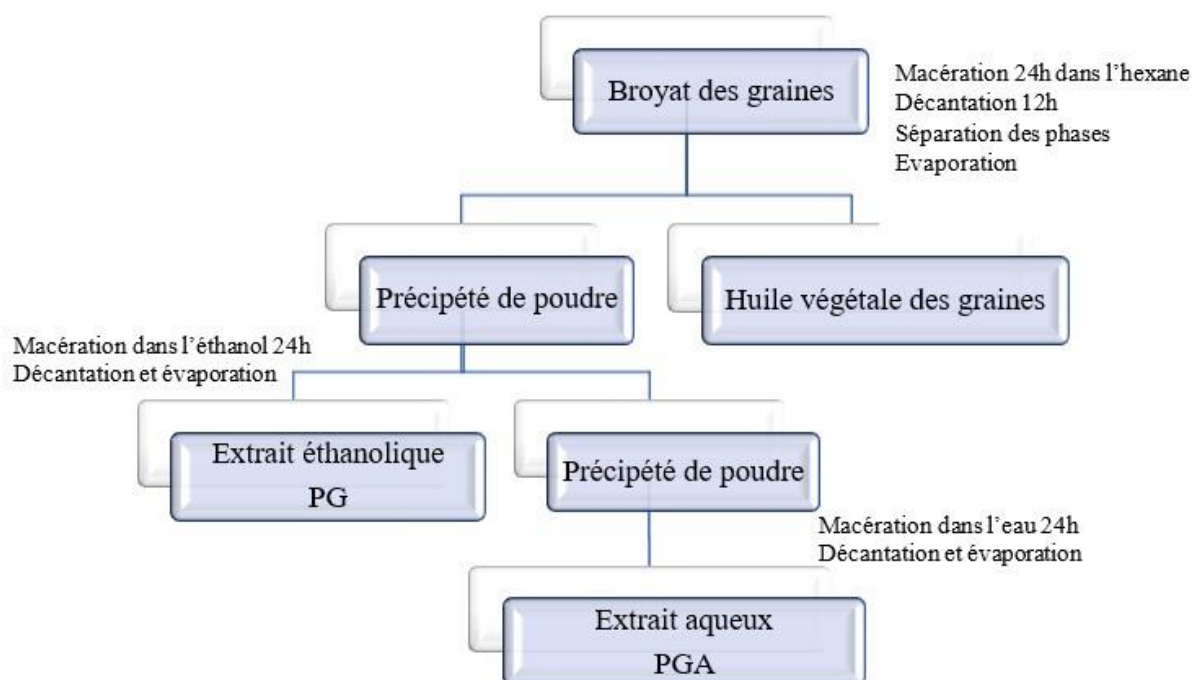


Figure 6 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction des graines de *P.lentiscus*.

II.2.2. Évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de réduction du fer (FRAP) des extraits de *P.lentiscus*

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) permet d'évaluer la capacité antioxydante d'un échantillon. En présence d'antioxydants, le complexe ferrique tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en sa forme ferreuse (Fe^{2+} -TPTZ), ce qui produit une couleur bleu-violet avec un pic d'absorbance à 593 nm (Vercruyse *et al.*, 2009).

Pour réaliser ce test, une microplaque de 96 puits a été utilisée. Un volume de 180 μL de la solution FRAP (300 mM de la solution acétate de sodium, 10 mM de TPTZ dans 40 mM d'HCl et 20 mM de la solution de chlorure de fer hexahydraté ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$)) est ajouté dans chaque puit, suivi de 20 μL de l'extrait à tester. L'absorbance est mesurée à 593 nm après une incubation de 10 minutes à 37°C.

Le potentiel antioxydant a été calculé par rapport à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant le Trolox (acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique), comme molécule de référence (**Annexe 03**). Les valeurs ont été exprimées en mM équivalent Trolox par mg d'extrait (mM éq. Trx/mg d'extrait).

II.2.3. Évaluation de l'effet inhibiteur de la xanthine oxydase par les extraits de *P.lentiscus*

L'effet inhibiteur des extraits de *P.lentiscus* sur l'activité de la xanthine oxydase a été étudié par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 295 nm, conformément à la méthode décrite par (**Owen & Johns, 1999**). Pour cette étude, un mélange réactionnel a été préparé, composé de 1760 µL de tampon phosphate (50 mM, pH = 7,5), 200 µL du substrat (xanthine, 5 mM), ainsi que 20 µL de solution d'extrait, à des concentrations variables allant de 1 jusqu'à 250 µg/mL de réaction.

La réaction a été initiée immédiatement après l'ajout d'enzyme (0,02U/mL), et la production d'acide urique a été suivie à 295 nm chaque seconde pendant une période de 3 minutes. Un blanc du contrôle, contenant du méthanol à la place de l'extrait, a été utilisé. L'allopurinol est utilisé comme inhibiteur de référence de la xanthine oxydase (de 0.10 à 10 µg/mL de réaction).

Chaque test a été répété trois fois pour chaque extrait ainsi que l'allopurinol et le pourcentage d'inhibition a été ensuite calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% = \frac{(\text{Variation de l'absorbance du control positif}) - (\text{Variation de l'absorbance de l'extrait})}{(\text{Variation de l'absorbance du control positif})} \times 100$$

Une analyse approfondie des données a été entreprise pour déterminer les concentrations inhibitrices à 50% (IC50) de chaque extrait. Cette analyse a impliqué l'établissement d'une corrélation entre les pourcentages d'inhibition et les différentes concentrations. Pour obtenir ces valeurs caractéristiques, des méthodes de régression non linéaire ou linéaire ont été appliquées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 10.

II.2.4. Evaluation de l'effet inhibiteur de l'uréase

Pour mener à bien ce test, le protocole établi par **Weatherburn en 1967**, largement reconnu pour sa fiabilité et sa pertinence dans de telles études, a été soigneusement suivi.

Un volume de 25 µL d'uréase (4U), sont déposés dans chaque puit d'une microplaque à 96 puits. Ensuite, 15 µL des extraits, à différentes concentrations allant de 9,375 à 750 µg/mL, sont ajoutés à l'enzyme. Le mélange est incubé à 30°C pendant 15 minutes. Après cette première incubation, 40 µL d'urée (100 mM) précédemment préparée avec de la BSA à 0,05% sont ajoutés et l'ensemble est à nouveau incubé à 30°C pendant 30 minutes. Suite à cette étape, 70 µL du réactif alcalin à 14% (NaOH + NaOCl à 0,5%) sont ajoutés, suivi de l'addition de 50 µL de phénol (contenant 1% de phénol et 0,005% de nitroprusside de sodium) au mélange réactionnel. La cinétique enzymatique est ensuite initiée et maintenue à 30°C pendant 50 minutes et la lecture a été effectuée à 630 nm, à des intervalles de 5 minutes pendant toute la durée d'incubation. Trois essais ont été réalisés pour chaque concentration des extraits testés et l'acide borique a été utilisé comme molécule de référence inhibitrice de l'uréase.

Le pourcentage d'inhibition est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% = \frac{(\text{Variation de l'absorbance du control positif}) - (\text{Variation de l'absorbance de l'extrait})}{(\text{Variation de l'absorbance du control positif})} \times 100$$

Des analyses de régression linéaire et non linéaire des pourcentages d'inhibition de l'uréase en fonction des concentrations testées de chaque extrait et de l'acide borique ont été utilisées pour le calcul des valeurs IC50 respectives.

II.2.5. Docking moléculaire

La procédure du docking moléculaire a été réalisée conformément aux méthodes décrites dans la littérature. La structure cristalline aux rayons X de la xanthine oxydase du lait bovin (PDB ID : 3NVW) a été téléchargée à partir du site Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>). Toutes les molécules d'eau et le ligand présents dans la protéine ont été retirés, puis les atomes d'hydrogène polaires et les charges de Kollman ont été rajoutés, pour optimiser la protéine en question en utilisant AutoDock Tool (ADT), inclus avec MGLTools (version 1.5.6) (**Morris et al., 2009**).

Le choix des biomolécules pour le docking moléculaire est basée sur la littérature, où il a été rapporté une richesse de la partie des feuilles en acide gallique, l'isoquercétine (quercetin-3-glucosylé), la catéchine, l'acide ellagique, et enfin un dérivé galloyl (acide quinique-3-galloyl, également appelé theogallin), où ils ont été comparés à la molécule de référence, allopurinol. La structure tridimensionnelle de ces ligands, a été générée dans PubChem3D. AutoDock4 a été utilisé pour exécuter le docking moléculaire.

Les calculs d'amarrage ont été effectués en utilisant les paramètres par défaut, à l'exception du nombre d'exécutions de l'algorithme génétique, fixé à 50, et de l'utilisation de l'algorithme génétique lamarkien. Pour réaliser les simulations d'amarrage, une boîte de grille de dimensions $80 \text{ \AA} \times 80 \text{ \AA} \times 80 \text{ \AA}$, avec un espacement de grille de 0.5 \AA a été définie. Les coordonnées de la GridBox (x, y, z) entourant le site actif de la xanthine oxydase sont de 88.201, 8.976, et 19.104, respectivement.

Parmi les résultats obtenus, le modèle le mieux noté pour chaque complexe a été sélectionné, afin de représenter le mode de liaison le plus favorable prédit par AutoDoc4. Les sorties ont ensuite été visualisées à l'aide du logiciel Discovery Studio 4.1, pour analyser les interactions.

II.2.6. Analyse statistique des résultats

Les données sont exprimées sous forme de moyennes \pm écart-type (S.D.) et les différences statistiques entre les groupes ont été calculées par une analyse de la variance à sens unique (ANOVA), suivie du test Dunnett's et de Tukey, en utilisant le logiciel GraphPad Prism version 8.0.0 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com. Une différence est considérée statistiquement significative à $p < 0,05$. Pour le degré de la significativité, l'analyse statistique a été poussée vers les seuils d'erreurs p inférieur à 0.01 et 0.001.

Chapitre III
Résultats & discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Extraction des composés phénoliques

Les résultats du rendement de l'extraction des trois parties de la plante étudiée, à savoir les feuilles, les écorces des racines et les graines de *P.lentiscus* sont énumérés dans le **tableau III**. Les taux d'extractions ont été calculés par rapport à la poudre initiale de la partie de plante étudiée.

Tableau III : Taux d'extraction des différentes parties de *P.lentiscus*

	Taux d'extraction		
	Feuilles	Ecorces des racines	Graines
Extrait d'éthanol	28.42%	13.25%	2.008%
Extraits aqueux	2.79%	1.86%	2.31%

L'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* (PF) présente le taux d'extraction le plus élevé (28.2%), par rapport aux autres parties de la plante étudiée, notamment l'écorce des racines (PERE : 13.25%) et les graines (PG : 2.008%).

Les extraits aqueux, de leur part, ont présenté des taux d'extraction aux alentours de 2%, pour toutes les parties de *P.lentiscus*.

III.1.2. Pouvoir antioxydant des extraits des feuilles, d'écorce des racines et du fruit de *P. lentiscus*

Les propriétés antioxydantes des extraits de *P.lentiscus* ont été évaluées, en utilisant la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Les résultats obtenus, exprimés en mM équivalents Trolox par mg d'extrait (mM Eq.Trx/mg), montrent des variations significatives du pouvoir réducteur, selon les différentes parties de la plante et les types d'extraits utilisés (**Tableau IV**)

Tableau IV : Pouvoir réducteur des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, de l'écorce des racines et des graines de *P.lentiscus*.

	FRAP (mM Eq.Trx/mg)	
	Extraits Ethanoliques	Extraits Aqueux
Feuilles	281.52±21.99	57.62±8.50***
Ecorce des racines	56.58±1.52***	39.16±7.27***
Graines	29.23±5.15***	60.16±8.22*** #

Les valeurs sont exprimées en moyennes±écart-type (n=3).

Les comparaisons statistiques sont effectuées entre tous les extraits par rapport à l'extrait éthanolique des feuilles PF (*), ainsi qu'entre l'extrait aqueux des graines (PGA) et son extrait brut (PG) (#).

Les différences sont considérées significatives à P < 0.05.

On remarque, d'après les résultats, que l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* (PF) présente une capacité anti-oxydante très hautement significative ($***p<0.001$), par rapport à tous les autres extraits analysés de *P.lentiscus*. Il se distingue par une capacité de réduction du fer ferrique la plus élevée, exprimée par une concentration de 281.52 ± 21.99 mM Eq.Trx/mg d'extrait, comparativement aux autres extraits, dont les valeurs varient entre 39.16 ± 7.28 et 57.579 ± 1.52 mM Eq.Trx/mg d'extrait.

Il est également important de noter que l'extrait aqueux des graines (PGA) affiche un pouvoir antioxydant significativement plus élevé (60.1622 ± 8.225 mM Eq.Trx/mg d'extrait) que l'extrait éthanolique (29.226 ± 5.142 mM Eq.Trx/mg d'extrait) ($^{\#}p<0.05$).

III.1.3. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, *in vitro*

III.1.3.1. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, *in vitro*, par la molécule de référence, Allopurinol

L'action inhibitrice de la xanthine oxydase par la molécule de référence, Allopurinol, en fonction des concentrations (0.1; 0.25 ; 0.5; 0.75 ; 1 ; 5 ; 7.5 et 10 $\mu\text{g/mL}$) est montrée dans la (figure 7) suivante:

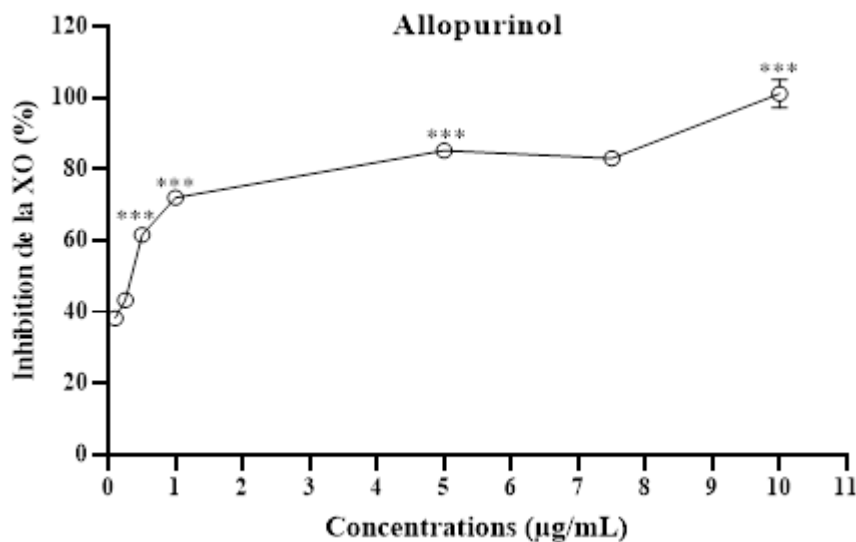


Figure 7 : Effet inhibiteur de la molécule de référence, Allopurinol sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, *in vitro*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm S.D. (n=3). Les comparaisons sont faites par la comparaison de chaque concentration à la précédente. Les valeurs sont considérées significatives, à $P<0.05$.

D'après la figure ci-dessus, l'effet inhibiteur de la molécule de référence, Allopurinol sur la xanthine oxydase *in vitro*, montre une augmentation significative ($p < 0.05$) en fonction de la concentration, allant de 38.22 ± 1.21 à $100 \pm 3.99\%$. L'inhibition maximale est observée à la concentration de $10 \mu\text{g/mL}$.

III.1.3.2. Activité inhibitrice de la xanthine oxydase, *in vitro*, par les extraits des feuilles, de l'écorce des racines et des graines de *P.lentiscus*

Les effets inhibiteurs *in vitro*, sur la xanthine oxydase des extraits éthanolique et aqueux des feuilles, écorces des racines et graines de *P.lentiscus*, à des concentrations variables, sont présentés dans les **figure 8, 9 et 10**, respectivement. Les pourcentages d'inhibition obtenus pour ces différentes concentrations des différentes parties testées sont comparés à ceux obtenus avec l'allopurinol à une concentration de $5 \mu\text{g/mL}$.

1) Activité inhibitrice des extraits des feuilles

D'après les résultats présentés dans la **figure 8**, l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* montre une activité inhibitrice dose-dépendante de la xanthine oxydase (XO). Le pourcentage d'inhibition augmente progressivement avec la concentration de l'extrait, atteignant une inhibition significative dès $20 \mu\text{g/mL}$ ($42.90 \pm 2.56\%$) et un maximum d'environ $84.80 \pm 0.84\%$ à $100 \mu\text{g/mL}$. Par ailleurs, l'extrait aqueux a montré une inhibition significative dès $5 \mu\text{g/mL}$, avec un effet de $49.58 \pm 1.02\%$, et atteint un maximum de $87.77 \pm 1.06\%$ à $100 \mu\text{g/mL}$.

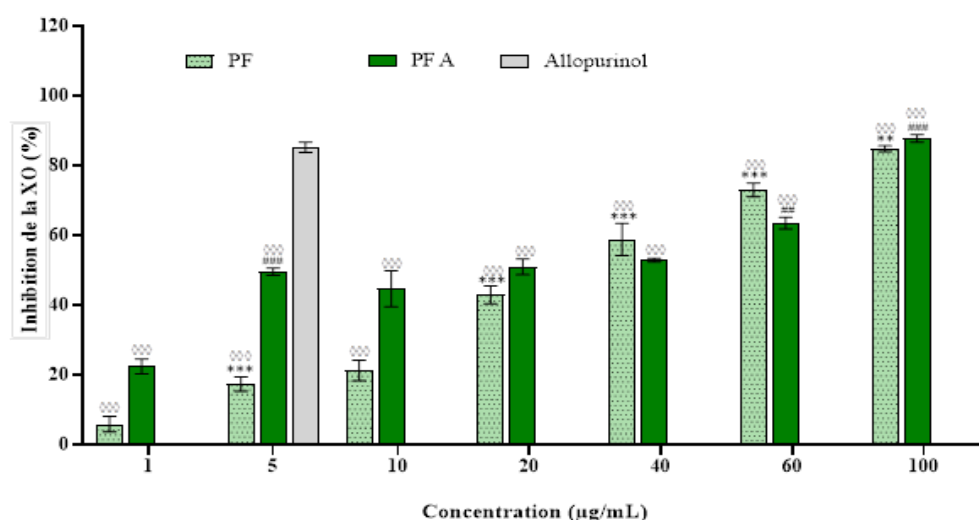


Figure 8 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PF) et aqueux (PF A) des feuilles de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, *in vitro*.

Les valeurs sont représentées sous forme de moyennes \pm S.D. ($n=3$). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits : éthanolique (*) et aqueux (#), ainsi que par rapport à la molécule de référence, l'allopurinol à une concentration de $5 \mu\text{g/mL}$ (°). Les valeurs sont considérées significatives à $P < .05$. Une analyse ANOVA à un facteur, suivie par le test de comparaison multiple de Tukey, a été utilisée pour l'analyse statistique.

Aux faibles concentrations $\leq 20 \mu\text{g/mL}$, il ressort clairement que l'extrait aqueux des feuilles est plus puissant que l'extrait éthanolique en termes d'activité inhibitrice de la xanthine oxydase. Au-delà de cette concentration, il n'y a plus de différence significative entre les effets des deux extraits. Ce qui révèle la puissance de l'effet de l'extrait aqueux comparativement à son extrait brut.

D'une autre part, une comparaison des effets inhibiteurs des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de *P.lentiscus* à $5 \mu\text{g/mL}$, démontre clairement la puissance de l'allopurinol en tant que molécule inhibitrice de référence de la xanthine oxydase (XO), dépassant nettement toutes les concentrations testées des deux extraits ($P < 0.05$), à l'exception de la concentration la plus élevée de $100 \mu\text{g/mL}$ où les effets inhibiteurs des extraits éthanolique ($84.8 \pm 0.84 \%$) et aqueux ($87.77 \pm 1.06 \%$) sont similaires à ceux de l'allopurinol à $5 \mu\text{g/mL}$ ($85.22 \pm 1.45 \%$).

2) **Activité inhibitrice d'écorce des racines**

Les résultats indiquent que les extraits éthanolique (PER) et aqueux d'écorce des racines (PERA) de *P.lentiscus* possèdent une activité inhibitrice dose-dépendante de la xanthine oxydase (XO), présentant une efficacité remarquable à des concentrations élevées, à partir de $50 \mu\text{g/mL}$. En effet, l'extrait éthanolique (PER) montre une tendance dose-dépendante de l'inhibition de la XO, qui se traduit par des inhibitions croissantes, allant de $13.91 \pm 1.84\%$ à $12.5 \mu\text{g/mL}$ jusqu'à $71.85 \pm 4.93\%$ à $50 \mu\text{g/mL}$. Au-delà de cette concentration, à savoir 75 et $100 \mu\text{g/mL}$, les valeurs du pourcentage d'inhibition restent similaires et ne montrent pas de différences significatives, suggérant un plateau où l'activité inhibitrice est optimale, avoisinant 75% .

D'une autre part, une inhibition significative de $42.62 \pm 2.51 \%$ de l'extrait aqueux (PERA) est constatée à partir de $25 \mu\text{g/mL}$. Cette inhibition augmente progressivement avec des concentrations de 50 et $75 \mu\text{g/mL}$, pour finalement atteindre un plateau à $75 \mu\text{g/mL}$ et $100 \mu\text{g/mL}$, avec une inhibition maximale de $84.99 \pm 1.44 \%$.

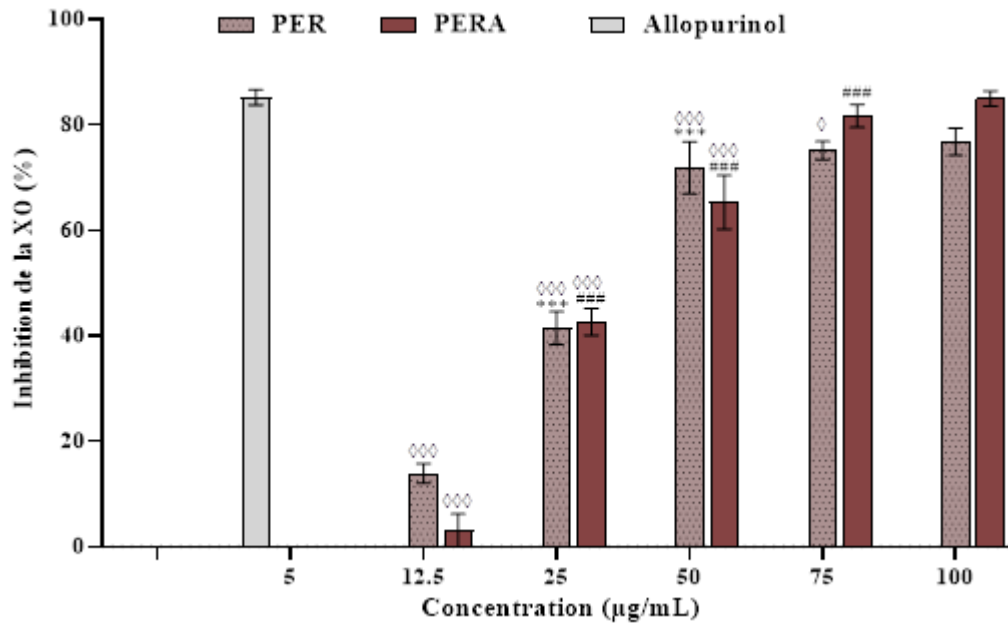


Figure 9 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PERE) et aqueux (PERA) d'écorce des racines de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, *in vitro*.

Les valeurs sont représentées sous forme de moyennes±S.D. (n=3). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits : éthanolique (*) et aqueux (#), ainsi que par rapport à la molécule de référence, l'allopurinol à une concentration de 5 µg/ml (°). Les valeurs sont considérées significatives à $P < 0.05$.

De même, la comparaison des deux extraits, éthanolique et aqueux, avec l'allopurinol à 5 µg/mL révèle des différences significatives dans leur capacité à inhiber la xanthine oxydase (XO). À toutes les concentrations testées, les extraits éthanoliques et aqueux montrent une inhibition notablement inférieure à celle de l'allopurinol, à l'exception des deux concentrations les plus élevées (75 et 100 µg/mL), où les effets observés sont comparables à ceux de l'allopurinol à 5 µg/mL. Cette tendance suggère une augmentation de l'efficacité des extraits à ces doses, se rapprochant ainsi de l'action de l'allopurinol.

3) Activité inhibitrice des fruits (graines)

L'extrait éthanolique (PG) présente une inhibition modérée de la XO à toutes les concentrations testées, avec un pourcentage d'inhibition ne dépassant pas $58.11 \pm 1.35\%$ à 200 µg/mL. En comparaison, l'extrait aqueux (PGA) montre une inhibition beaucoup plus prononcée, à savoir $80.33 \pm 0.72\%$, à partir de 100 µg/mL. À cet égard, l'extrait aqueux (PGA) démontre une efficacité inhibitrice nettement supérieure à celle de l'extrait éthanolique (PG) à des concentrations de 100 µg/mL et plus.

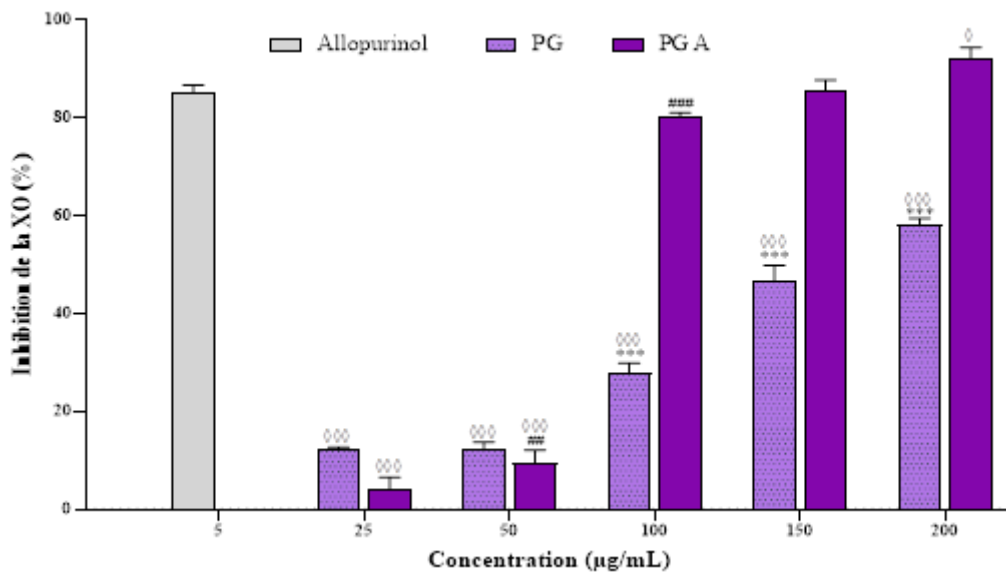


Figure 10 : Effet inhibiteur des extraits éthanolique (PG) et aqueux (PGA) des graines de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de la xanthine oxydase, *in vitro*.

Les valeurs sont représentées sous forme de moyennes±S.D. (n=3). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits : éthanolique (*) et aqueux (#), ainsi que par rapport à la molécule de référence, l'allopurinol à une concentration de 5 µg/ml (°). Les valeurs sont considérées significatives à P < 0.05.

Par ailleurs, l'effet de l'extrait éthanolique des graines (PG), est nettement plus faible que l'allopurinol, à toutes les concentrations évaluées. Par contre, l'extrait aqueux (PGA), exhibe une inhibition comparable à celle de l'allopurinol, à partir de 100 µg/mL et dépasse significativement cette molécule de référence à la concentration la plus élevée, à savoir 200 µg/mL avec un pourcentage de 92.02±2.39%.

III.1.3.3 Détermination des concentrations inhibitrices à 50%, IC50

La concentration inhibitrice à 50% (IC50) de la xanthine oxydase est une mesure quantitative indiquant la quantité d'extrait requise pour diminuer de 50% l'activité de cette enzyme. Cette évaluation permet de comparer l'efficacité inhibitrice des différents extraits des différentes parties de *P.lentiscus*, incluant les extraits des feuilles, de l'écorce des racines et des graines, ainsi que la molécule de référence (Tableau V).

Tableau V : Valeurs des IC₅₀±S.D. et les coefficients de corrélations (R²), pour les différents extraits de *P.lentiscus* et l'Allopurinol.

Extraits	IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PF	19.01±2.38***	0.9671
PF A	5.37±0.38	0.9585
PER	23.90±1.29***	0.988
PERA	37.27±1.35***	0.9886
PG	120.23±4.85***	0.9632
PG A	72.55±1.68***	0.9946
Allopurinol	0.28±0.08	0.9356

Les comparaisons sont faites par rapport à la molécule de référence, Allopurinol. Les valeurs sont considérées significatives.

Les extraits testés ont exhibé des valeurs IC₅₀ de 5.37 ; 19.01 ; 23.90 ; 37.27 ; 72.55 et 120.23 µg/mL pour les extraits PF A, PF, PER, PERA, PG A, et PG, respectivement, tandis que l'allopurinol a exprimé la valeur d'IC₅₀ la plus faible de 0.28 µg/mL.

L'extrait aqueux des feuilles (PF A) s'est distingué par une valeur d'IC₅₀ la plus faible, parmi les extraits testés, exprimant un effet significativement comparable à celui de l'allopurinol ($p < 0.05$). En revanche, l'extrait éthanolique des graines (PG) présente l'IC₅₀ la plus élevée, illustrant une activité inhibitrice la moins puissante de la xanthine oxydase, comparativement au reste des extraits testés.

Les extraits aqueux des feuilles et des graines se sont révélés plus puissants que leurs extraits bruts issus d'une extraction à l'éthanol. Contrairement à cela, pour l'écorce, l'extrait éthanolique (PER) s'est avéré meilleur que l'extrait aqueux (PERA).

III.1.4. Activité inhibitrice de l'uréase, *in vitro*

III.1.4.1. Evaluation de l'activité inhibitrice de la molécule de référence, acide borique, sur l'activité enzymatique de l'uréase de Jack Bean, *in vitro*

La courbe ci-dessous montre l'effet inhibiteur de l'acide borique sur l'uréase à différentes concentrations (75, 150, 300, 600, 750, 900 et 1050 µg/mL). L'inhibition est calculée par rapport à un contrôle de l'uréase, réalisé avant chaque test, où une activité enzymatique maximale et reproductible a été observée. Ce contrôle confirme que l'enzyme est fonctionnelle et possède une bonne activité catalytique, servant de référence pour les pourcentages d'inhibition.

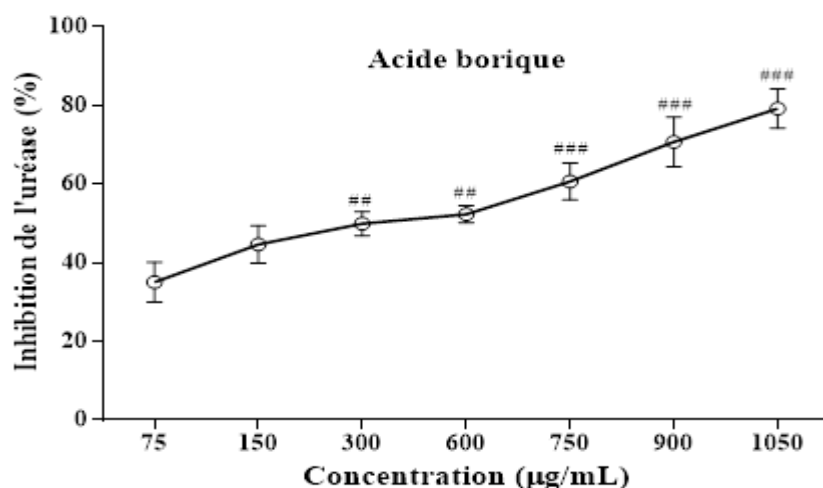


Figure 11 : Effet inhibiteur de l'acide borique sur l'activité enzymatique de l'uréase, *in vitro*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes±S.D.(n=3). Les comparaisons sont faites par rapport à la concentration de 75 µg/mL (#). Les valeurs sont considérées significatives à P< 0.05.

Les résultats indiquent que l'activité inhibitrice de l'acide borique dépend de la concentration. En effet, une augmentation significative du pourcentage d'inhibition est observée à partir de 300 µg/mL, allant de 49.96±3,10 jusqu'à 79.21±4.99% à la concentration 1050 µg/mL.

III.1.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits feuilles, écorce des racine et graines de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de l'uréase de Jack Bean (*Canavalia ensiformis*), *in vitro*

1) Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits des feuilles

La **figure 12** présente l'effet anti-uréase, *in vitro*, de l'extrait brut et aqueux des feuilles de *P.lentiscus*, à des concentrations variables (9.375, 18.75, 37.5, 75, 150, 375 et 750 µg/mL). On compare les pourcentages d'inhibitions correspondants aux différentes concentrations avec le taux d'inhibition à 1050 µg/mL de l'acide borique.

L'extrait brut (PF) des feuilles de *P.lentiscus* a démontré une activité inhibitrice significative contre l'uréase, observable dès la plus petite concentration utilisée (9.375 µg/mL avec 42.05±1.72% d'inhibition). Par ailleurs, une inhibition totale (100%) est atteinte à partir de 75 µg/mL.

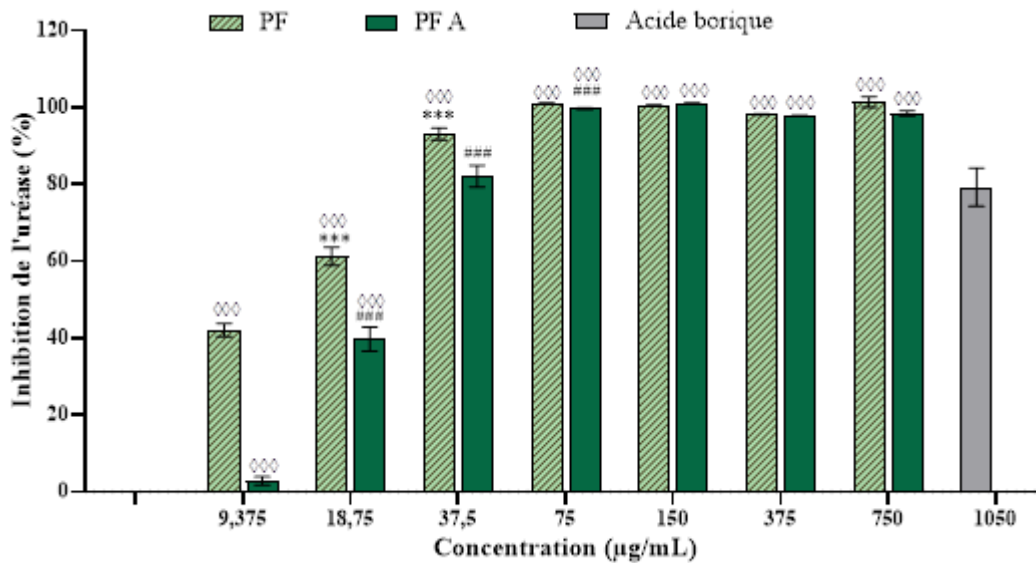


Figure 12 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PF) et aqueux (PF A) des feuilles de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de l'uréase, *in vitro*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes±S.D. (n=3). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits, brut (*) et aqueux (#), et par rapport à la concentration de 1050 µg/mL de l'acide borique (°). Les valeurs sont considérées significatives, à P< 0.05.

De l'autre part, l'extrait aqueux des feuilles (PF A) révèle une activité inhibitrice considérable, atteignant $39.69\pm 3.16\%$ à partir de la concentration de 18.75 µg/mL, bien que son efficacité soit légèrement inférieure à celle de l'extrait éthanolique.

Les deux extraits, brut et aqueux, par conséquent, présentent une inhibition dose-dépendante jusqu'à une concentration de 75 µg/mL, au-delà l'effet inhibiteur atteint un maximum d'inhibition de 100%. Ces résultats surpassent nettement ceux obtenus avec la molécule de référence, à savoir l'acide borique, qui exhibe une inhibition maximale de $79.21\pm 4.99\%$ à une concentration de 1050 µg/mL (une concentration 14 fois supérieure à celle de l'extrait).

2) Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'écorce des racines

L'effet anti-uréase, *in vitro*, de l'extrait brut et aqueux des écorces de racine de *P.lentiscus*, à des concentrations variables (11.7 ; 23.4 ; 46.875 ; 93.75 ; 187.5 ; 375 et 750 µg/mL) est rapporté dans la **Figure 13**. Les pourcentages d'inhibitions correspondants aux différentes concentrations sont comparés à ceux obtenus avec l'acide borique à une concentration de 1050 µg/mL.

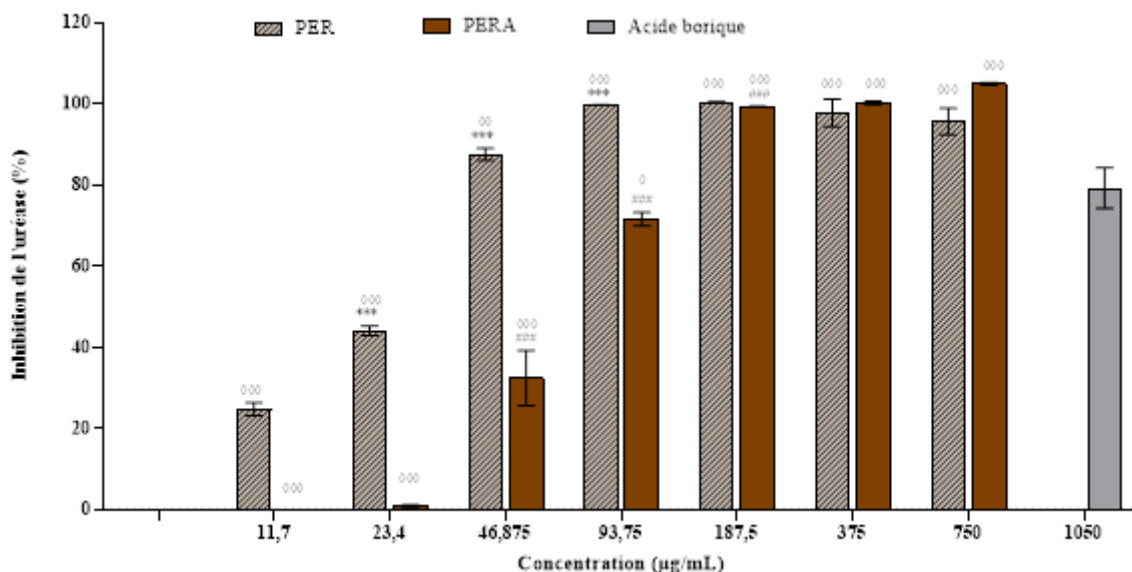


Figure 13 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PER) et aqueux (PERA) d'écorce des racines de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de l'uréase, *in vitro*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes±S.D. (n=3). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits, brut (*) et aqueux (*), et par rapport à la concentration de 1050 µg/mL de l'acide borique (°). Les valeurs sont considérées significatives, à P<0.05.

L'extrait brut d'écorces des racines de *P.lentiscus* (PER) se distingue par une activité inhibitrice significative contre l'uréase. À la plus faible concentration testée (11.7 µg/mL), PER montre une inhibition faible. Cependant, à partir de 46.875 µg/mL, PER commence à démontrer une inhibition significative, atteignant près de 100% à 93.75 µg/mL. L'inhibition maximale de 100% est maintenue pour toutes les concentrations supérieures, démontrant une forte activité dose-dépendante jusqu'à 93.75 µg/mL.

En revanche, l'extrait aqueux (PERA) montre une inhibition significative de 32.39±6.82% dès la concentration de 46.875 µg/mL. L'inhibition maximale de 100% est observée à partir de la concentration 187.5 µg/mL et est maintenue pour les concentrations supérieures, indiquant également une forte activité dose-dépendante.

L'acide borique, de sa part, atteint un pourcentage d'inhibition d'environ 80% à une concentration de 1050 µg/mL. De ce fait, les extraits de *P.lentiscus* (PER et PERA) dépassent nettement l'acide borique en termes d'efficacité inhibitrice, atteignant 100% d'inhibition à des concentrations beaucoup plus basses (11 fois inférieur).

3) Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits des graines

L'effet anti-uréase, *in vitro*, de l'extrait brut et aqueux des graines de *P.lentiscus*, à des concentrations variables (9.375, 18.75, 37.5, 75, 150, 375 et 750 $\mu\text{g/mL}$) est rapporté dans la Figure 14. Les pourcentages d'inhibitions correspondants aux différentes concentrations sont comparés avec ceux obtenus avec l'acide borique à une concentration de 1050 $\mu\text{g/mL}$.

L'extrait éthanolique (PG) exerce une inhibition modérée sur l'enzyme uréase à toutes les concentrations inférieures à 93.75 $\mu\text{g/mL}$. Au-delà de cette concentration, une augmentation notable de l'inhibition est observée, atteignant près de 90% à 187.5 $\mu\text{g/mL}$. L'inhibition maximale de 100% est maintenue pour toutes les concentrations supérieures, à savoir 375 et 750 $\mu\text{g/mL}$, indiquant une forte activité dose-dépendante. En revanche, l'extrait aqueux (PG A) présente une inhibition significative dès 11.7 $\mu\text{g/mL}$, excédant ainsi l'effet de l'extrait PG à toutes les concentrations testées. L'activité inhibitrice de PG A atteint un plateau optimal de 100% à 187.5 $\mu\text{g/mL}$.

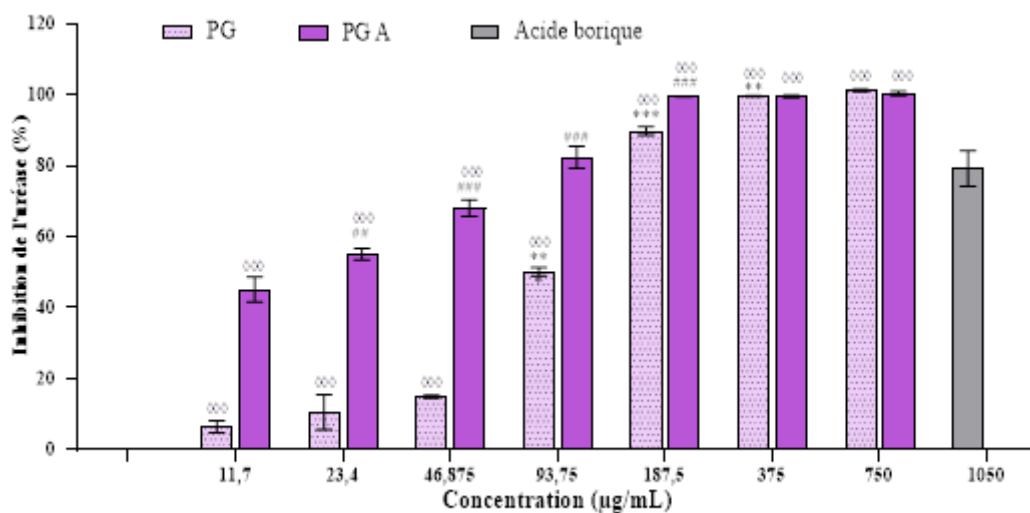


Figure 14 : Effet inhibiteur de l'extrait éthanolique (PG) et aqueux (PG A) des graines de *P.lentiscus* sur l'activité enzymatique de l'uréase, *in vitro*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm S.D. (n=3). Les comparaisons ont été effectuées pour chaque concentration par rapport à la concentration précédente pour les deux extraits, brut (*) et aqueux (#) et par rapport à la concentration de 1050 $\mu\text{g/mL}$ de l'acide borique (°). Les valeurs sont considérées significatives à $P < 0.05$.

Ainsi, l'extrait aqueux (PG A) se distingue par une inhibition importante et efficace à de très faibles concentrations comparativement à l'extrait éthanolique (PG). Ces résultats montrent que les extraits ont une capacité d'inhibition qui est dose-dépendante et significativement plus élevée que celle de l'acide borique. En effet, l'acide borique n'arrive à inhiber l'enzyme qu'à 80 % à une concentration de 1050 $\mu\text{g/mL}$. Ces observations mettent en évidence la supériorité et l'efficacité des extraits de *P.lentiscus* par rapport à l'acide borique.

III.1.4.3 Détermination des concentrations inhibitrices à 50%, IC50

L'évaluation de la concentration inhibitrice de 50% (IC50) de l'uréase permet de comparer l'efficacité inhibitrice des différents extraits éthanoliques et aqueux de *P.lentiscus*, incluant les extraits des feuilles, de l'écorce des racines et des graines (**Tableau VI**).

Tableau VI : Valeurs des IC50±S.D. et les coefficients de corrélations (R²), pour les différents extraits de *P.lentiscus* et de l'acide borique.

Extraits de plantes	IC50 (µg/mL)	R ²
PF	12.69±0.95 ^{***}	0.9859
PF A	20.29±1.65 ^{***}	0.9762
PER	23.06±2.01 ^{***}	0.9704
PERA	49.46±2.54 ^{***}	0.9939
PG	91.66±5.59 ^{***}	0.99
PG A	17.33±2.86 ^{***}	0.9502
Acide Borique	499.5±29.3	0.80

Les comparaisons sont faites par rapport à la molécule de référence, acide borique. Les valeurs sont considérées significatives, à P< 0.05.

Les différents extraits de *P.lentiscus* ont présenté des valeurs IC50 remarquables, à savoir 12.69 ; 17.33 ; 20.29 ; 23.06 ; 49.46 et 91.66 µg/mL pour les extraits PF, PG A, PF A, PER, PERA, et PG, respectivement. À l'inverse, l'acide borique a présenté une valeur d'IC50 nettement supérieure, s'élevant à 499.5 µg/mL.

L'extrait éthanolique des feuilles (PF) a démontré l'IC50 la plus faible, indiquant une activité inhibitrice notable, tandis que l'extrait brut des graines (PG) a révélé l'IC50 la plus élevée parmi les extraits de *P.lentiscus*, mais reste néanmoins un inhibiteur puissant de l'uréase comparé à l'acide borique.

Il est intéressant de noter que les extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce des racines ont montré une activité inhibitrice supérieure à celle des extraits aqueux. En revanche, pour les graines, l'extrait aqueux a démontré une meilleure performance inhibitrice que l'extrait éthanolique.

III.1.5. Docking moléculaire

Pour mieux comprendre les résultats expérimentaux *in vitro*, concernant l'inhibition de la xanthine oxydase, et afin de prédire la capacité des molécules à se lier aux protéines, des études de docking moléculaire ont été réalisées. Ces expériences visaient également à caractériser le comportement des petites molécules au sein du site actif de liaison de la xanthine oxydase.

Pour la validation de la crédibilité de la procédure de docking, un RMSD (valeur de l'écart carré moyen de la racine) de 2.77 Å a été utilisé. Une valeur considérée comme acceptable pour la validation des résultats.

Parmi les différentes simulations d'interactions moléculaires correspondantes, les interactions les plus appropriées pour chaque composé testé, à savoir l'acide gallique, l'acide ellagique, la catéchine, le theogallin et l'isoquercétine (quercétine-3-glucoside) ont été sélectionnées en fonction de la plus faible énergie libre de liaison, visant à éclaircir leurs mécanismes d'action. Ces inhibiteurs, ont été comparés également à la molécule de référence, l'allopurinol.

Les conformations de l'interaction pour chaque composé sont montrées dans les figures 15,16,17,18,19 et 20, tandis que les forces de liaison (scores du docking, ΔG), les constantes d'inhibition (K_i), ainsi que les types et les distances des liaisons entre les ligands testés et les résidus d'acides aminés du site actif de l'enzyme sont énumérés dans le tableau VII.

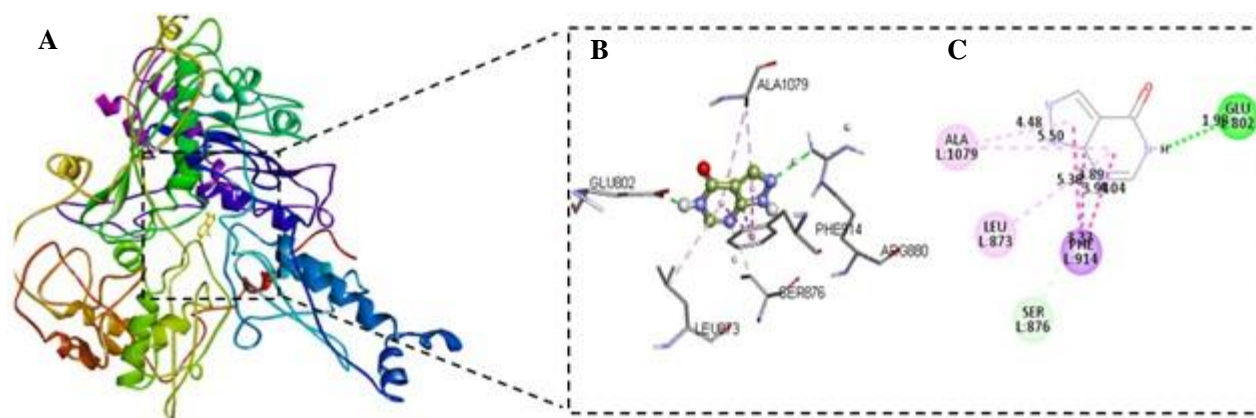


Figure 15 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'allopurinol avec la xanthine oxydase (XO), (A) Chevauchement spatial entre la pose du ligand amarré allopurinol , (B) Pose du ligand amarré de la l'allopurinol dans le site de liaison, (C) Diagramme d'interaction du ligand de la l'allopurinol.

■ liaison hydrogène □ liaison covalente ■ π -sigma ■ Amide-Pi empilées □ π - π Empilées

Tableau VII : Résultats des forces de liaison (Scores du docking, ΔG), des constantes d'inhibition (Ki), des types de liaison et leurs distances entre les ligands testés et la XO.

Molécules	Score du docking (ΔG : kcal/mol)	Ki	Interactions		
			Types d'interaction	Acides aminés	Distance (Å)
Allopurinol	-8.10	1.16 μM	Liaison Hydrogène	GLU802	1.98
			C-H covalente	SER876	3.94
			π -sigma	PHE914	3.33
			π -Alkyl	LEU873	5.38
				ALA1079	4.48
			π - π Empilées	PHE914	5.50 3.89 4.04
Acide ellagique	-7.49	3.26 μM	Liaison Hydrogène	THR1077	2.08
				SER1082	2.90
				GLN1194	1.84
			Soufre-x	MET1038	1.99 2.75
			alkyl	ARG912	5.20
	ALA1078	4.84			
Acide gallique	-9.36	138.13 nM	Liaison hydrogène	GLU802	2.05
					1.97
				THR1010	2.84
			Pi-sigma	ALA1079	3.87
			π -alkyl	ALA1078	4.97
			π - π Empilées	PHE914	3.66
			π - π en forme T	PHE1009	4.67
Catéchine	-12.13	1.29 nM	Liaison hydrogène	GLN767	2.71
				GLU802	2.00
					2.19
				MET1038	2.01
				GLN1194	1.94
			π - π Empilées	PHE798	4.14
			Amide-Pi empilées	GLY1039	5.86
			Alkyl	PHE798	5.49
				MET1038	4.87
			π -Alkyl	ALA910	5.26
				ARG912	5.21
	MET1038	4.25			
	ALA1078	4.52			
	Van der waals	Gln1040	/		
Theogallin	-12.62	563.07 pM	Liaison hydrogène	THR1083	2.05
					2.35
				GLU1261	2.08
					2.11
			Liaison covalente (C-H)	PHE798	3.42
				SER1082	2.95
				GLY1260	2.90
			π -sigma	GLN1040	3.69
			Amide- π - empilées	SER1080	4.61
			Alkyl	ALA1078	4.52
			Van der waals	VAL1081	/
Molécules	Score du docking	Ki	Interactions		

	(ΔG : kcal/mol)		Type d'interaction	Acides aminés	Distance (Å)			
Quercétine-3- Glucoside	-11.28	5.41 nM	Liaison hydrogène	ASN768	2.04			
				GLU802	2.27			
				GLU802	1.99			
				SER1075	1.83			
				SER1074	3.31			
			GLN1016	2.19				
						Liaison covalente (C-H)	LYS771	1.93
							PRO1076	2.55
								2.86
								3.74
			π -sigma	MET770	3.81			
				LEU1014	3.75			
			π -Alkyl	MET770	5.19			

Les résultats du docking moléculaire de l'allopurinol (**Figure 15**) indiquent que le complexe allopurinol-xanthine oxydase présente une force de liaison de -8.10 kcal/mol et une constante d'inhibition (K_i) de 1.16 μ M. D'après l'analyse du plan d'interactions en 2D et 3D (**Figure 15**), plusieurs interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif, à savoir l'acide glutamique, la sérine, la phénylalanine, la leucine et l'alanine, ont été identifiées.

En effet, le groupe N-H de l'allopurinol forme une liaison hydrogène avec le groupement carboxyle de l'acide aminé Glu802, avec une distance de liaison de 1.98 Å. Par ailleurs, l'azote de l'allopurinol forme une interaction covalente avec la fonction hydroxyle du groupement carboxyle de l'acide aminé Ser876, avec une distance de 3.94 Å. En outre, le résidu Phe914 participe avec des interactions de type π -sigma (3.33 Å) et des interactions π - π empilées (4.4 Å). Enfin, des liaisons π -alkyle sont également observées avec les résidus Ala1079 et Leu873.

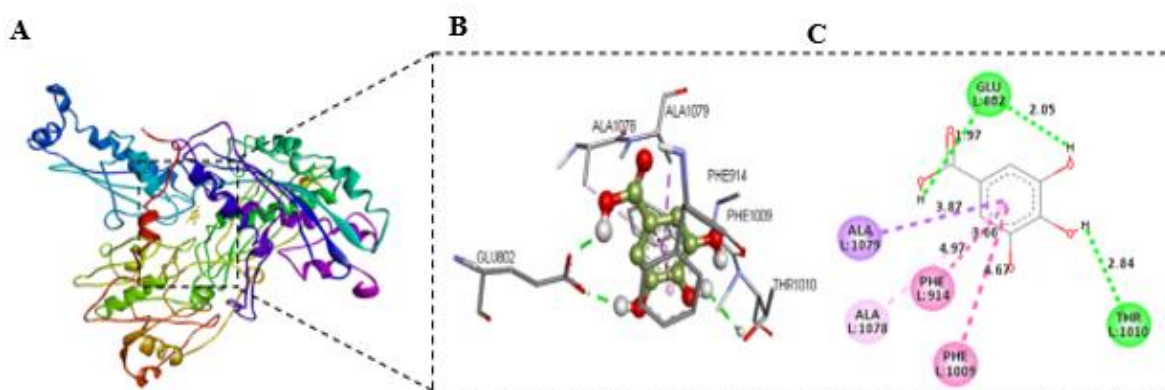


Figure 16 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'acide gallique avec la xanthine oxydase (XO). (A) structure 3D de chevauchement spatial entre la pose du ligand amarré l'acide gallique, (B) Pose du ligand amarré de l'acide gallique dans le site de liaison en 2D, (C) Diagramme d'interaction du ligand de l'acide gallique structure 2D

■ Liaison hydrogène ■ π -sigma ■ π - π Empilées ■ π - π en forme T ■ π -alkyl

Par ailleurs, l'acide gallique (**Figure 16**) s'est révélé particulièrement remarquable, présentant une énergie de liaison de -9.36 kcal/mol, inférieure à celle de la molécule de référence, l'allopurinol. Il affiche également une constante d'inhibition K_i de 138.13 nM, environ huit fois inférieure à celle de l'allopurinol, soit 138.13 nM. Les interactions moléculaires de l'acide gallique sont comparables à celles de l'allopurinol, avec notamment deux liaisons similaires : une liaison hydrogène avec Glu802 et une interaction π - π empilées avec Phe914.

En plus de ces interactions communes, l'acide gallique présente deux liaisons hydrogène supplémentaires entre les groupements hydroxyle du carbone 4 et 5 avec les acides aminés Thr1010 et Glu802. Par ailleurs, l'anneau phénolique de l'acide gallique établit des interactions π - π en forme de T avec Phe1009. Ces interactions supplémentaires soulignent la capacité de l'acide gallique à former un complexe plus stable avec la xanthine oxydase comparé à l'allopurinol.

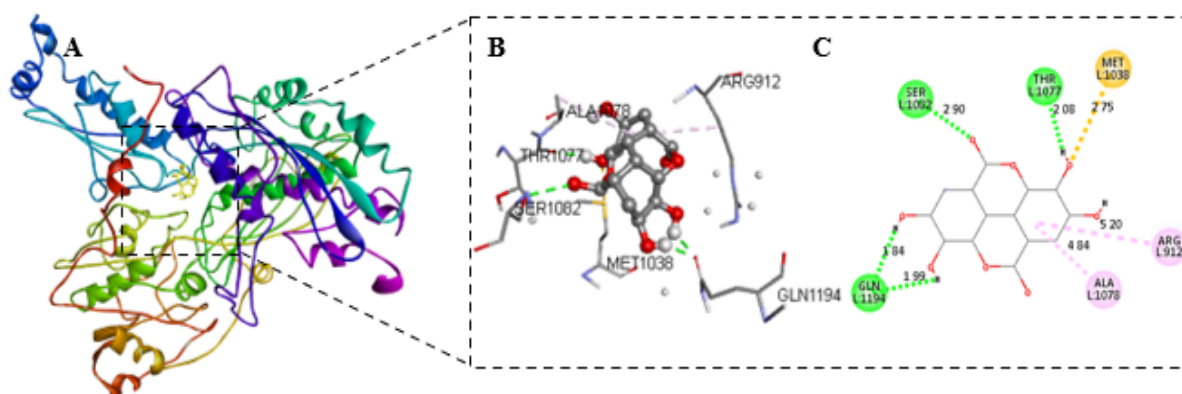


Figure 17 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de l'acide éllagique avec la xanthine oxydase (XO). (A) Chevauchement spatial entre la pose du ligand amarré l'acide éllagique , (B) Pose du ligand amarré de l'acide éllagique dans le site de liaison, (C) Diagramme d'interaction du ligand de l'acide éllagique.

■ Liaison hydrogène ■ Soufre-x ■ Alkyl

L'acide ellagique, par contre, a démontré une énergie de liaison de -7,49 kcal/mol et une constante d'inhibition (K_i) de 3.26 μ M, ce qui est relativement plus élevé comparativement à l'allopurinol. D'après la figure 17, quatre liaisons hydrogène notables ont été constatées. Ces dernières impliquent les groupements hydroxyles des différentes positions de l'acide ellagique, dont une liaison avec le résidu Thr1010 (2.08 Å), une liaison avec la Ser1082 (2.90 Å) et les deux autres liaisons avec le même acide aminé, notamment Gln1194, à des distances de 1.99 Å et 1.84 Å, respectivement.

Les anneaux aromatiques de l'acide ellagique établissent, également, des interactions alkyles avec Ala1078 et Arg912, ainsi que des interactions de type soufre-x avec Met1038 à une distance de 2.75 Å.

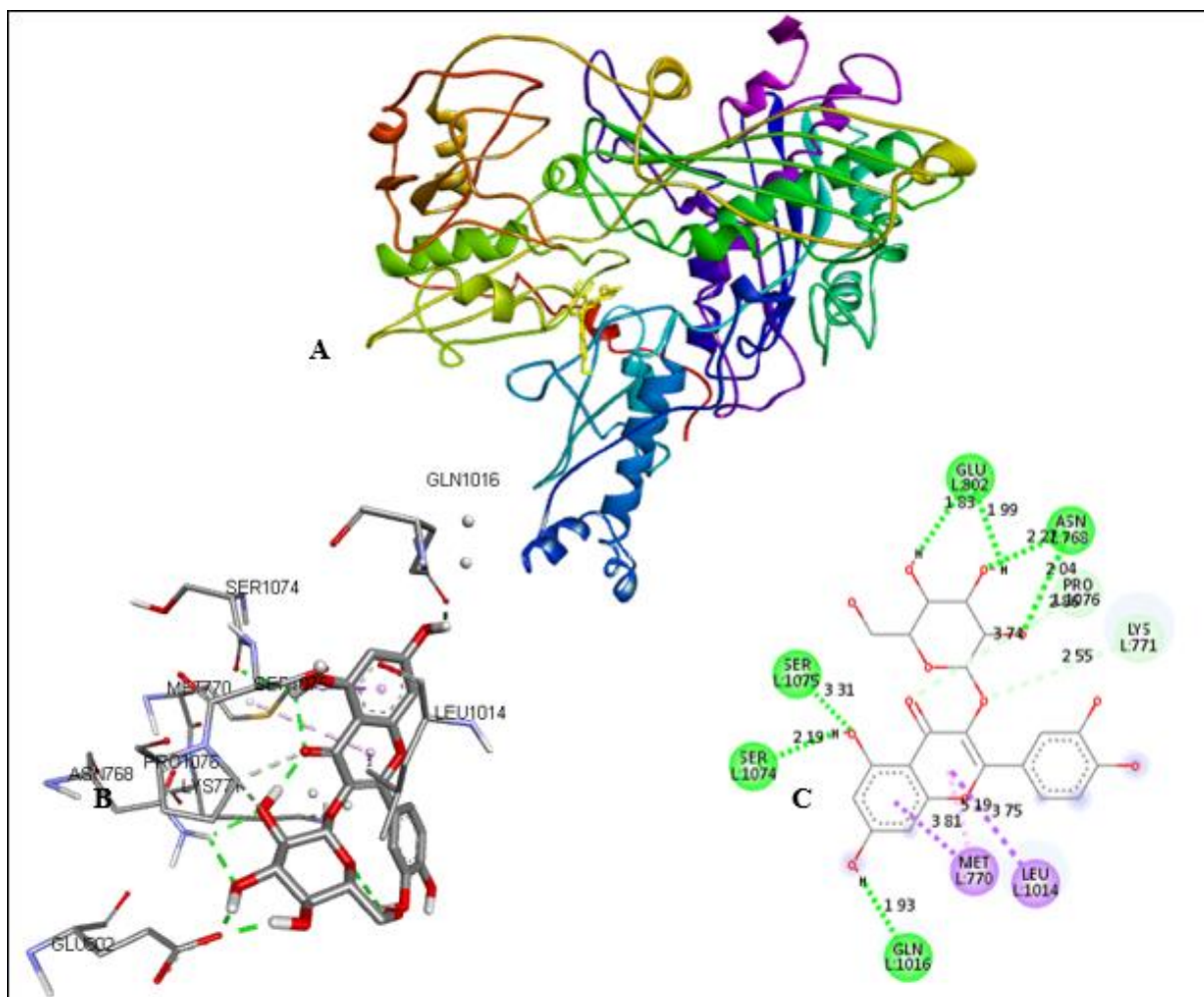


Figure 18 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de la quercétine-3-Glucoside avec la xanthine oxydase (XO). (A) Chevauchement spatial entre la pose du ligand amarré la quercétine-3-Glucoside, (B) Pose du ligand amarré de la quercétine-3-Glucoside dans le site de liaison, (C) Diagramme d'interaction du ligand de la quercétine-3-Glucoside

■ Liaison hydrogène ■ liaison covalente ■ π -sigma ■ π -Alkyl

La quercétine-3-Glucoside de sa part, a démontré un score de docking plus bas (-11.28 kcal/mol) et une K_i plus faible (5.41 nM), indiquant une interaction plus forte avec l'enzyme xanthine oxydase par rapport à l'allopurinol. Les résultats montrent que les deux molécules, la quercétine-3-Glucoside et l'allopurinol, exploitent des interactions similaires pour se lier à la xanthine oxydase (XO). En particulier, elles forment des interactions π -sigma et π -Alkyl, avec des distances se situant dans une gamme similaire d'environ 3 à 5 Å, avec différents acides aminés et partagent une liaison hydrogène avec le Glu802.

Tandis que le reste des liaisons hydrogène exhibées par la quercétine-3-Glucoside sont en relation avec les acides aminés Asn718, Ser1074, Ser1075 et Gln1016. En plus de ces interactions, elle possède trois liaisons covalentes avec les acides aminés Lys771 (2.55 Å) et Pro1076 (2.86 Å et 3.74 Å).

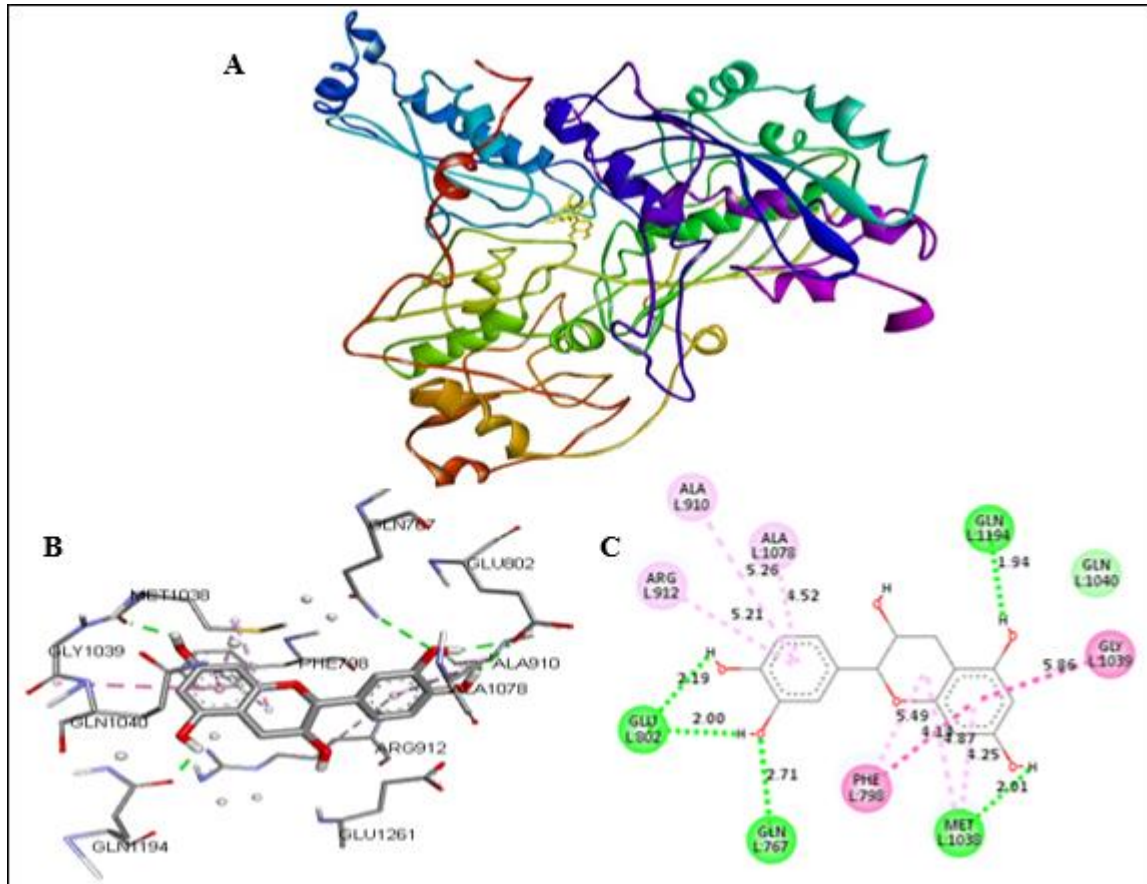


Figure 19 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire de la catéchine avec la xanthine oxydase (XO). (A) Chevauchement spatial entre la pose du ligand amarré catéchine, (B) Pose du ligand amarré de la catéchine dans le site de liaison, (C) Diagramme d'interaction du ligand de la catéchine.

■ liaison hydrogène ■ π - π Empilées ■ Amide- π empilées ■ Alkyl ■ π -Alkyl ■ van der Waals

D'une autre part, la catéchine révèle une énergie d'interaction avec la XO très faible de -12.13Kcal/mol. De plus, la surface hydrophobe du modèle d'amarrage moléculaire 2D et les principaux résidus d'acides aminés impliqués dans l'interaction ont été présentés dans la **figure 19**. On a pu observer que la catéchine était entourée de certains résidus d'acides aminés hydrophobes et formait des liaisons hydrogène (cinq liaisons) entre ses groupement hydroxyles et les résidus Glu802, comme s'est démontré dans le cas de la molécule de référence, allopurinol, et les autres résidus à savoir Gln767, Met1038 et Gln1194. En plus de ces liaisons hydrogènes, les forces de van der Waals (Gln 1040) ont également contribué à renforcer la liaison de la catéchine et la XO.

La catéchine forme également d'autres interactions notamment, π -alkyle, alkyle, et les liaisons π - π empilées ou transposé avec divers résidus aminés, ce qui contribue encore à la stabilité et à l'affinité de la catéchine pour l'enzyme.

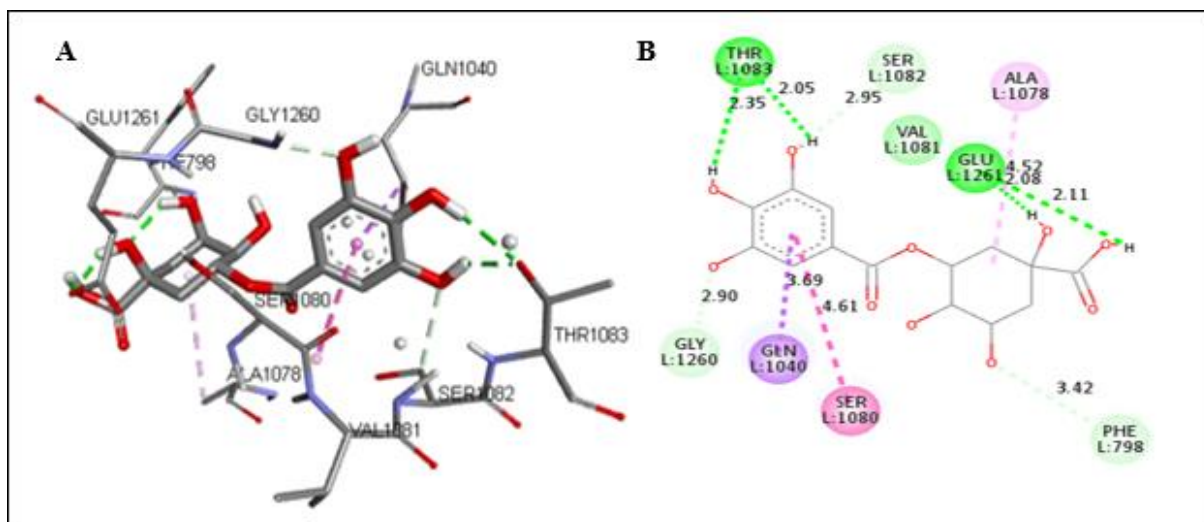


Figure 20 : Résultats des interactions issues de l'amarrage moléculaire du theogallin avec la xanthine oxydase (XO). (A) Pose du ligand amarré de theogallin dans le site de liaison, (B) Diagramme d'interaction du ligand de theogallin.

■ liaison hydrogène ■ liaison covalente ■ π -sigma ■ Amide-Pi empilées ■ Alkyl
 ■ van der waals

Il a été également observé que le theogallin, un composé appartenant à la classe des dérivés de l'acide quinique (acide quinique-3-galloyl), présente la conformation la plus favorable avec l'énergie de liaison la plus faible, à savoir -12.62 kcal/mol et une constante d'inhibition (K_i) extrêmement basse de l'ordre de 563.07 pM, comparativement à l'allopurinol. La stabilité et l'efficacité de cette conformation peuvent être attribuées à plusieurs types d'interactions impliquées (**Figure 20**). En effet, les interactions hydrogène sont observées avec les résidus d'acides aminés Thr1083 (deux liaisons hydrogène avec deux groupements hydroxyle du cycle aromatique de l'acide gallique, 2.35 Å et 2.05 Å) et Glu1261, avec les groupements hydroxyle de l'acide quinique (2.11 et 2.08 Å).

En plus de ces liaisons hydrogène, trois interactions covalentes sont également présentes. Une liaison pi-sigma, en plus, observée avec le résidu Gln1040 à une distance de 3.69 Å. En outre, le théogallin forme des liaisons de type alkyl avec le résidu Ala1078 et de type amide-pi empilées avec le résidu Ser1080, ainsi que des forces de van der Waals ont été observées avec le résidu Val1081. Ces forces de faible intensité, mais permettent d'affiner l'ajustement de la molécule dans son environnement, renforçant ainsi la stabilité globale de la conformation.

III.2. Discussion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances aux activités biologiques et pharmacologiques variées. Les extraits naturels isolés des plantes utilisées en médecine traditionnelle peuvent constituer des ressources pour le développement de nouveaux médicaments (Ennabili *et al.*, 2006 ; Al-Rooqi *et al.*, 2023).

Cette étude se concentre sur une plante médicinale locale, *P.lentiscus*, communément appelée lentisque, largement employée en médecine traditionnelle par les populations rurales, pour traiter divers maux tels que les diarrhées, les douleurs abdominales, et les troubles inflammatoires, notamment les rhumatismes et l'ulcère gastrique (Ljubuncic *et al.*, 2005 ; Bammou *et al.*, 2015 ; Bouriche *et al.*, 2016 ; Sehaki *et al.*, 2023). Ces multiples vertus font de *P.lentiscus* un sujet idéal pour l'exploration de ses activités biologiques, notamment anti-oxydantes et anti-enzymatiques. Par conséquent, les effets anti-xanthine oxydase et anti-uréase de divers extraits provenant des feuilles, de l'écorce des racines et des graines de *P.lentiscus* ont été évalués afin de tester leurs effets anti-goutte et anti-ulcère, respectivement.

Certainement, cette plante est reconnue comme un réservoir biologique, en raison de sa teneur exceptionnelle en composés phytochimiques. Ces composés possèdent la capacité de diminuer les effets des agents nuisibles et de renforcer les mécanismes de défense de l'organisme (Zitouni *et al.*, 2022). *P.lentiscus* offre une grande diversité de composés chimiques dans ses différentes parties, bien que les méthodes d'extraction de ces composés diffèrent selon les études.

Dans la présente étude, la technique employée pour extraire les composés phénoliques est dérivée de celle décrite par Atmani *et ses collègues*, 2009, avec des adaptations spécifiques. Elle repose sur l'utilisation de divers solvants de polarités variées afin d'extraire une large gamme de composés phénoliques, et de séparer l'extrait brut en fractions organique et aqueuse.

L'éthanol est choisi comme solvant d'extraction initial, en raison de ses nombreux avantages, en particulier sa polarité. Il est largement reconnu comme le solvant privilégié pour l'extraction des composés phénoliques (Cowan, 1999).

Au cours de la deuxième et de la troisième étape de l'extraction, les composés contenus dans l'extrait éthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle ont été séparés sélectivement en fonction de leur solubilité entre les phases organiques utilisées (acétate d'éthyle et chloroforme) et leurs phases aqueuses respectives, notamment l'eau.

En effet, les composés se sont concentrés dans les phases aqueuses, ce qui indique une richesse en composés hydrosolubles dans différentes parties de cette plante.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement dépend des caractéristiques génétiques des feuilles, de l'écorce et des graines, de l'origine géographique, des conditions et de la durée de stockage, ainsi que des méthodes d'extraction utilisées (**Alexieva et al., 2013**).

Il est crucial que toute technique d'extraction assure non seulement un rendement quantitatif élevé, mais également la qualité des extraits, en particulier la bio-activité des principes actifs. Cette recherche montre que la macération avec agitation accélère le processus d'extraction et diminue la durée de contact entre le solvant et le matériau, tout en conservant l'intégrité bio-active des composants. De plus, l'extraction à température ambiante s'avère bénéfique pour maximiser la récupération des composés et éviter leur dénaturation ou altération, contrairement aux méthodes qui utilisent des températures élevées (**Azmir et al., 2013**).

En parallèle, afin de prévenir la dégradation des composés sensibles et instables, les extraits obtenus à chaque étape ont été séchés sous un évaporateur rotatif, à une température inférieure à 40°C (**Jha & Sit, 2022**).

Il est important de noter que les pourcentages élevés d'extraits obtenus pour les parties feuilles et écorce des racines, par rapport aux graines, reflètent vraisemblablement une richesse en composés phénoliques polaires plus importante dans ces parties de la plante.

Par ailleurs, le stress oxydatif joue un rôle crucial dans la pathogenèse de nombreuses maladies et affections, telles que les maladies inflammatoires, le cancer et le vieillissement. Ce phénomène résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les neutraliser par des mécanismes de défense antioxydants. Les antioxydants, grâce à leur capacité à neutraliser ces radicaux libres, jouent un rôle protecteur en réduisant les dommages oxydatifs (**Favier, 2003**). Ils agissent par divers mécanismes, incluant l'élimination directe des radicaux libres, l'inhibition des réactions de peroxydation lipidique et le soutien des systèmes de réparation cellulaire. En renforçant la résistance de l'organisme au stress oxydatif, les antioxydants peuvent contribuer à la prévention et à la gestion de nombreuses maladies chroniques et dégénératives (**Marx, 1987**).

La capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-s-triazine en un complexe ferreux de couleur bleue intense en milieu acide, mesurée par le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) (Huang et al., 2005), a été utilisée comme model d'étude du pouvoir antioxydant des extraits de *P.lentiscus*. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* (PF) se démarque avec une concentration de 281.52 ± 21.992 mM équivalents Trolox /mg d'extrait. Cette capacité de réduction du fer ferrique en fer ferreux indique un pouvoir antioxydant remarquable. Il est intéressant de noter que cet extrait possède un pouvoir antioxydant statistiquement supérieur ($p < 0.05$) à tous les autres extraits testés, ce qui souligne la richesse de cet extrait en composés antioxydants.

Les autres extraits, bien que possédant des capacités antioxydantes très considérables, affichent des performances inférieures à celles de l'extrait éthanolique des feuilles. L'extrait aqueux des feuilles (PFA) ainsi que les extraits éthanolique et aqueux de l'écorce des racines présentent des capacités antioxydantes comprises entre 39.157 ± 7.278 et 57.579 ± 1.52 mM équivalents Trolox/mg d'extrait. Cette variation démontre que, bien que toutes les parties de *P.lentiscus* possèdent des propriétés antioxydantes, leur efficacité est inférieure à celle des extraits éthanoliques des feuilles.

Atmani et al., (2009), a également observé des résultats similaires. Ses travaux ont mis en évidence que les fractions aqueuses obtenues à partir des extractions hexane-chloroforme des feuilles de *P.lentiscus* présentent le meilleur pouvoir réducteur. Cette constatation suggère que ces fractions spécifiques contiennent des composés bioactifs capables de réduire efficacement les ions ferriques, ce qui est crucial pour leurs applications potentielles en tant qu'antioxydants dans divers contextes biologiques et industriels (Atmani et al., 2009).

D'une autre part, l'étude de Gardeli et son équipe (2008) a analysé l'extrait méthanolique de feuilles de *P.lentiscus* à différentes périodes de récolte (février, mai, août), révélant des valeurs respectives de 84.6 ± 3.5 ; 131.4 ± 10.1 ; 105 ± 12.2 (mmol Fe^{2+} /l) pour la capacité antioxydante totale. Une augmentation significative a été observée pendant la phase de floraison, où la valeur était de $131,4$ mmol Fe^{2+} /l. Cette période a montré une augmentation significative de l'activité antioxydante des feuilles de *P.lentiscus*, suggérant que le moment de la récolte peut influencer notablement les niveaux d'antioxydants présents dans les feuilles de cette plante (Gardeli et al., 2008).

Les résultats de la présente étude corroborent également ceux de **Drioiche et ses collaborateurs (2023)**, qui ont démontré un fort pouvoir antioxydant, *in vitro* et *in silico* des extraits de feuilles de *P.lentiscus*. Les molécules bioactives de ces extraits neutralisent les radicaux libres en leur fournissant un électron, et peuvent chélater les ions métalliques, réduisant ainsi les réactions oxydatives. Les études ont identifié plusieurs composés, dont la myricétine-3-O-xyloside, l'acide 3,4,5-tri-O-galloylquinique, l'acide 3,5-di-O-galloylquinique, l'acide 3-galloylquinique et l'acide gallique 3-O-gallate, qui possèdent une forte capacité à neutraliser les radicaux libres, à réguler les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à réduire les dommages oxydatifs (**Drioiche et al., 2023**).

Par ailleurs, des recherches conduites par **Hemma et ses collaborateurs en 2018** ont révélé que les extraits méthanoliques de feuilles et de fruits de *P.lentiscus* possèdent un pouvoir réducteur ferrique élevé. Néanmoins, il a été constaté que les extraits méthanoliques des graines présentent une activité réductrice encore plus élevée que celle des feuilles (**HEMMA et al., 2018**).

De même, **en 2022, Selim et ses collaborateurs** ont identifié que l'extrait méthanolique de l'écorce de *P.lentiscus* exhibe une efficacité élevée dans l'élimination des radicaux libres, attribuée à la présence de glucides, flavonoïdes, tanins, coumarines, triterpènes et alcaloïdes. Une analyse phytochimique approfondie a permis d'identifier plusieurs composés, dont le gallate de méthyle, l'acide gallique, le kaempférol, la quercétine, le kaempférol 3-O- α -rhamnoside, le kaempférol 3-O- β -glucoside et la quercétine-3-O- β -glucoside (**Selim et al., 2022**).

Toutes ces études suggèrent que *P.lentiscus* pourrait être efficace pour neutraliser les radicaux libres, offrant ainsi un potentiel thérapeutique important pour lutter contre les dommages oxydatifs.

Par ailleurs, l'inhibition de la xanthine oxydase par divers extraits de plantes a été largement étudiée en raison de ses implications thérapeutiques, notamment dans la gestion de l'hyperuricémie et des troubles associés (**Mehmood et al., 2020**). Dans ce contexte, cette étude a été menée afin de tester l'effet des extraits de feuilles, d'écorce de racines et de graines de *P.lentiscus* sur la xanthine oxydase.

Pour évaluer l'effet inhibiteur de la xanthine oxydase par les divers extraits de *P.lentiscus* utilisés *in vitro*, l'allopurinol a été employé comme molécule de référence afin de mesurer l'action inhibitrice de la XO.

L'étude a révélé que la concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀) de l'allopurinol est de $0.28 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$, équivalent à $2.06 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$. Cette valeur concorde avec plusieurs études de la littérature, notamment celles de **Ahmad et al., 2008**, **Huang et al., 2022** et **Ha et al., 2022**, qui ont rapporté des IC₅₀ allant de 0.1 à $1.57 \mu\text{g/mL}$. De plus, les résultats de la présente étude sont très proches de ceux obtenus par **Zhang et al., 2018** et **Wang et al., 2021**, qui ont mesuré des valeurs de $2.69 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ et $2.02 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$, respectivement. Ces concordances avec des travaux antérieurs attestent de l'efficacité et de la fiabilité de la méthodologie expérimentale employée, confirmant ainsi la pertinence des résultats.

L'étude de l'effet inhibiteur de *P.lentiscus* sur la xanthine oxydase a été initiée au niveau du laboratoire de Biochimie appliquée et des résultats préliminaires sur deux concentrations ont été démontrés. L'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* a montré une inhibition de l'activité de la xanthine oxydase (enzyme purifiée) de 30.52 ± 6.10 à $100 \mu\text{g/mL}$, tandis que les fractions aqueuses issues des extractions à l'hexane et au chloroforme ont démontré des inhibitions plus élevées, respectivement de 72.74 ± 2.63 et de 68.97 ± 3.89 % à la même concentration. De plus, à une concentration de $50 \mu\text{g/mL}$, ces fractions ont également montré des inhibitions significatives de 54.70 ± 2.63 et 51.82 ± 1.28 %.

Dans la présente étude, le test d'activité anti-xanthine oxydase a été refait sur une enzyme bovine purifiée et lyophilisée, afin de standardiser l'activité enzymatique et d'optimiser l'effet des extraits de cette plante. Les extraits ont révélé une meilleure activité inhibitrice, avec un maximum d'inhibition d'environ 84.80 ± 0.84 % à $100 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait éthanolique. Quant à l'extrait aqueux a montré une inhibition significative dès $5 \mu\text{g/mL}$, avec une inhibition de 49.58 ± 1.02 %, atteignant un maximum d'inhibition de 87.77 ± 1.06 % à $100 \mu\text{g/mL}$, et qui s'est distingué par une valeur d'IC₅₀ la plus faible ($5.37 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$). Cette dernière reflète un effet significativement comparable à celui de l'allopurinol, ce qui indique la puissance de l'effet inhibiteur de cette plante ainsi que la reproductibilité des résultats.

Parallèlement, les IC₅₀ mesurés par **Boucheffa et ses collaborateurs** pour les extraits de feuilles de *P.lentiscus* sont de $140 \mu\text{g/mL}$, $186 \mu\text{g/mL}$, et $330 \mu\text{g/mL}$ pour les fractions butanol, aqueuse résiduelle et aqueuse butanolique, respectivement. Ces valeurs indiquent une activité inhibitrice significative de la xanthine oxydase. En comparaison, cette étude a révélé des IC₅₀ de $19.01 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait éthanolique et de $5.37 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus*—qui démontrent une inhibition beaucoup plus puissante, en particulier pour l'extrait aqueux.

Cette différence d'efficacité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment une méthode d'extraction plus efficace dans la présente étude, qui pourrait avoir mieux isolé les composés phénoliques actifs, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, connus pour leur capacité à inhiber la xanthine oxydase. **Boucheffa et al., 2022** ont également noté la richesse des feuilles en ces composés, mais il est possible que le processus d'extraction à l'éthanol dans cette étude ait mieux muni pour extraire ces composés phénoliques.

D'une autre part, les extraits de feuilles de *Pistacia integerrima* obtenus avec différents solvants ont montré des valeurs IC₅₀ variées pour l'inhibition de la xanthine oxydase, comparable aux extraits testés dans la présente étude, démontrant ainsi la richesse des espèces du genre *Pistacia*. En effet, l'extrait aqueux a présenté une IC₅₀ de 85 µg/mL, l'extrait éthanol-eau (4:1) une IC₅₀ de 59 µg/mL, et l'extrait éthanol-eau (1:1) une IC₅₀ de 60 µg/mL. L'extrait au chloroforme a affiché une IC₅₀ de 44 µg/mL, l'extrait à l'acétate d'éthyle une IC₅₀ de 20 µg/mL, et l'extrait de n-butanol a présenté la valeur la plus basse avec une IC₅₀ de 19 µg/mL. En revanche, la fraction insoluble a montré un IC₅₀ supérieur à 100 µg/mL (**Ahmad et al., 2008**), mettant ainsi en évidence l'efficacité variable des différents extraits de *P.integerrima* dans l'inhibition de la XO avec l'extrait de n-butanol étant le plus efficace. En comparaison, les résultats de la présente étude sur les feuilles de *P.lentiscus* montrent que l'extrait aqueux, avec une IC₅₀ de 5.37 µg/mL, présente une inhibition presque quatre fois plus puissante que le meilleur extrait de *P.integerrima*, le n-butanol (IC₅₀ de 19 µg/mL). De même, l'extrait éthanolique (IC₅₀=19.01 µg/mL) est comparable au meilleur extrait de *P.integerrima*, mais reste moins efficace que l'extrait aqueux de cette étude réalisée.

De plus, l'étude de **Ha et al., 2022** sur les feuilles d'*Anacardium occidentale L.* (Anacardiaceae) a montré une IC₅₀ de 81.21 µg/mL pour l'extrait éthanolique, indiquant une inhibition modérée de la xanthine oxydase, en comparaison avec l'extrait éthanolique des feuilles de *P.lentiscus* (IC₅₀ : 19.01 µg/mL). Toutefois, l'effet des feuilles d'*Anacardium occidentale* est comparable à celui de l'extrait aqueux des graines de *P.lentiscus*, qui a une IC₅₀ de 72.55±1.68 µg/mL. Cette comparaison met en évidence des différences significatives dans l'efficacité inhibitrice des extraits de ces deux plantes sur la XO, suggérant que *P.lentiscus* pourrait être une source plus prometteuse de composés inhibiteurs de la XO par rapport à *Anacardium occidentale*.

Ces différences peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la variation de la composition chimique entre les deux espèces, les méthodes d'extraction utilisées et la concentration des composés phénoliques actifs, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques. La richesse des feuilles de *P.lentiscus* en composés phénoliques pourrait expliquer la meilleure performance de ses extraits.

Par ailleurs, l'étude menée par **Candan et son équipe, 2003**, a démontré que l'extrait méthanolique des péricarpes des fruits de *Rhus coriaria L.* (Anacardiaceae) est un inhibiteur non compétitif de la xanthine oxydase, avec une IC50 de 172.5 µg/mL (**Candan, 2003**). Conjointement, **Ranjith Arimboor et ses collaborateurs, 2011**, ont étudié les effets inhibiteurs de l'extrait méthanolique des graines de *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae) et de ses fractions sur l'activité de la xanthine oxydase. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique des graines présente une IC50 de 253±9 µg/mL, tandis que la fraction d'acétate d'éthyle montre une IC50 de 156±5 µg/mL, révélant une activité inhibitrice significative, pendant que les fractions de butanol, d'eau et d'hexane présentent des IC50 plus élevées, soit 493±10, 378±8 et 891±12 µg/mL, respectivement. Ces résultats se sont avérés largement moins intéressants et diffèrent significativement de ceux obtenus dans la présente étude (IC50 de 120.23±4.85 et 72.55±1.68 µg/mL, pour PG et PGA, respectivement).

De plus, le Tetrahydroamentoflavone (THA), isolé de la fraction d'acétate d'éthyle, a démontré une activité inhibitrice remarquable de la xanthine oxydase avec une IC50 de 50±3 µg/mL, identifiant ainsi le THA comme le principal composé inhibiteur de la xanthine oxydase dans les graines de *Semecarpus anacardium*, une espèce de la même famille de *P.lentiscus* (**Arimboor et al., 2011**). Ce résultat pourrait être comparé à celui de l'extrait aqueux des graines de la présente étude, qui s'est avéré plus puissant que l'extrait brut (PG), suggérant que l'extraction aqueuse améliore l'efficacité inhibitrice des composés présents dans cette partie de la plante.

En parallèle, afin d'évaluer plus précisément la validité de la phytothérapie dans le traitement des ulcères gastriques, il est crucial de reconnaître la complexité multifactorielle du développement de ces ulcères. Un des éléments clés dans ce processus est l'implication de *Helicobacter pylori*. Parmi les nombreux facteurs de virulence associés à *H. pylori*, l'uréase se distingue comme un déterminant majeur de sa virulence et une caractéristique biologique essentielle. En conséquence, l'uréase représente une cible thérapeutique idéale pour traiter les infections à *H. pylori* (**Abdel-Sater, 2011**).

Dans ce contexte, l'effet anti-uréase des différents extraits de *P.lentiscus* a été testé. L'acide borique, connu pour être un inhibiteur compétitif de l'uréase, a été utilisé comme molécule de référence. Il agit en formant une liaison rapide et réversible avec l'enzyme, comme décrit par **Breitenbach & Hausinger, 1988**. Cette référence a permis de mesurer et de comparer l'inhibition de l'uréase par les extraits de *P.lentiscus*, fournissant ainsi un cadre pour évaluer leur efficacité.

En effet, des concentrations variées d'acide borique ont été employées pour examiner la relation dose-réponse de cette molécule sur l'inhibition enzymatique. Tout au long des essais, l'activité inhibitrice de l'acide borique a démontré une dépendance à la concentration, avec une diminution progressive de l'activité enzymatique à mesure que la concentration de l'acide borique augmentait. La valeur de l'IC50 a été déterminée à 499.5 ± 29.27 µg/mL

Les résultats de cette étude peuvent être comparés à ceux de **Nabati et al., 2012**, qui ont évalué l'activité inhibitrice des extraits méthanoliques aqueux à 50% de plantes médicinales traditionnelles iraniennes. Ils ont trouvé que *P.lentiscus* avait une IC50 de 120 µg/mL. Ce résultat est relativement proche de l'IC50 de 91.66 µg/mL obtenue pour l'extrait éthanolique des graines de *P.lentiscus* dans la présente étude, mais largement différents avec les autres extraits testés.

En revanche, l'étude sur *Pistacia vera* a présenté une inhibition de $97.71 \pm 0.01\%$ de l'activité de l'uréase à une concentration de 10 mg/mL (**Nabati et al., 2012**). Ce niveau d'inhibition est nettement inférieur et incomparable à celui observé pour *P.lentiscus* dans la présente étude.

Parallèlement, l'étude menée par **Benmohamed et son équipe (2023)** a mis en évidence l'efficacité de *Pistacia atlantica* en termes d'inhibition de l'uréase, en se concentrant sur les extraits aqueux de fruits non mûrs où des valeurs d'IC50 variables en fonction des régions, allant de 48 ± 7.5 à 100 µg/mL. Ces valeurs sont comparativement meilleures que celles de l'extrait éthanolique des graines de *P.lentiscus* dans la présente étude (IC50 = 91.66 ± 5.59 µg/mL). Cependant, elles restent moins efficaces que l'extrait aqueux de *graines* étudié, qui a montré une IC50 d'environ 17 µg/mL.

Par ailleurs, les résultats de la présente étude s'alignent avec ceux de **Ghias Uddin et ses collaborateurs (2016)**, qui ont évalué le profil inhibiteur de l'uréase de l'extrait et des fractions de *Pistacia atlantica* ssp. Dans leur étude, l'extrait brut méthanolique a démontré une inhibition de l'uréase significative (95.40% à 0.2 mg/mL) avec une IC50 de 32.0 ± 0.28 µg/mL.

La fraction d'acétate d'éthyle s'est avérée encore plus efficace, présentant une inhibition de 100% avec une IC50 de $19.9 \pm 0.51 \mu\text{g/mL}$ à 0.2 mg/mL , tandis que les fractions d'hexane et de chloroforme n'ont montré qu'une inhibition insignifiante (Uddin et al., 2016). En comparaison, les extraits de *P.lentiscus* ont également montré une activité inhibitrice remarquable.

En outre, l'étude menée par Bai et al., (2014), l'activité inhibitrice des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) a été évaluée à une concentration de 1 mg/mL . Les résultats ont montré des pourcentages d'inhibition de 13.64 % pour l'extrait méthanolique et de 8.97 % pour l'extrait aqueux. En revanche, la présente étude démontre une activité inhibitrice significativement supérieure. À une concentration de $750 \mu\text{g/mL}$, nous avons observé un pourcentage d'inhibition maximal de 100 % pour l'extrait éthanolique et de 98.43 % pour l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus*. Ces données indiquent clairement que les extraits utilisés dans la présente recherche possèdent une efficacité inhibitrice nettement supérieure.

D'une autre part, les résultats obtenus par Monteiro et al., 2019 sur le potentiel inhibiteur de l'extrait méthanolique de *Eugenia uniflora* L. sur l'uréase ont montré des pourcentages d'inhibition peu significatifs. Même à la concentration la plus élevée testée ($1024 \mu\text{g/mL}$), l'inhibition n'a atteint que 20 %.

De même, dans l'étude menée par Meziant et ses collaborateurs en 2021, l'activité anti-uréase des extraits de pelures de différents cultivars de *Ficus carica* a été testée. Les extraits ont été préparés en utilisant du méthanol acidifié avec 5 % d'acide citrique. Tous les extraits ont montré des activités inhibitrices de l'uréase avec des valeurs d'IC50 comprises entre 927.19 et $1426.78 \mu\text{g/mL}$ (Meziant et al., 2021). Ces résultats indiquent une efficacité inhibitrice nettement inférieure comparée à celle observée dans la présente étude par *P.lentiscus*.

Cette différence notable dans l'efficacité inhibitrice des extraits de *P.lentiscus*, peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment les variations dans les méthodes d'extraction et le processus de délipidation. En plus, l'extraction aqueuse, réalisée de manière différente dans cette étude, semble avoir amélioré l'efficacité inhibitrice des composés présents dans les graines de *P.lentiscus*. Cela suggère que les techniques d'extraction jouent un rôle crucial dans la concentration et l'efficacité des composés bioactifs.

Les effets remarquables des différents extraits testés sont, d'une part, liés à une synergie de divers composés bioactifs, l'isolation et l'étude des molécules purifiées permettent de déterminer avec précision les mécanismes d'action et l'efficacité de chacune. En passant de l'analyse globale des extraits de plantes à l'examen des molécules purifiées, nous pouvons mieux comprendre les interactions complexes et optimiser leur utilisation thérapeutique. Pour approfondir notre compréhension des bienfaits des extraits de plantes, il est essentiel de se pencher sur les molécules spécifiques qui les composent. De ce fait, plusieurs études ont rapporté l'effet de plusieurs molécules pures, qui ont été caractérisées dans les différentes parties de *P.lentiscus*.

L'étude réalisée par **Nagao et al., 1999**, plusieurs composés ont démontré une activité inhibitrice significative sur la xanthine oxydase. Parmi ceux-ci, la quercétine s'est distinguée par sa forte activité inhibitrice avec une IC50 de 0.13 µg/mL, indiquant qu'une concentration relativement faible est nécessaire pour inhiber de manière significative l'activité de la XO. Cette observation est corroborée par les travaux de **Zhang et al., 2018 ; Mohos et al., 2019**, qui ont rapporté des IC50 de $2.74 \pm 0.04 \times 10^{-6}$ mol/l (0.83 µg/mL) et 1.4 µM (0.42 µg/mL), respectivement.

En revanche, les résultats de **Yuan et al., 2019** montrent des IC50 de 0,0001 µmol/ l (3.02×10^{-5} µg/mL) pour la quercétine, mettant en évidence des variations significatives entre les études.

Le kaempférol a également démontré une inhibition efficace avec une IC50 de 0.19 µg/mL (**Nagao et al., 1999**) bien que (**Yuan et al., 2019**) aient rapporté des IC50 de 0.005 µmol/l (1.43×10^{-3} µg/mL) pour ce composé, indiquant encore une fois des divergences notables.

De plus, la lutéoline démontre une bonne capacité inhibitrice avec une IC50 de 0.27 µg/mL (**Nagao et al., 1999**). Ces résultats sont comparables à ceux décrits par (**Balázs et al., 2023**) où la lutéoline et ses dérivés sulfates ont montré une IC50 de 0.04 µg/mL, indiquant un puissant effet inhibiteur sur la xanthine oxydase. Par ailleurs, le lutéoline glucuronide a exhibé une IC50 de 1.46 µg/mL, soulignant son efficacité en tant qu'inhibiteur de la XO. Ces observations mettent en considération la variabilité de l'efficacité inhibitrice de la lutéoline et de ses dérivés en fonction de leurs structures chimiques spécifiques. En revanche, la myricétine a présenté une IC50 de 0.40 µg/mL, avec des résultats confirmés par **Balázs et ses collaborateurs (2023)**, qui ont révélé des IC50 de 0.04 et 0.07 µg/mL pour la myricétine sulfate et la myricétine, respectivement.

En revanche, **Bhouri et ses collaborateurs** ont étudié l'effet de l'acide digallique (ADG), extrait des fruits de *P.lentiscus*, sur l'activité de la xanthine oxydase. Les résultats ont révélé que le ADG n'inhibait pas significativement l'activité de la XO (21% à 150 µg/mL). Ces résultats sont cohérents avec d'autres études suggérant que les dérivés galliques sont des inhibiteurs négligeables de la XO, qui pourraient être attribuées à plusieurs facteurs, notamment sa structure moléculaire, son interaction avec l'enzyme, et son mécanisme d'action (**Bhouri et al., 2010**).

En outre, les résultats décrits par **Al-Rooqi et son groupe (2023)** ont révélé des découvertes significatives concernant les flavonoïdes, tels que la quercétine, la myricétine, le catéchin, et d'autres, en ce qui concerne leur capacité à inhiber l'enzyme uréase. Cette étude a souligné que l'efficacité inhibitrice de ces composés dépend largement de leur structure moléculaire, notamment de l'emplacement et du type de groupes fonctionnels présents.

En effet, les travaux menés par **Dehkharghanian et son équipe (2010)**, ont rapporté que la différence de polarité entre les solvants est responsable de la variabilité du type, de la composition et des activités biologiques des composés phytochimiques. Par conséquent, l'affinité des molécules extraites par le solvant joue un rôle déterminant dans l'activité de ces composés. De plus, la diversité des composés phytochimiques présents dans *P. lentiscus*, tels que les flavonoïdes, notamment les flavonols (myricitrine, quercetrin...) et autres composés phénoliques, pourrait expliquer la performance supérieure observée (**Dehkharghanian et al., 2010**).

A cet égard, pour mieux comprendre les modèles d'interactions moléculaires potentiels entre l'enzyme XO et les extraits de *P.lentiscus*, nous avons réalisé le docking moléculaire pour élucider l'interaction entre les molécules bioactives contenues dans l'extraits des feuilles de *P.lentiscus* et la protéine XO.

Le choix a été fait suite aux résultats expérimentaux obtenus dans la présente étude où l'extrait des feuilles a exhibé l'activité la plus élevée, à savoir l'activité inhibitrice de la XO et de l'uréase. Le choix des biomolécules pour le docking moléculaire est basée sur la littérature, où il a été rapporté une richesse de cette partie de plante en 5 classes majoritaires, à savoir, les acides phénolique, notamment l'acide gallique, les flavonoïdes spécialement les flavonols et flavanols, dont l'isoquercétine (quercetin-3-glucosylé) et la catéchine, respectivement, les ellagitannins (acide ellagique), et enfin les dérivés galloyls (acide quinique-3-galloyl, également appelé theogallin) (**Rodriguez et al., 2013 ; Detti et al., 2020 ; Elez Garofulić et al., 2020 ; Boucheffa et al., 2022**).

Le docking moléculaire a été couramment utilisé pour améliorer la compréhension des interactions des complexes ligand-protéine. Dans l'étude actuelle, les calculs de interactions moléculaires ont été effectués par AutoDock 4. Le protocole du docking moléculaire a été validé avec un RMSD de 2.77 qui est en accord avec l'étude de **Ramírez & Caballero (2018)** où des valeurs inférieures à 3 sont considérées acceptables.

La xanthine oxydase (XO) possède deux sites distincts de liaison au substrat ; le site actif de la molybdène molybdoptérine (Mo-pt), où se déroule l'oxydation catalytique de la xanthine, réduisant le molybdène de Mo (VI) à Mo (IV), et le centre de flavine adénine dinucléotide (FAD), où l'oxygène du substrat est réduit avec des électrons transférés, générant ainsi du superoxyde (O_2^-) ou du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces trois domaines de la XO (2Fe-2S, FAD, Mo-pt) sont tous des sites actifs cruciaux dans la réaction catalytique (**Fitria et al., 2019 ; Ghallab et al., 2022**). Il est bien connu que différents types d'inhibiteurs peuvent se lier à ces sites, perturbant ainsi la liaison entre le substrat et XO, et réduisant l'activité catalytique de XO.

L'allopurinol, un analogue de la xanthine, agit comme un inhibiteur compétitif de la XO. Il est bien démontré, qu'il se lie à la cavité près du centre Mo-pt, occupant le site de liaison du substrat et empêchant ainsi le déroulement normal de la réaction catalytique (**Zhu et al., 2021**), en formant plusieurs interactions avec des acides aminés du site actif, notamment, une liaison hydrogène avec le résidu Glu802 et d'autres types de liaison entre les autres résidus du site actif à savoir, Ser876, Leu873, Phe914 et Ala1079.

Il est important de noter que, l'allopurinol après sa fixation au site actif de la xanthine oxydase, est ensuite hydroxylé par cette enzyme pour donner de l'oxipurinol, qui agit comme l'inhibiteur puissant et actif de la XO dans les milieux biologiques, qui à son tour se lie de manière covalente à l'ion molybdène réduit Mo(IV) de l'enzyme et inhibe la catalyse (**Ghallab et al., 2022**). Cela pourrait expliquer le score d'amarrage relativement faible de l'allopurinol dans les résultats, *in silico*. Dans la présente étude, le score d'amarrage de l'allopurinol est de -8.10 Kcal/mol, considéré meilleur à celui rapporté par **Boucheffa et ses collaborateurs, (2021)** qui ont obtenu un score de -6.819 Kcal/mol, ainsi qu'à et celui de **Zheng et son équipe, 2024**, qui ont trouvé un score de -7.291 Kcal/mol. Toutefois, il convient de noter que cette différence est liée au protocole d'amarrage utilisé (Glide fourni par Schrödinger), mais qui restent des résultats qui témoignent des interactions fortes de l'allopurinol avec la XO.

Par ailleurs, les résultats d'amarrage moléculaire ont révélé que le theogallin, la catéchine, isoquercitrine et l'acide gallique avaient les énergies de liaison les plus faibles, indiquant ainsi des affinités de liaison plus fortes avec des scores respectifs de -12.62, -12.13, -11.28 et -9.36 kcal/mol. Toutes ces molécules présentaient une énergie de liaison inférieure à celle du médicament approuvé, allopurinol (-8.10 kcal/mol), suggérant que l'extrait de *P.lentiscus* contient des inhibiteurs potentiels de la xanthine oxydase (XO).

De plus, les flavonoïdes sont généralement reconnus pour leur puissante activité inhibitrice de la XO, en raison de leurs caractéristiques structurales. L'hydroxylation, la méthylation et la glycosylation jouent un rôle essentiel dans cette inhibition (**Boucheffa et al., 2022**). L'isoquercétine s'est révélée être un puissant inhibiteur de la xanthine oxydase (XO). Elle adopte une orientation spécifique dans le site de liaison de l'enzyme, où ses groupements hydroxyles forment des liaisons hydrogène avec des résidus catalytiques clés, notamment Glu802. Ce mode d'interaction est supérieur à celui de l'allopurinol, bien qu'ils partagent le même acide aminé dans le site actif. Cela explique la capacité de l'isoquercétine, une biomolécule présente en concentration élevée dans les feuilles de *P.lentiscus*, à inhiber efficacement la XO.

Dans l'étude de **Mehmood et ses collaborateurs (2020)**, il a été démontré que la structure glycosylée de la quercétine, pourrait présenter une activité inhibitrice moindre par rapport à son aglycone correspondant (quercétine). Cette réduction de l'activité inhibitrice peut être due à l'augmentation de la taille du composé, ce qui renforce les interactions répulsives dans la poche active de la XO, constituant un obstacle à la formation du complexe flavonoïde-XO (**Mehmood et al., 2020**).

D'une autre part, la catéchine, un flavanol, présente un score d'amarrage plus faible que l'isoquercétine. Cependant, cette dernière se lie mieux à la XO, suite à la présence de trois liaisons covalentes, contrairement à la catéchine qui n'en présente aucune (**Lin et al., 2002**).

La molécule theogallin de sa part, présente l'énergie de liaison la plus élevée parmi tous les composés testés, y compris la molécule de référence. Ce résultat s'explique par sa position distinctive dans le site de liaison de la XO, liée à son cycle aromatique riche en groupements OH, qui sont en relation avec la formation de plusieurs types de liaison (liaisons hydrogène et covalentes). De même, l'interaction π -stacked avec Ser1080, contribue davantage à la stabilité du theogallin dans la poche de liaison, rapporté aussi dans l'étude de **Boucheffa et son équipe**.

Par ailleurs, l'acide gallique a exhibé une énergie de liaison de l'ordre -9.36 Kcal/mol, qui s'avère meilleurs avec les travaux de **Zheng et ses collaborateurs (2024)**, qui ont obtenu un score de -7.245 kcal/mol, en utilisant le protocole du docking Glide (**Zheng et al., 2024**), mais qui reste largement inférieur au résultat obtenu par **Shaik et son équipe (2021)**, qui ont obtenu un score extrêmement faible de -30.88 kcal/mol, avec le logiciel GOLD 3.0.1 (**Shaik et al., 2021**).

En revanche, l'acide ellagique présente la plus faible énergie de liaison parmi les composés testés, avec un score de -7.49 kcal/mol, bien que comparable à celui de l'allopurinol. Cette faible énergie de liaison s'explique par l'absence de liaisons covalentes, contrairement à l'allopurinol. En revanche, le theogallin, le plus puissant inhibiteur de la XO, se distingue par ses interactions hydrogène et sa richesse en groupements hydroxyle. De plus, les liaisons π -sigma, considérées comme des interactions covalentes indirectes, jouent un rôle crucial en tant que forces motrices principales dans la combinaison entre le ligand et la XO (**Zhao et al., 2020**).

Tous ces interactions, associées à des interactions hydrophobes avec des résidus d'acides aminés catalytiques cruciaux, stabilisent davantage les interactions protéine-ligand et inhibent séquentiellement l'activité catalytique de l'enzyme (**Baki Kekilli et al., 2021 ; Shen et al., 2021**).

De ce fait, les extraits de *P.lentiscus*, montrent une activité inhibitrice significative notamment contre la xanthine oxydase ainsi que l'uréase, surpassant plusieurs autres extraits étudiés dans la littérature, en comparaison aux extraits de la même espèce ou d'espèces de la même famille. Ces résultats suggèrent que *P.lentiscus* pourrait être une source prometteuse de composés naturels pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques dans la gestion des troubles liés à l'hyperuricémie et les ulcères causés par *H.pylori*. La richesse de cette plante en composés phénoliques actifs, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, pourrait expliquer son efficacité supérieure et justifie son utilisation potentielle dans des applications médicinales.

Conclusion

L'étude actuelle a été entreprise, en tenant compte de la nécessité de recherche de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase et de l'uréase. Pour ce faire, *Pistacia lentiscus*, une plante médicinale locale, a été sélectionnée sur la base de son utilisation traditionnelle dans le traitement de diverses maladies inflammatoires, notamment les inflammations intestinales et gastriques et l'arthrite goutteuse.

Nous avons entrepris deux volets, une étude expérimentale en testant l'effet des extraits de *P.lentiscus* sur l'inhibition de la XO et de l'uréase, ainsi le pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP a été évalué.

Par la suite, les relations protéine-ligand de quelques composés, rapportés en concentrations élevées dans l'extrait principal, notamment les feuilles de *P.lentiscus*, ayant exhibé les activités biologiques les plus prononcées, a été étudié au moyen d'expériences du docking moléculaire, afin d'explorer les mécanismes d'inhibition de la XO.

Les résultats ont révélé une activité antioxydante remarquable de l'extrait éthanoliques des feuilles de *P.lentiscus*, avec une concentration de 281.52 ± 21.99 mM Eq.Trx/mg d'extrait. Cependant, le reste des extraits ont exhibé des valeurs comprises entre 29.23 ± 5.15 et 60.16 ± 8.22 mM Eq.Trx/mg d'extrait, qui s'avèrent de même très puissants.

Par ailleurs, l'inhibition de la xanthine oxydase, a démontré des IC₅₀ de 5.37 ± 0.38 à 120.23 ± 4.85 µg/mL, où l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus* s'est distingué avec la plus faible valeur d'IC₅₀ (5.37 ± 0.38 µg/mL). En revanche, l'étude de l'activité anti-uréase, révèle la puissance de l'extrait brut des feuilles, par contre, avec une IC₅₀ de 12.69 ± 0.95 µg/mL. Toutefois le reste des extraits ont exhibé des IC₅₀ considérées remarquables et reflètent la puissance de l'effet anti-ulcère.

Ces résultats ont été prouvé par des études, *in silico* de bio-informatiques, qui ont déterminé le mécanisme d'inhibition et les interactions avec les acides aminés du site actif de la xanthine oxydase. En effet, l'amarrage moléculaire a été réalisé sur plusieurs molécules, à savoir l'acide gallique, l'acide ellagique, la catéchine, l'isoquercétine et le theogallin.

Les résultats de l'amarrage moléculaire ont révélé que le theogallin, la catéchine, l'isoquercétine et l'acide gallique avaient les énergies de liaison les plus faibles, inférieur à -8.10 kcal/mol, indiquant ainsi une affinité de liaison plus forte par rapport à l'allopurinol. Contrairement à l'acide ellagique qui a démontré l'énergie la plus faible.

Le mécanisme d'action de ces molécules repose principalement sur des interactions hydrogène avec les sites actifs de l'enzyme, notamment l'acide aminé GLU802. D'autres types d'interactions, telles que les liaisons covalentes, les interactions π -sigma et π -empilée, ont également été observées, renforçant ainsi l'interaction étudiée avec la xanthine oxydase.

Cette étude confirme le potentiel thérapeutique de *P.lentiscus*, en particulier ses extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, dans le traitement des maladies inflammatoires et des pathologies associées à l'activité de la xanthine oxydase et de l'uréase.

Les résultats obtenus ouvrent la voie à de nouvelles recherches pour approfondir la compréhension des mécanismes d'action et explorer davantage les applications cliniques de cette plante.

Cette étude ne reste que préliminaire et peut servir de référence de base pour d'autres recherches et plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- Caractérisation des molécules présentes dans les différentes parties de *P.lentiscus* et application du Docking moléculaire, afin d'élucider leurs mécanismes d'action à l'échelle moléculaire.
- Une étude plus approfondie de l'inhibition de l'enzyme uréase par les composés de *P.lentiscus*, *in silico* est nécessaire.
- Une analyse ADMET fournirait des informations précieuses sur le comportement des molécules de *P.lentiscus* dans l'organisme, y compris leur biodisponibilité, leur stabilité métabolique, leur distribution tissulaire et leur profil de toxicité.
- Une étude des effets synergiques entre différents composés présents dans les extraits de *P.lentiscus*, pour déterminer s'ils peuvent agir de manière concertée pour améliorer l'efficacité thérapeutique globale et passer aux études cliniques, afin de développer des formulations pharmaceutiques.

Références bibliographiques

- Abdel-Sater, K. (2011). *Herbal Treatment of Peptic Ulcer : Guilty or Innocent*. INTECH Open Access Publisher.
- Abdoul-latif, F., Ainane, A., Oumaskour, K., Boujaber, N., Mohamed, J., & Tarik, A. (2021). CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF CHAMAEMELUM NOBILE (L.) ALL. *Pharmacologyonline*, 2, 449-457.
- Abdulmir, A. S., & Heng, L. Y. (2010). *Risk and Health Effect of Boric Acid*.
- Ahmad, N. S., Farman, M., Najmi, M. H., Mian, K. B., & Hasan, A. (2008). Pharmacological basis for use of Pistacia integerrima leaves in hyperuricemia and gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(3), 478-482. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.02.031>
- Alexieva, I., Алексиева, Й., Михайлова, Д., Попова, А., Mihaylova, D., & Popova, A. (2013). ОЦЕНКА НА АНТИОКСИДАНТНИИ КАПАЦИТЕТ НА ВОДНИ ЕКСТРАКТИ ОТ СВЕЖИ ЛИСТА НА САМАРДАЛА (ALLIUM BULGARICUM L.). *SCIENTIFIC WORKS*.
- Al-Rooqi, M. M., Mughal, E. U., Raja, Q. A., Hussein, E. M., Naeem, N., Sadiq, A., Asghar, B. H., Moussa, Z., & Ahmed, S. A. (2023). Flavonoids and related privileged scaffolds as potential urease inhibitors : A review. *RSC Advances*, 13(5), 3210-3233. <https://doi.org/10.1039/D2RA08284E>
- Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2015). Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of Pistacia Lentiscus L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1), 77. <https://doi.org/10.4314/jfas.v6i1.7>
- Arimboor, R., Rangan, M., Aravind, S. G., & Arumughan, C. (2011). Tetrahydroamentoflavone (THA) from Semecarpus anacardium as a potent inhibitor of xanthine oxidase. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3), 1117-1120. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.027>
- Asiamah, I., Obiri, S. A., Tamekloe, W., Armah, F. A., & Borquaye, L. S. (2023). Applications of molecular docking in natural products-based drug discovery. *Scientific African*, 20, e01593. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01593>
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.077>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. a. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials : A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Backert, S., Tegtmeyer, N., & Fischer, W. (2015). Composition, Structure and Function of the *Helicobacter Pylori* cag Pathogenicity Island Encoded type IV Secretion System. *Future Microbiology*, 10(6), 955-965. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.32>
- Bai, S., Bharti, P., Seasotiya, L., Malik, A., & Dalal, S. (2015). In vitro screening and evaluation of some Indian medicinal plants for their potential to inhibit Jack bean and bacterial ureases causing urinary infections. *Pharmaceutical biology*, 53(3), 326-333.

- Baki Kekilli, E., Orhan, I. E., Senol Deniz, F. S., Eren, G., Emerce, E., Kahraman, A., & Aysal, I. A. (2021). *Erodium birandianum* Ilarslan & Yurdak. shows anti-gout effect through xanthine oxidase inhibition : Combination of in vitro and in silico techniques and profiling of main components by LC-Q-ToF-MS. *Phytochemistry Letters*, 43, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.03.010>
- Balázs, O., Dombi, Á., Zsidó, B. Z., Hetényi, C., Valentová, K., Vida, R. G., & Poór, M. (2023). Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed xanthine and 6-mercaptopurine oxidation by luteolin, naringenin, myricetin, ampelopsin and their conjugated metabolites. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115548. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115548>
- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibjibjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.» : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86(1), 7966. <https://doi.org/10.4314/jab.v86i1.4>
- Bardin, T., & Richette, P. (2011). Épidémiologie et génétique de la goutte. *La Presse Médicale*, 40(9), 830-835. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2011.04.012>
- Beldi, M., Merzougui, H., & Lazli, A. (2021). Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. dans la wilaya d'El Tarf (Nord-est algérien) —Ethnobotanical study of *Pistacia lentiscus* L. in El Tarf region (Northeastern Algeria). *Ethnobotany Research and Applications*, 21. <https://doi.org/10.32859/era.21.09.1-18>
- Ben Khedir, S., Mzid, M., Bardaa, S., Moalla, D., Sahnoun, Z., & Rebai, T. (2016). In Vivo Evaluation of the Anti-Inflammatory Effect of *Pistacia lentiscus* Fruit Oil and Its Effects on Oxidative Stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2016/6108203>
- Benhammou, N., & Bekkara, F. A. (2009). *Activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie).
- Benmohamed, M., Guenane, H., Messaoudi, M., Zahnit, W., Egbuna, C., Sharifi-Rad, M., Chouh, A., Seghir, B. B., Rebiai, A., Boubekour, S., Azli, T., Harrat, M., Sawicka, B., Atanassova, M., & Yousfi, M. (2023). Mineral Profile, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antibacterial, Anti-Urease and Anti- α -Amylase Activities of the Unripe Fruit Extracts of *Pistacia atlantica*. *Molecules*, 28(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/molecules28010349>
- Bensaada, R., Bouani, B., Soussi, Y., & Yousfi, M. A. (2019). Ulcère à *Helicobacter pylori* : Efficacité du traitement et facteurs qui influencent la guérison. *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien*, 54(4), 342-347. <https://doi.org/10.1016/j.phclin.2019.07.007>
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D., & Benboubetra, M. (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(4), 896-904. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0164>
- Bhat, S. V., Nagasampagi, B. A., & Sivakumar, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*. Springer Science & Business Media.

- Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., Sghaier, M. B., Kilani, S., Mariotte, A. M., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24(2), 509-515. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.06.024>
- Bisch, M., Weitten, T., Dietsch, P., Alt, M., & Andrès, E. (2016). Thrombopénies aux inhibiteurs de la pompe à protons. *Mise au point*, 15.
- Blama, A., Fedjer, Z., Mahdeb, A., & Mazari, A. (2024). Ethnobotanical Study on the Traditional Use of *Pistacia lentiscus* L. Among the Local Population of Northern Central-East Region of Algeria. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 12(2), 252-258. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v12i2.252-258.5896>
- Bouarioua, N., Merrouche, M., Pospai, D., & Mignon, M. (2007). Physiopathologie de la maladie ulcéreuse gastroduodénale à l'ère d'«*Helicobacter pylori*». *EMC - Gastro-entérologie*, 2(4), 1-12. [https://doi.org/10.1016/S1155-1968\(07\)46465-3](https://doi.org/10.1016/S1155-1968(07)46465-3)
- Boucheffa, S., Sobhi, W., Attoui, A., Selli, S., Kelebek, H., Semmeq, A., & Benguerba, Y. (2022). Effect of the main constituents of *Pistacia lentiscus* leaves against the DPPH radical and xanthine oxidase : Experimental and theoretical study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(20), 9870-9884. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1936182>
- Bouriche, H., Saidi, A., Ferradji, A., Belambri, S., & Senator, A. (2016). Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of *Pistacia lentiscus* extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 140-146. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60721>
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M. H., Shams-Ardekani, M. R., & Rahimi, R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 219815. <https://doi.org/10.1155/2013/219815>
- Brandt, S., Kwok, T., Hartig, R., König, W., & Backert, S. (2005). NF- κ B activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26), 9300-9305. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409873102>
- Breitenbach, J. M., & Hausinger, R. P. (1988). *Proteus mirabilis* urease. Partial purification and inhibition by boric acid and boronic acids. *Biochemical Journal*, 250(3), 917-920. <https://doi.org/10.1042/bj2500917>
- Breurec, S. (2011). *Helicobacter pylori* : Migrations humaines et cancer gastrique.
- Brown, B. A., Wallace, R. J., & Onyi, G. O. (1992). Activities of clarithromycin against eight slowly growing species of nontuberculous mycobacteria, determined by using a broth microdilution MIC system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(9), 1987-1990.
- Candan, F. (2003). EFFECT OF RHUS CORIARIA L. (ANACARDIACEAE) ON SUPEROXIDE RADICAL SCAVENGING AND XANTHINE OXIDASE ACTIVITY. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 18(1), 59-62. <https://doi.org/10.1080/1475636031000069273>

- Cao, H., Pauff, J., & Hille, R. (2011). Substrate orientation and the origin of catalytic power in xanthine oxidoreductase. *INDIAN J CHEM.*
- Castola, V., Bighelli, A., & Casanova, J. (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology.*
- Chen, C., Lü, J.-M., & Yao, Q. (2016). Hyperuricemia-Related Diseases and Xanthine Oxidoreductase (XOR) Inhibitors: An Overview. *Medical Science Monitor*, 22, 2501-2512. <https://doi.org/10.12659/MSM.899852>
- Chhana, A., Lee, G., & Dalbeth, N. (2015). Factors influencing the crystallization of monosodium urate: A systematic literature review. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 16(1), 296. <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0762-4>
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLIN. MICROBIOL. REV.*, 12.
- Cristine E. Berry, Joshua M. Hare. (2004). *Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: Molecular mechanisms and pathophysiological implications.* <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.055913>
- Cryer, B., Barnett, M. A., Wagner, J., & Wilcox, C. M. (2016). Overuse and Misperceptions of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in the United States. *The American Journal of the Medical Sciences*, 352(5), 472-480. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2016.08.028>
- Dalbeth, N., Choi, H. K., Joosten, L. A. B., Khanna, P. P., Matsuo, H., Perez-Ruiz, F., & Stamp, L. K. (2019). Gout. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 69. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0115-y>
- Dalbeth, N., Lauterio, T. J., & Wolfe, H. R. (2014). Mechanism of action of colchicine in the treatment of gout. *Clinical Therapeutics*, 36(10), 1465-1479. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2014.07.017>
- Dalbeth, N., Merriman, T. R., & Stamp, L. K. (2016). Gout. *The Lancet*, 388(10055), 2039-2052. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00346-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00346-9)
- Dalbeth, N., & Stamp, L. (2007). Allopurinol dosing in renal impairment: Walking the tightrope between adequate urate lowering and adverse events. *Seminars in Dialysis*, 20(5), 391-395. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2007.00270.x>
- Dehkharghanian, M., Adenier, H., & Vijayalakshmi, M. A. (2010). Study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionisation tandem quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, 121(3), 863-870. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.007>
- Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A., & Chouchane, N. (2013). Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial Crops and Products*, 49, 879-882. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.010>
- Deti, C., Dos Santos Nascimento, L. B., Brunetti, C., Ferrini, F., & Gori, A. (2020). Optimization of a Green Ultrasound-Assisted Extraction of Different Polyphenols from *Pistacia lentiscus* L. Leaves Using a Response Surface Methodology. *Plants*, 9(11), 1482. <https://doi.org/10.3390/plants9111482>

- Dnyandev, K. M., Babasaheb, G. V., Chandrashekhar, K. V., Chandrakant, M. A., & Vasant, O. K. (2021). A Review on Molecular Docking. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 60-68. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2021/v22i330396>
- Drioiche, A., Ailli, A., Remok, F., Saidi, S., Gourich, A. A., Asbabou, A., Kamaly, O. A., Saleh, A., Bouhrim, M., Tarik, R., Kchibale, A., & Zair, T. (2023). Analysis of the Chemical Composition and Evaluation of the Antioxidant, Antimicrobial, Anticoagulant, and Antidiabetic Properties of Pistacia lentiscus from Boulemane as a Natural Nutraceutical Preservative. *Biomedicines*, 11(9), 2372. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092372>
- Duru, M. E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., & Hirata, T. (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species. *Fitoterapia*, 74(1-2), 170-176. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00318-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00318-0)
- Elez Garofulić, I., Kruk, V., Martić, A., Martić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Dragović, S., & Dragović-Uzelac, V. (2020). Evaluation of Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Pistacia lentiscus L. Leaves and Fruit Extract Obtained by Optimized Microwave-Assisted Extraction. *Foods*, 9(11), 1556. <https://doi.org/10.3390/foods9111556>
- Elloumi, W., Mahmoudi, A., Ortiz, S., Boutefnouchet, S., Chamkha, M., & Sayadi, S. (2022). Wound healing potential of quercetin-3-O-rhamnoside and myricetin-3-O-rhamnoside isolated from Pistacia lentiscus distilled leaves in rats model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112574. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112574>
- Ennabili, A., Gharnit, N., Maach, Y., El Meskaoui, A., & Bousta, D. (2006). Exploitation des plantes médicinales et alimentaires du bassin versant de l'oued Laou (nord-ouest du Maroc). *Le Journal de Botanique*, 36(1), 71-79. <https://doi.org/10.3406/jobot.2006.951>
- Favier, A. (2003). *Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*.
- Ferrero, J. L., Bopp, B. A., Marsh, K. C., Quigley, S. C., Johnson, M. J., Anderson, D. J., Lamm, J. E., Tolman, K. G., Sanders, S. W., & Cavanaugh, J. H. (1990). Metabolism and disposition of clarithromycin in man. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 18(4), 441-446.
- Fiddis, R. W., Vlachos, N., & Calvert, P. D. (1983). Studies of urate crystallisation in relation to gout. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 42(Supplement 1), 12-15. https://doi.org/10.1136/ard.42.Suppl_1.12
- Fitria, L., Hermawan Widyananda, M., Department of Biology, Faculty of Mathematical and Natural Sciences, Universitas Brawijaya Jalan Veteran Malang East Java Indonesia 65145, Paramitha Sakti, S., & Department of Biology, Faculty of Mathematical and Natural Sciences, Universitas Brawijaya Jalan Veteran Malang East Java Indonesia 65145. (2019). Analysis of Allopurinol, Cucurbitacin B, Morindine, and Piperine as Xanthine Oxidase Inhibitor by Molecular Docking. *JSMARTech*, 1(1), 6-11. <https://doi.org/10.21776/ub.jsmartech.2019.001.01.2>

- Galozzi, P., Bindoli, S., Doria, A., Oliviero, F., & Sfriso, P. (2021). Autoinflammatory Features in Gouty Arthritis. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(9), 1880. <https://doi.org/10.3390/jcm10091880>
- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L. : Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, *107*(3), 1120-1130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.036>
- Ghallab. S, D., Shawky, E., M. Metwally, A., Celik, I., S. Ibrahim, R., & M. Mohyeldin, M. (2022). Integrated in silico – in vitro strategy for the discovery of potential xanthine oxidase inhibitors from Egyptian propolis and their synergistic effect with allopurinol and febuxostat. *RSC Advances*, *12*(5), 2843-2872. <https://doi.org/10.1039/D1RA08011C>
- Grundwag, M. (1976). Embryology and fruit development in four species of *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *73*(4), 355-370. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1976.tb01814.x>
- Guilbert, J.-N. (Dr) A. du texte. (1820). *De la Goutte et des maladies gouteuses , par J.-N. Guilbert,... Et Recherches pratiques sur le rhumatisme, traduit de l'anglais de James Johnson,...*
- Gupta, M., Kapoor, B., Gupta, R., & Singh, N. (2021). Plants and phytochemicals for treatment of peptic ulcer: An overview. *South African Journal of Botany*, *138*, 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.11.030>
- Ha, A. C., Nguyen, Ch. D. P., & Le, T. M. (2022). Screening medicinal plant extracts for xanthine oxidase inhibitory activity. *Fine Chemical Technologies*, *17*(2), 131-139. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-2-131-139>
- Hak, A. E., Curhan, G. C., Grodstein, F., & Choi, H. K. (2010). Menopause, postmenopausal hormone use and risk of incident gout. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *69*(7), 1305-1309. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.109884>
- Hang-Korng, E. (2011). Physiopathologie de l'inflammation gouteuse. *La Presse Médicale*, *40*(9), 836-843. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2011.03.016>
- Harrison, R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase : Where are we now? *Free Radical Biology and Medicine*, *33*(6), 774-797. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00956-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00956-5)
- Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C., & Saidi, F. (2018). Antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* methanolic extracts. *Revue agrobiologia*, *8*(1), 845-852.
- Huang, C.-Y., Chang, Y.-Y., Chang, S.-T., & Chang, H.-T. (2022). Xanthine Oxidase Inhibitory Activity and Chemical Composition of *Pistacia chinensis* Leaf Essential Oil. *Pharmaceutics*, *14*(10), 1982. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14101982>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Hyndman, D., Liu, S., & Miner, J. N. (2016). Urate Handling in the Human Body. *Current Rheumatology Reports*, *18*(6), 34. <https://doi.org/10.1007/s11926-016-0587-7>

- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *119*, 579-591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Jiao, X., Jin, X., Ma, Y., Yang, Y., Li, J., Liang, L., Liu, R., & Li, Z. (2021). A comprehensive application: Molecular docking and network pharmacology for the prediction of bioactive constituents and elucidation of mechanisms of action in component-based Chinese medicine. *Computational Biology and Chemistry*, *90*, 107402. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107402>
- Kannuthurai, V., & Gaffo, A. (2023). Management of Patients with Gout and Kidney Disease: A Review of Available Therapies and Common Missteps. *Kidney360*, *4*(9), e1332-e1340. <https://doi.org/10.34067/KID.0000000000000221>
- Kapetanovic, M. C., Nilsson, P., Turesson, C., Englund, M., Dalbeth, N., & Jacobsson, L. (2018). The risk of clinically diagnosed gout by serum urate levels: Results from 30 years follow-up of the Malmö Preventive Project cohort in southern Sweden. *Arthritis Research & Therapy*, *20*(1), 190. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1697-6>
- Kornig Ea, H. (2011). De l'hyperuricémie à la goutte: Physiopathologie. *Revue du Rhumatisme*, *78*, S103-S108. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(11\)70021-7](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(11)70021-7)
- Kumar, N., Kaur, K., Kaur, N., Singh, E., & Bedi, P. M. S. (2024). Pathology, target discovery, and the evolution of XO inhibitors from the first discovery to recent advances (2020–2023). *Bioorganic Chemistry*, *143*, 107042. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.107042>
- Kuntz, D., & Lioté, F. (2003). Gota. *EMC - Aparato Locomotor*, *36*(2), 1-25. [https://doi.org/10.1016/S1286-935X\(03\)72272-2](https://doi.org/10.1016/S1286-935X(03)72272-2)
- Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, *161*(2), 269-288. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90153-x](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90153-x)
- Kuo, C.-F., Grainge, M. J., Zhang, W., & Doherty, M. (2015). Global epidemiology of gout: Prevalence, incidence and risk factors. *Nature Reviews Rheumatology*, *11*(11), 649-662. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.91>
- Laucirica, I., Garcia Iglesias, P., & Calvet, X. (2023). Peptic ulcer. *Medicina Clínica (English Edition)*, *161*(6), 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.medcle.2023.05.015>
- LEWIN, M. J.-M. (1995). Les inhibiteurs de la pompe à protons gastrique: Mode d'action et intérêt thérapeutique. *Les inhibiteurs de la pompe à protons gastrique: mode d'action et intérêt thérapeutique*, *11*(1), 62-71.
- Lin, C.-M., Chen, C.-S., Chen, C.-T., Liang, Y.-C., & Lin, J.-K. (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *294*(1), 167-172. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00442-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00442-4)
- Lioté, F. (2011). Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du Rhumatisme*, *78*, S122-S128. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(11\)70024-2](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(11)70024-2)

- Lioté, F., & Bardin, T. (2007). Traitement de la goutte. *Revue du Rhumatisme*, 74(2), 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.005>
- Lioté, F., & Ea, H.-K. (2007). Physiopathogénie de l'inflammation microcristalline. *Revue du Rhumatisme*, 74(2), 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.006>
- Lipkowitz, M. S. (2012). Regulation of Uric Acid Excretion by the Kidney. *Current Rheumatology Reports*, 14(2), 179-188. <https://doi.org/10.1007/s11926-012-0240-z>
- Liu, N., Xu, H., Sun, Q., Yu, X., Chen, W., Wei, H., Jiang, J., Xu, Y., & Lu, W. (2021). The Role of Oxidative Stress in Hyperuricemia and Xanthine Oxidoreductase (XOR) Inhibitors. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2021/1470380>
- Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H., & Bomzon, A. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of Pistacia lentiscus in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 198-204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.006>
- Longo, L., Scardino, A., & Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of Pistacia lentiscus L., Phillyrea latifolia L. and Rubia peregrina L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3), 360-364. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.010>
- Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A.-L., Chinou, I. B., & Mitaku, S. (1999). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Pistacia lentiscus var. Chia. *Planta Medica*, 65(08), 749-752. <https://doi.org/10.1055/s-2006-960856>
- Majumdar, D., & Looi, S. (2024). Helicobacter pylori infection and peptic ulcers. *Medicine*, 52(3), 152-160. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2023.12.006>
- Malfertheiner, P., Chan, F. K., & McColl, K. E. (2009). *Peptic ulcer disease*. 374.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A., Atherton, J., Axon, A. T. R., Bazzoli, F., Gensini, G. F., Gisbert, J. P., Graham, D. Y., Rokkas, T., El-Omar, E. M., Kuipers, E. J., & The European Helicobacter Study Group (EHSg). (2012). Management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*, 61(5), 646-664. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302084>
- Mandal, S. C., Chakraborty, R., & Sen, S. (Éds.). (2021). *Evidence Based Validation of Traditional Medicines : A comprehensive Approach*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-8127-4>
- Marx, J. L. (1987). Oxygen Free Radicals Linked to Many Diseases. *Science*, 235(4788), 529-531.
- Mccarty, D. J. (1961). IDENTIFICATION OF URATE CRYSTALS IN GOUTY SYNOVIAL FLUID**. 54(3).
- Megraud, F. (1994). Méthodes diagnostiques directes et indirectes de Helicobacter pylori. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 18(3), 217-222. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3988073>
- Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 653-669. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.002>

- Mehmood, A., Rehman, A. U., Ishaq, M., Zhao, L., Li, J., Usman, M., Zhao, L., Rehman, A., Zad, O. D., & Wang, C. (2020). In vitro and in silico Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Selected Phytochemicals Widely Present in Various Edible Plants. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 23(9), 917-930. <https://doi.org/10.2174/1386207323666200428075224>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking : A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), 146-157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Meziant, L., Bachir-bey, M., Bensouici, C., Saci, F., Boutiche, M., & Louaileche, H. (2021). Assessment of inhibitory properties of flavonoid-rich fig (*Ficus carica* L.) peel extracts against tyrosinase, α -glucosidase, urease and cholinesterases enzymes, and relationship with antioxidant activity. *European Journal of Integrative Medicine*, 43, 101272. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101272>
- Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P. (1995). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*, 59(3), 451-480. <https://doi.org/10.1128/mr.59.3.451-480.1995>
- Mohos, V., Pánovics, A., Fliszár-Nyúl, E., Schilli, G., Hetényi, C., Mladěnka, P., Needs, P. W., Kroon, P. A., Pethő, G., & Poór, M. (2019). Inhibitory Effects of Quercetin and Its Human and Microbial Metabolites on Xanthine Oxidase Enzyme. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2681. <https://doi.org/10.3390/ijms20112681>
- Monika, G., Punam, G., & Sarbjot, S. (2010). *AN OVERVIEW ON MOLECULAR DOCKING*.
- Montecucco, C., & De Bernard, M. (2003). Molecular and cellular mechanisms of action of the vacuolating cytotoxin (VacA) and neutrophil-activating protein (HP-NAP) virulence factors of *Helicobacter pylori*. *Microbes and Infection*, 5(8), 715-721. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00124-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00124-2)
- Monteiro, J. R. B., Ardisson, J. S., Athaydes, B. R., Gonçalves, R. de C. R., Rodrigues, R. P., Kuster, R. M., & Kitagawa, R. R. (2019). Anti-*Helicobacter pylori* and Anti-inflammatory Properties of *Eugenia uniflora* L. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62, e19180285. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180285>
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4 : Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M., & Yousefi, B. (2012). Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 72. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-72>
- Nagao, A., Seki, M., & Kobayashi, H. (1999). Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63(10), 1787-1790. <https://doi.org/10.1271/bbb.63.1787>
- Neogi, T., Jansen, T. L. T. A., Dalbeth, N., Fransen, J., Schumacher, H. R., Berendsen, D., Brown, M., Choi, H., Edwards, N. L., Janssens, H. J. E. M., Lioté, F., Naden, R. P., Nuki, G., Ogdie, A., Perez-Ruiz, F., Saag, K., Singh, J. A., Sundy, J. S., Tausche, A.-K., ... Taylor, W. J. (2015). 2015 Gout classification criteria : An American College of Rheumatology/European League Against

- Rheumatism collaborative initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 74(10), 1789-1798. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-208237>
- Nuki, G., & Simkin, P. A. (2006). [No title found]. *Arthritis Research & Therapy*, 8(Suppl 1), S1. <https://doi.org/10.1186/ar1906>
- O'Connor, A., Gisbert, J. P., McNamara, D., & O'Morain, C. (2010). Treatment of Helicobacter pylori Infection 2010. *Helicobacter*, 15(s1), 46-52. <https://doi.org/10.1111/j.1523-5378.2010.00774.x>
- Okamoto, K., Kusano, T., & Nishino, T. (2013). Chemical Nature and Reaction Mechanisms of the Molybdenum Cofactor of Xanthine Oxidoreductase. *Current Pharmaceutical Design*, 19(14), 2606-2614. <https://doi.org/10.2174/1381612811319140010>
- Owen, P. L., & Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(2), 149-160. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00119-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00119-6)
- Pacher, P., Nivorozhkin, A., & Szabó, C. (2006). Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors : Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews*, 58(1), 87-114. <https://doi.org/10.1124/pr.58.1.6>
- Papastergiou, V., Georgopoulos, S. D., & Karatapanis, S. (2014). Treatment of Helicobacter pylori infection : Past, present and future. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 5(4), 392-399. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v5.i4.392>
- Paraschos, S., Mitakou, S., & Skaltsounis, A.-L. (2012). Chios Gum Mastic : A Review of its Biological Activities. *Current Medicinal Chemistry*, 19(14), 2292-2302. <https://doi.org/10.2174/092986712800229014>
- Pascart, T., & Flipo, R.-M. (2011). La goutte : Présentations cliniques et diagnostic. *Revue du Rhumatisme*, 78, S116-S121. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(11\)70023-0](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(11)70023-0)
- Patil, T., Soni, A., & Acharya, S. (2021). A brief review on in vivo models for Gouty Arthritis. *Metabolism Open*, 11, 100100. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100100>
- Perez-Ruiz, F., Calabozo, M., Erauskin, G. G., Ruibal, A., & Herrero-Beites, A. M. (2002). Renal underexcretion of uric acid is present in patients with apparent high urinary uric acid output. *Arthritis Care & Research*, 47(6), 610-613. <https://doi.org/10.1002/art.10792>
- Pillinger, M. H., & Mandell, B. F. (2020). Therapeutic approaches in the treatment of gout. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 50(3), S24-S30. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.04.010>
- Punzi, L., Galozzi, P., Luisetto, R., Scanu, A., Ramonda, R., & Oliviero, F. (2024). Gout : One year in review 2023. *Clinical and Experimental Rheumatology*. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/uhyzcr>
- Punzi, L., & Oliviero, F. (2007). Diagnostic pratique des arthropathies microcristallines. *Revue Du Rhumatisme - REV RHUM*, 74, 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.11.006>
- Ramírez, D., & Caballero, J. (2018). Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules*, 23(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/molecules23051038>

- Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.-L., Azib, L., Richard, T., & Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274-286. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.03.009>
- Ribeiro, P. M. G., Fernandes, H. S., Maia, L. B., Sousa, S. F., Moura, J. J. G., & Cerqueira, N. M. F. S. A. (2021). The complete catalytic mechanism of xanthine oxidase : A computational study. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 8(2), 405-416. <https://doi.org/10.1039/D0QI01029D>
- Robinson, P. C., Taylor, W. J., & Merriman, T. R. (2012). Systematic review of the prevalence of gout and hyperuricaemia in Australia. *Internal Medicine Journal*, 42(9), 997-1007. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2012.02794.x>
- Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutierrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.01.026>
- Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., & Tattini, M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 79-86. <https://doi.org/10.1002/pca.627>
- Saag, K. G., & Choi, H. (2006). Epidemiology, risk factors, and lifestyle modifications for gout. *Arthritis Research & Therapy*, 8 Suppl 1(Suppl 1), S2. <https://doi.org/10.1186/ar1907>
- Sahu, M. K., Nayak, A. K., Hailemeskel, B., & Eyupoglu, O. E. (2024). Exploring Recent Updates on Molecular Docking : Types, Method, Application, Limitation & Future Prospects. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 13(2), 24-40. <https://doi.org/10.51847/Une9jqjUCI>
- Scharf, M. M., Bünemann, M., Baker, J. G., & Kolb, P. (2019). Comparative Docking to Distinct G Protein–Coupled Receptor Conformations Exclusively Yields Ligands with Agonist Efficacy. *Molecular Pharmacology*, 96(6), 851-861. <https://doi.org/10.1124/mol.119.117515>
- Schlienger, J.-L. (2014). L’histoire des tourments de la podagre (goutte). *Médecine des Maladies Métaboliques*, 8(2), 230-234. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(14\)70747-3](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(14)70747-3)
- Scuiller, A., Pascart, T., Bernard, A., & Oehler, E. (2020). La maladie goutteuse. *La Revue de Médecine Interne*, 41(6), 396-403. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.02.014>
- Sehaki, C., Jullian, N., Ayati, F., Fernane, F., & Gontier, E. (2023). A Review of *Pistacia lentiscus* Polyphenols : Chemical Diversity and Pharmacological Activities. *Plants*, 12(2), 279. <https://doi.org/10.3390/plants12020279>
- Selim, S., Almuhayawi, M. S., Alharbi, M. T., Al Jaouni, S. K., Alharthi, A., Abdel-Wahab, B. A., Ibrahim, M. A. R., Alsuhaibani, A. M., Warrad, M., & Rashed, K. (2022). Insights into the Antimicrobial, Antioxidant, Anti-SARS-CoV-2 and Cytotoxic Activities of *Pistacia lentiscus* Bark and Phytochemical Profile; In Silico and In Vitro Study. *Antioxidants*, 11(5), 930. <https://doi.org/10.3390/antiox11050930>

- Shahzad, N., Ibrahim, I. A. A., Alzahrani, A. R., Al-Ghamdi, S. S., Alanazi, I. M. M., Ahmad, Md. P., Singh, A. K., Alruqi, M. A., Shahid, I., Equbal, A., & Azlina, M. F. N. (2024). A comprehensive review on phytochemicals as potential therapeutic agents for stress-induced gastric ulcer. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00140-2>
- Shaik, A. H., Shaik, S. R., Shaik, A. S., Daoud, A., Salim, M., & Kodidhela, L. D. (2021). Analysis of maslinic acid and gallic acid compounds as xanthine oxidase inhibitors in isoprenaline administered myocardial necrotic rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2575-2580. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.062>
- Shen, B., Shangguan, X., Yin, Z., Wu, S., Zhang, Q., Peng, W., Li, J., Zhang, L., & Chen, J. (2021). Inhibitory Effect of Fisetin on α -Glucosidase Activity: Kinetic and Molecular Docking Studies. *Molecules*, 26(17), 5306. <https://doi.org/10.3390/molecules26175306>
- Siano, F., Cutignano, A., Moccia, S., Russo, G. L., Volpe, M. G., & Picariello, G. (2020). Phytochemical Characterization and Effects on Cell Proliferation of Lentisk (*Pistacia lentiscus*) Berry Oil: A Revalued Source of Phenolics. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(4), 487-494. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00835-x>
- Silberberg, Y., Kupiec, M., & Sharan, R. (2014). A Method for Predicting Protein-Protein Interaction Types. *PLOS ONE*, 9(3), e90904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090904>
- Singh, B. K., Trivedi, N., Das, R. R., Arora, R., Verma, A. K., & Verma, A. (2021). *RHEUMATOID ARTHRITIS AND GOUT: MEDICINAL PLANTS AS A DRUG ALTERNATIVE*.
- SOBHANI, I., FLOURIE, B., LAVERGNE, A., COLIMON, R., MIGNON, M., MODIGLIANI, R., & RAMBAUD, J.-C. (1991). Helicobacter pylori et pathologie gastroduodénale. I, Physiopathologie et méthodes de diagnostic. *Helicobacter pylori et pathologie gastroduodénale. I, Physiopathologie et méthodes de diagnostic*, 15(5), 405-411.
- Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., Che, Z., & Chen, X. (2020). Recent developments in molecular docking technology applied in food science: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 33-45. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14325>
- Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukhchina, S., & Mayer, P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131(2), 434-440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.083>
- Uddin, G., Ismail, Rauf, A., Raza, M., Khan, H., Nasruddin, Khan, M., Farooq, U., Khan, A., & Arifullah. (2016). Urease inhibitory profile of extracts and chemical constituents of *Pistacia atlantica* ssp. *Cabulica* Stocks. *Natural Product Research*, 30(12), 1411-1416. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1062378>
- Vaya, J., & Mahmood, S. (2006). Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *BioFactors (Oxford, England)*, 28, 169-175. <https://doi.org/10.1002/biof.5520280303>

- Vercruyssen, L., Smaghe, G., Beckers, T., & Camp, J. V. (2009). Antioxidative and ACE inhibitory activities in enzymatic hydrolysates of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Food Chemistry*, *114*(1), 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.011>
- Wallace, K. L., Riedel, A. A., Joseph-Ridge, N., & Wortmann, R. (2004). Increasing prevalence of gout and hyperuricemia over 10 years among older adults in a managed care population. *The Journal of Rheumatology*, *31*(8), 1582-1587.
- Wang, J., Sun, S., Zhao, K., Shi, H., Fan, J., Wang, H., Liu, Y., Liu, X., & Wang, W. (2021). Insights into the inhibitory mechanism of purpurogallin on xanthine oxidase by multiple spectroscopic techniques and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, *1228*, 129772. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129772>
- Yang, W., Feng, Q., Peng, Z., & Wang, G. (2022). An overview on the synthetic urease inhibitors with structure-activity relationship and molecular docking. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *234*, 114273. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114273>
- Yuan, M., Liu, Y., Xiao, A., Leng, J., Liao, L., Ma, L., & Liu, L. (2019). The interaction of dietary flavonoids with xanthine oxidase *in vitro* : Molecular property-binding affinity relationship aspects. *RSC Advances*, *9*(19), 10781-10788. <https://doi.org/10.1039/C8RA09926J>
- Zambelli, B., Musiani, F., Benini, S., & Ciurli, S. (2011). Chemistry of Ni²⁺ in Urease : Sensing, Trafficking, and Catalysis. *Accounts of Chemical Research*, *44*(7), 520-530. <https://doi.org/10.1021/ar200041k>
- Zerey-Belaskri, A. E. (2019). Taxonomic and botanical retrospective review of *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae). *Aromatic Plants*.
- Zhang, C., Wang, R., Zhang, G., & Gong, D. (2018). Mechanistic insights into the inhibition of quercetin on xanthine oxidase. *International Journal of Biological Macromolecules*, *112*, 405-412. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.190>
- Zhao, J., Huang, L., Sun, C., Zhao, D., & Tang, H. (2020). Studies on the structure-activity relationship and interaction mechanism of flavonoids and xanthine oxidase through enzyme kinetics, spectroscopy methods and molecular simulations. *Food Chemistry*, *323*, 126807. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126807>
- Zheng, F., Mai, S., Cen, X., Zhao, P., Ye, W., Ke, J., Lin, S., Hu, H., Guo, Z., Zhang, S., Liao, H., Wu, T., Tian, Y., Zhang, Q., Pang, J., & Zhao, Z. (2024). Discovery of digallic acid as XOD/URAT1 dual target inhibitor for the treatment of hyperuricemia. *Bioorganic Chemistry*, *147*, 107381. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107381>
- Zhu, M., Pan, J., Hu, X., & Zhang, G. (2021). Epicatechin Gallate as Xanthine Oxidase Inhibitor : Inhibitory Kinetics, Binding Characteristics, Synergistic Inhibition, and Action Mechanism. *Foods*, *10*(9), 2191. <https://doi.org/10.3390/foods10092191>
- Zitouni, A., Chekroun-Bechlaghem, N., Ghembaza, N., & Belyagoubi-Benhammou, N. (2022). *Lentisk fruits (Pistacia lentiscus L.) as sources of phytochemicals with potential health benefits : A review*.

Annexes

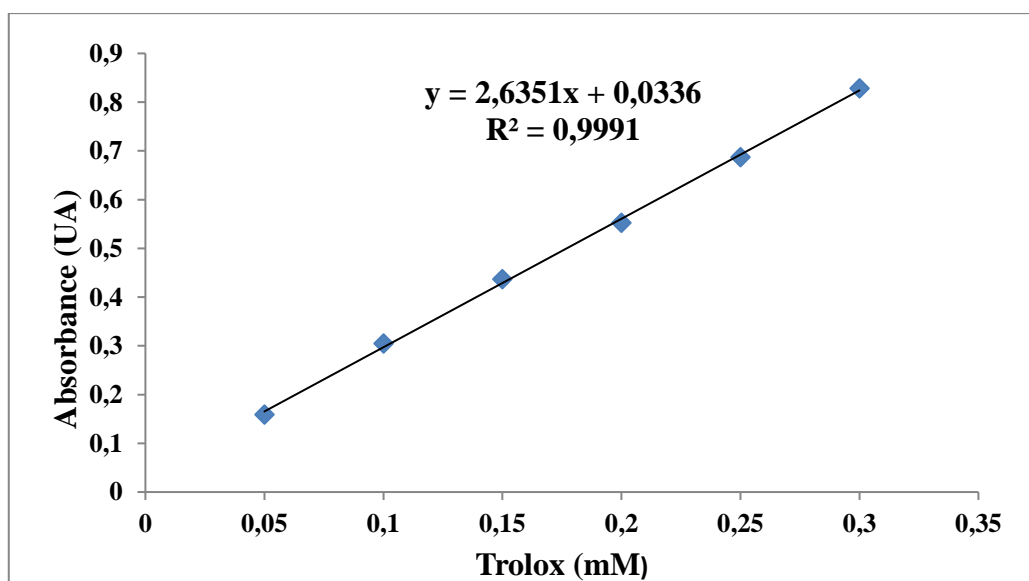
ANNEXE 01 : Matériel du laboratoire

Centrifugeuse (Sigma) ; Spectrophotomètre UV-Vis (SHIMADZU) ; Balance de précision (RADWAG, Max=220g, d=0,001g) ; Agitateur électromagnétique (VELP) ; pH mètre (HANNA) ; Sonicateur (Raypa) ; Vortex (VELP) ; Microplaque 96 puits ; Un lecteur de microplaques (Synergy) ; Lyophilisateur (CHRIST Alpha 1-2 LDplus freeze dryers, Germany) ; Micropipettes ; éprouvettes, erlenmeyers ; spatules ; pipettes ; poires ; béciers ; entonnoirs ; tubes à essais ; eppendorfs...

ANNEXE 02 : Produits chimiques

Albumine du sérum bovin BSA (SIGMA-ALDRICH) ; Phénol (C₆H₆O) (SIGMA-ALDRICH) ; Sodium dihydrogène phosphate (NaH₂PO₄) (PROLABO) ; Hydrogénophosphate de sodium (Na₂HPO₄) (PROLABO) ; Urée (CH₄N₂O) (Honeywell Fluka) ; Uréase (SIGMA) ; Sodium hydroxide (NaOH) (Riedel-de-Haën) ; Hypochlorite de sodium (PROLAB) ; Xanthine (C₅H₄N₄O₂) (SIGMA) ; Xanthine oxidase from bovine milk (SIGMA) ; Ethanol ; Méthanol ; Ethyl acétate ; Chloroforme (BIOCHEM CHEMPHARMA) ; Sodium nitroprusside (C₅FeN₆Na₂O) (MERCK).

ANNEXE 03 : Courbe d'étalonnage Trolox du pouvoir anti-oxydant de réduction du fer (FRAP).



Résumé

Cette étude explore le potentiel de *Pistacia lentiscus*, une plante médicinale traditionnelle, comme source de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase (XO) et de l'uréase, des enzymes clés dans le traitement de la goutte et de l'ulcère gastrique, respectivement. L'activité antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, écorces des racines et graines de *P.lentiscus* et leur effets inhibiteurs sur la xanthine oxydase et l'uréase, *in vitro* ont été évalués. Les extraits éthanoliques des feuilles ont montré une activité antioxydante remarquable ($281,52 \pm 21,99$ mM Eq.Trx/mg d'extrait) et une forte inhibition de la XO (IC50 de $5,37 \pm 0,38$ µg/mL) et de l'uréase (IC50 de $12,69 \pm 0,95$ µg/mL). Les études *in silico* du docking moléculaire ont révélé une forte affinité de liaison avec la XO du théogalline, la catéchine, l'isoquercétine et l'acide gallique, principalement via des interactions hydrogène avec l'acide aminé GLU802. Ces résultats mettent en évidence le potentiel thérapeutique de *Pistacia lentiscus* pour le traitement des maladies inflammatoires et des pathologies associées à l'activité de la XO et de l'uréase, ouvrant la voie à de futures recherches cliniques.

Mots clés : *Pistachia lentiscus*, xanthine oxydase, uréase, antioxydant, docking moléculaire

Abstract

This study investigates the potential of *Pistacia lentiscus*, a traditional medicinal plant, as a source of novel inhibitors for xanthine oxidase (XO) and urease, a key enzymes in the treatment of gout and stomach ulcer, respectively. The antioxidant activity and *in vitro* inhibitory effects on XO and urease of ethanol and aqueous extracts from the leaves, root bark, and seeds of *P.lentiscus* have been evaluated. The ethanol extracts obtained from the leaves exhibited significant antioxidant activity, with a value of 281.52 ± 21.99 mM Eq.Trx/mg of extract. Additionally, these extracts demonstrated considerable inhibition of XO, with an IC50 value of 5.37 ± 0.38 µg/mL, as well as urease inhibition, with an IC50 value of 12.69 ± 0.95 µg/mL. *In silico* studies on molecular docking have demonstrated that theogallin, catechin, isocercetine, and gallic acid, chemicals found in the leaves part, exhibit a strong affinity for XO. This affinity is primarily due to hydrogen interactions with the GLU802 amino acid. The findings emphasize the therapeutic capacity of *P.lentiscus* for the treatment of inflammatory diseases and pathologies associated with XO and urease activity. This serves as the foundation for a future clinical investigations.

Keywords : *Pistacia lentiscus*, Xanthine oxidase (XO), Urease , Antioxidant , Molecular docking

ملخص

تستكشف هذه الدراسة إمكانات نبات *Pistacia lentiscus*، وهو نبات طبي تقليدي، كمصدر لمثبطات جديدة لأوكسيداز الزانثين

واليوريزاز، والإنزيمات الرئيسية في علاج النقرس وقرحة المعدة، على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة (XO) وتأثيراتها المثبطة على أوكسيداز الزانثين *P. lentiscus* للمستخلصات الإيثانولية والمائية لأوراق ولحاء الجذور وبذور نبات واليوريزاز، في المختبر. أظهرت المستخلصات الإيثانولية للأوراق نشاطاً ملحوظاً مضاداً للأوكسدة

قدره 281.52 ± 21.99 (مجم من المستخلص/Trx ملي مولار مكافئ) 5.37 ± 0.38 (IC50 XO) وتثبيطاً قوياً لـ (مجم من المستخلص/Trx ملي مولار مكافئ) 12.69 ± 0.95 (IC50

كشفت دراسات الالتحام الجزيئي للسيليكو عن تقارب . (ميكروغرام/مل 12.69 ± 0.95 IC50) واليوريزاز (ميكروغرام/مل

، والكاتشين، والإيزوكيرسيتين، وحمض الغاليك، وذلك بشكل أساسي عبر تفاعلات الهيدروجين مع XO قوي للثيوجالين تسلسل هذه النتائج الضوء على الإمكانيات العلاجية للفسق العدسي لعلاج الأمراض الالتهابية. GLU802 الحمض الأميني

واليوريزاز، مما يفتح الطريق أمام البحوث السريرية المستقبلية XO والأمراض المرتبطة بنشاط

الكلمات المفتاحية: الفسق العدسي، أوكسيداز الزانثين، اليوريزاز، مضادات الأوكسدة، الالتحام الجزيئي