

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

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Effet de l'extrait de bourgeons de *Populus nigra* sur les niveaux de l'acide urique et les activités Xanthine oxydase/Xanthine déshydrogénase chez des souris normales et hyperuricémique

Présenté par :

M^r BOUCHELKIA Hamza

M^{elle} IDIR Leila

Membre de jury :

Président : M^r ATMANI D.

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

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

Examinatrice : M^{elle} AYOUNI K.

Grade et lieu :

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

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

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

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

Année : 2012/2013

Remerciements

On remercie le Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, guidé et aidé à accomplir ce modeste travail.

On adresse nos sincères remerciements à notre chère promotrice Mme DEBBACHE Nadjet pour son temps consacré et sa disponibilité pour diriger ce mémoire, car ce travail est le témoin de sa confiance et de son soutien, ainsi un remerciement à son mari Mr DEBBACHE Nabil et son fils Mimine et sa fille Neila. Merci

On remercie chaleureusement Mr ATMANI Djebbar d'avoir accepté la présidence et l'évaluation de ce travail.

Nos remerciements sont également exprimés à Mme BERBOUCHA Meriem et Melle AYOUNI Karima qui ont accepté avec grand intérêt de faire partie du jury pour évaluer ce mémoire en tant qu'examinatrice.

On tiens à remercier chaleureusement Mme ATMANI Dina, CHAHAR Nassima, CHERFT Nassima, Mme OUHMED Hania, MOULAOUI Kenza ainsi nos ingénieurs du laboratoire Naima, Wahiba et tous les membres du laboratoire de génétique pour leurs encouragements, gentillesse, conseils et leurs disponibilité. Merci à vous tous.

Hemza et Leila

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu, je pense Particulièrement à mes chères parents, mes sœurs, mes frères, mon fiancé, mon beau frère, mon neveu « massi » et toute ma grande famille et sans que j'oublie mes très chers amis (es).

Leila

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

-En premier lieu mes très chers parents qui m'ont soutenu et encouragé pendant tout mon parcours universitaire et je souhaite le bon dieu de les garder pour moi.

-Ainsi qu'à mon unique petit frère Mouhameh et ma petite sœur Fati à qui je souhaite le meilleur.

-Et je dois remercier encore et chaleureusement ma grande sœur Kahina qui a été mon soutien morale surtout dans mes études supérieures ainsi son mari Samir à qui je dois beaucoup de respects et sans oublier ma petite princesse ma fleur Maya la capricieuses de notre famille.

-Un remerciement très spécial à ma très très chère cousine Rebiha qui ma beaucoup beaucoup soutenu pendant tout mon parcours à qui je souhaite le meilleur et tout le bonheur du monde. Merci.

-Surtout sans oublier mes très chères tantes Nadia et Fatima qui n'ont jamais cessé de m'encourager et ainsi qu'à leurs filles, sans oublier ma grande mère maternel Taklit à qui je souhaite dieu de la garder pour nous tous.

-Et sans jamais oublier mon très cher ami et frère IDIR Nabil qui a été toujours présent à mes cotés, ainsi un remerciement très spécial à ses parents Khalil Ali et Khalti Fatiha.

-Et sans oublier toute la promotion de Biochimie Appliquée collègues et enseignants de L'université de Abdourrahmen Mira de Bejaïa spécialement l'ensemble du personnel de Laboratoire de Génétique DEBBACHE Nadjet, AYOUNI Karima, BERBOUCHA Meriem, CHAHAR Nassima, ATMANI Dina, CHERAFT Nassima, OUHMED Hania, NAIMA ET WAHIBA. Et sans jamais oublier mes frère et sœur en 1^{er} ma binome leila lola, mounia, imen, kahina, ghania, selma, fatma, amazigh, massina (Zinine lminouche), atmen et massina à qui je garderai un éternel souvenir. Merci pour l'ambiance.

-Et sans oublier aussi mes frères, sœurs et enseignants de L'U.S.T.H.B de Bab Ezzouar en particulier ma promotion de 2^{ème} année biologie section H groupe 5 et surtout ne jamais oublier KEFIL Hassina hassou et SELLAMI sabrina nina à qui je garderai un éternel souvenir.

-Et en fin à celle qui a pue rendre ma vie heureuse à mon grande amour que j'ai aimé et j'aime et j'aimerais toute ma vie à qui je souhaite le bon dieu le garderai pour moi. Je t'aime.

Hamza

Liste des figures

Figure01: Schéma simplifié de la Purinosynthèse	2
Figure 02: schéma illustrant la dégradation des nucléoprotéines tissulaires et alimentaires	3
Figure 03: Régulation rénale de l'acide urique	4
Figure04 : Structure moléculaire de la XOR.....	5
Figure 05: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydoréductase	6
Figure 06: Schéma de l'oxydation de la xanthine et l'hypoxanthine au niveau du site Mo, et réduction du NAD et l'O ₂ au niveau du site FAD.....	6
Figure 07: Mécanisme d'action de la XO	7
Figure 08: Conversion de la XDH en XO	8
Figure 09: génération du NO et du peroxyxynitrite catalysée par la XOR.....	9
Figure 10: Structure chimiques des dérivés des coumarines.....	14
Figure 11: tanins condensés	16
Figure 12: tanins hydrolysables	16
Figure 13: Structure de base des flavonoïdes.....	17
Figure 14: (A) les bourgeons, (B) les feuilles, (C) l'arbre complet de <i>Populus nigra</i>	19
Figure 15: Matériels animal et conditions d'élevages.....	22
Figure 16: Cage de souris.....	22
Figure 17: Injection intrapéritonéal.....	24
Figure 18: Administration par voie Intra gastrique.....	24
Figure 19: Décapitation des souris	25
Figure 20: Effet de l'extrait de <i>P.nigra</i> et l'allopurinol sur les niveaux de l'acide urique chez des souris normales par rapport au groupe hyperuricémique.....	29
Figure 22: Effet de l'extrait de <i>P.nigra</i> et l'allopurinol sur les niveaux de l'acide urique chez des souris normales par rapport au groupe ayant reçu que le véhicule	30

Liste des tableaux

Tableau I: Comparaison des inhibiteurs de la XO.....	11
Tableau II: Principaux acides hydroxybenzoïques.....	13
Tableau III: Principaux acides hydroxycinnamiques.....	13
Tableau IV: Inhibition de la XO par les hydroxycinnamiques.....	14
Tableau V: Inhibition de la XO par les coumarines.....	15
Tableau VI: Principales classes des flavonoïdes.....	17
Tableau VII: Effet de certains flavonoïdes sur la XO.....	18
Tableau VII : Taux de réduction de l'acide uriques des souris hyperuricémiques par les extraites éthanoliques de <i>Populusnigra</i> et l'allopurinol.....	29
Tableau IX : Taux de réduction de l'acide uriques des souris normales par les extraites éthanoliques de <i>Populusnigra</i> et l'allopurinol.....	30
Tableau X : Les effets de l'extrait éthanoliques de <i>Populusnigra</i> sur les activités XDH et XO des foies de souris.....	31

Liste d'abréviations

AU : Acide Urique.

ATP: adenosine tri-phosphate.

AmPRT: phosphoribosylamidotransférase.

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

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

BSA: albumine sérum bovin.

CAPE: Ester de l'acide caféique du 2-phényl ethanol.

CMC: carboxy-méthyl cellulose.

EDTA: Ethylene diamine tetraaceticacid.

FAD: Flavine adénine dinucléotide.

FADH: Flavine adénine dinucléotide réduit.

GLUT9: Glucose Transporter.

GLUT9m: Glucose Transporter messenger.

HGPRT: hypoxanthine-guanosinephosphoribosyl transférase.

HCl: Le chlorure d'hydrogène.

H₃PO₄: Acide phosphorique.

H₂O₂: Le peroxyde d'hydrogène.

IC₅₀: Concentration Inhibitrice a 50%.

IP: Injection Intrapéritonéal.

KCL: le chlorure de potassium.

MO: Molybdo-proteine.

NaOH: L'hydroxyde de sodium.

NTP: Co-transporteurs sodium-phosphate.

NOS: Nitric Oxyde synthase.

NAD: Nicotinamide adénine dinucléotide.

NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

NO[•]: Radical nitroxyle.

ONOO⁻: le peroxydinitrite.

NO⁻²: Le nitrite.

NO: Le nitroxyle.

OAT: organic anion transporters.

OH: Groupement Hydroxyl.

O₂: L'oxygène.

O₂⁻: superoxyde.

PRPP: phosphoribosyl-pyrophosphate.

SEM: Standard error of the mean.

URAT1: uricacidtransporter1.

URAT1m: uricacid transporter 1 messenger.

UI: Unité Inter-national.

XO: xanthine oxydase.

XOR: xanthine oxydoréductase.

XDH: xanthine déshydrogénase.

Sommaire

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

I. Revue bibliographique

I.1 Métabolisme de l'acide urique.....	02
I.1.1. La Purinosynthèse de novo	02
I.1.2. Purines alimentaires et tissulaires	03
I.1.3. Elimination de l'acide urique.....	03
a) Elimination rénale	03
b) Uricolyse intestinale.....	04
I.2. La xanthine oxydoréductase	04
I.3. Hyperuricémie	09
I.3.1. Causes de l'hyperuricémie.....	09
I.3.2. Les pathologies secondaires à l'hyperuricémie	10
I.3.4. Les hypo-uricémiantes d'origine végétale.....	12
I.4. Les polyphénols	12
I.4.1. Les acides phénoliques	12
I.4.2. Les tanins	15
I.4.3. Les flavonoïdes	16

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal (<i>Populus nigra</i>)	19
II.2. Matériel animal et conditions d'élevage.....	22
II.3. Réactifs chimiques et instrumentations.....	23
II.4 Méthodes	23
II.4.1. Préparation des extraits	23
II.4.2. Evaluation de l'activité anti-hyperuricémique	24

II.4.3 Analyse des résultats	27
III. Résultats et Discussion	28
III.1. Evaluation de l'activité anti-hyperuricémique de l'extrait de <i>P.nigra</i>	28
III.2. Evaluation de l'effet de l'extrait sur les activités XO/XDH hépatique	31
X. Conclusion.....	37
X. Références Bibliographiques.....	38

Introduction

La goutte est une maladie chronique fréquente liée au métabolisme de l'acide urique, elle est associée à une augmentation du taux circulant de l'acide urique (hyperuricémie). Son évolution se fait vers le dépôt d'acide urique dans plusieurs sites de l'organisme avec une prédilection pour les articulations et les reins, conduisant à des destructions articulaires et à une insuffisance rénale (Mazzali et *al.*, 2001; Kuntz et *al.*, 2003).

Ainsi le control des concentrations d'acide urique, est le facteur clé pour la prévention et le traitement de la maladie de la goutte et d'autres désordres qui lui sont associés. Ce contrôle s'opère à travers l'inhibition de la xanthine oxydase, enzyme catalysant les deux dernières étapes du catabolisme des purines avec production de l'acide urique.

Malheureusement, la médication conventionnelle pour la goutte n'est pas toujours efficace et peut causer des effets secondaires inconfortables, ceci en a poussé les chercheurs à trouver d'autres alternatives qui retiennent la même efficacité thérapeutique (Owen and Johns, 1999).

L'utilisation des plantes médicinales pour la prévention et le traitement de l'hyperuricémie et la maladie de la goutte est basée sur les expériences de la médecine traditionnelle. Une validation scientifique doit être entreprise pour une application en médecine moderne, ainsi plusieurs recherches se sont intéressées à l'extraction et l'identification de phytochimiques capables d'inhiber la xanthine oxydoréductase et réduire ainsi les concentrations de l'urate dans le sang (Chang et *al.*, 2007; Lin et *al.*, 2008).

Notre étude a pour but l'évaluation de l'effet hypouricémiant de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* chez des souris non traitées et des souris hyperuricémiques. L'activité inhibitrice de la xanthine oxydoréductase hépatiques par l'extrait testé a été également déterminée.

I.1 Métabolisme de l'acide urique

L'acide urique qui entre dans le pool miscible provient essentiellement du catabolisme des acides nucléiques alimentaires, des acides nucléiques cellulaires et de la purinosynthèse de novo (Bennesser et *al.*, 2010). Les purines endogènes constituent environ les 2/3 de l'acide urique et les purines alimentaires comptent pour le tiers restant (Ea, 2011).

I.1.1. La Purinosynthèse de novo

Elle concerne la synthèse de composés puriniques à partir de diverses molécules non-puriniques. Elle s'effectue principalement dans le cytoplasme des cellules hépatiques. Le premier acide nucléotidique formé est l'acide inosinique d'où proviennent les autres nucléotides puriniques: acide adénylique, acide xanthynique et acide guanylique (Figure 01) (Ea, 2011).

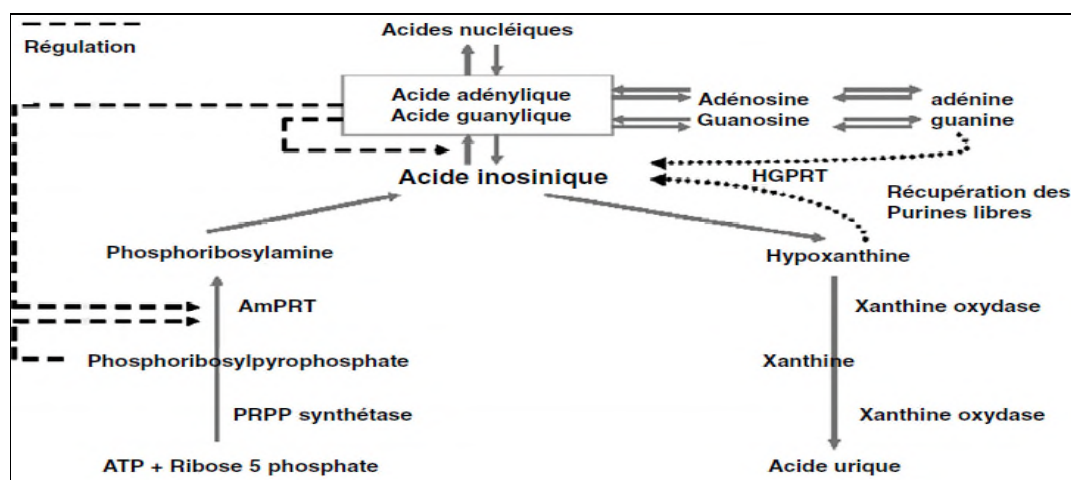


Figure 01 : Schéma simplifié de la Purinosynthèse (Bennesser et *al.*, 2010).

I.1.2. Purines alimentaires et tissulaires

La dégradation des nucléoprotéines tissulaires et alimentaires est une source importante d'acide urique, elle se fait selon le schéma suivant : (figure 02)

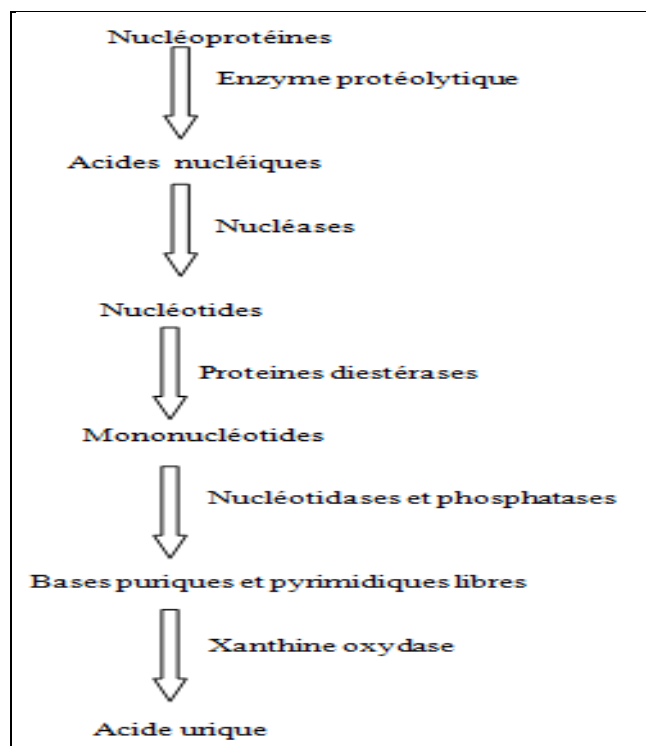


Figure 02: schéma illustrant la dégradation des nucléoprotéines tissulaires et alimentaires

I.1.3. Elimination de l'acide urique

L'acide urique entrant dans le pool miscible est éliminé pour environ 80 % par le rein et pour 20 % par voie digestive (Ea, 2011).

a) Elimination rénale

La régulation rénale de l'urate est complexe et résulte d'un équilibre entre sa filtration glomérulaire, sa réabsorption et sa sécrétion dans le tube proximal. Cette régulation dépend de nombreux transporteurs anioniques de la famille des OAT (organic anion transporters) comme URAT1, transporteur Glut9, et transporteur ABCG2 (ATP-binding cassette family G2) et des co-transporteurs sodium-phosphate (NTP) 1 et 4 (Figure 03) (Enomoto et al., 2002 ; So et al., 2010).

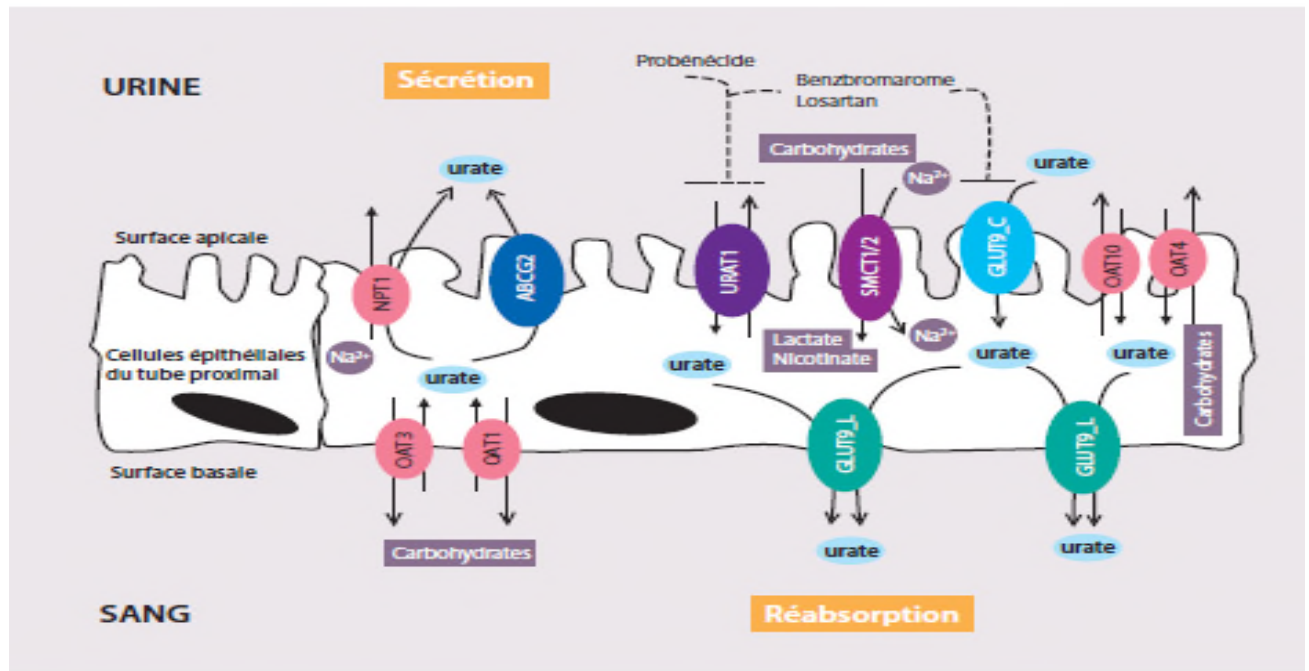


Figure 03: Régulation rénale de l'acide urique (Ea, 2011).

b) Uricolyse intestinale

Sous l'effet des bactéries intestinales (Uricases), une petite quantité d'acide urique est presque entièrement détruite dans l'intestin (Bennesser et *al.*, 2010).

I.2. La xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase (XOR) est une métalloflavoprotéine complexe découverte pour la première fois dans le lait bovin au début du siècle par Schardinger (1902). Elle est sous deux formes interconvertibles et fonctionnelles: La xanthine oxydase (XO) (EC1.2.3.22) et la xanthine déshydrogénase (XDH) (EC 1.1.1.204) (Nishino, 1994).

I.2.1. la structure

Le gène qui code pour la XOR humaine a plus de 60 kb, il est composé de 36 exons et 35 introns (Xu et *al.*, 1996). Ce gène est localisé dans la bande p22 du chromosome 2 (Ichida et *al.*, 1993). La séquence de la XOR humaine est de 1333 acides aminés, elle est de 91% d'homologie avec celle de la XOR de la souris et du rat (Xu et *al.*, 1994).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

La XOR est un homodimère composée de deux sous-unités identiques chacune est de poids moléculaire d'environ 145 kDa. Chaque sous unité est organisée en trois domaines (Figure 04), Chacun est associé à un cofacteur spécifique: le domaine N-terminal de 20 kDa, contient deux centres (Fe_2 / S_2), le domaine central (FAD) de 40 kDa et le domaine C-terminal de 85 kDa contient un centre molybdoptérine (Mo) (Pacher et *al.*, 2006).

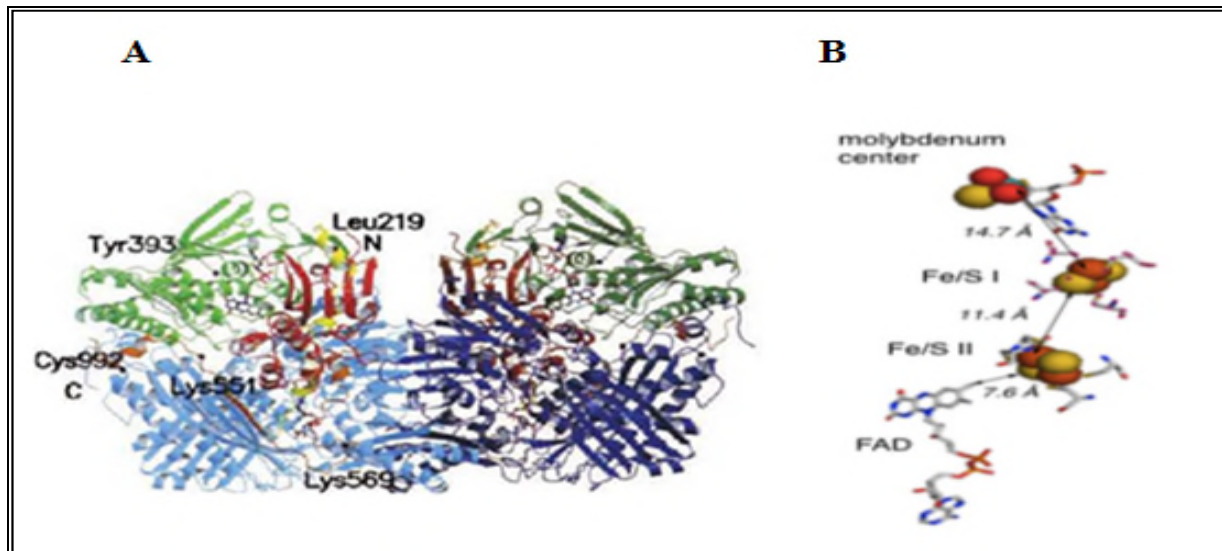


Figure 04 : Structure moléculaire de la XOR

A: Structure cristalline de l'homodimère de la XOR bovine. Les domaines identiques des deux sous unités sont représentés par les mêmes couleurs (claire pour le monomère à gauche, et plus foncées pour celui à droite): en rouge le domaine du Fe_2 / S_2 , en vert le domaine du FAD et en bleu le domaine Mo (Enroth et *al.*, 2000). **B:** Plan d'un monomère, avec l'arrangement linéaire approximative des quatre centres redox-actifs (Hille et *al.*, 2011).

I.2.2. La localisation et la distribution

La XOR est une enzyme qui existe chez tous les organismes vivants, les bactéries (Woolfolk and Downard, 1977), les végétaux et l'Homme (Kooij et *al.*, 1992). Le gène et l'activité XOR sont hautement exprimés dans le foie et l'intestin grêle (Wright et *al.*, 1993).

Les études ont montré que l'enzyme est localisée dans les différents tissus des mammifères, en particulier les cellules hépatiques et les cellules endothéliales des capillaires sanguins (Moriwaki et *al.*, 1993). Dans les tissus humains, la XOR se trouve dans le foie, l'intestin grêle et la glande mammaire (Linder et *al.*, 1999).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.2.3. Propriétés enzymatiques et mécanisme d'action

La XOR est une enzyme clé du catabolisme des purines (Da Silva *et al.*, 2004 ; Patcher *et al.*, 2006) où elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Bray, 1975). Ce dernier joue un grand rôle dans la maladie de la goutte et l'hyperuricémie (Unno *et al.*, 2004) (Figure 05).

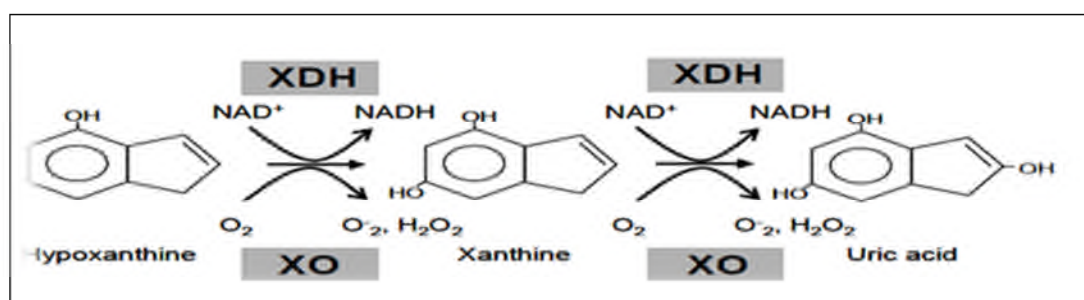


Figure 05: Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydoréductase (Linder, 2005).

L'oxydation de la xanthine et de l'hypoxanthine est effectuée au niveau du centre Mo de l'enzyme avec transfert de deux électrons (Xia *et al.*, 1999), ces derniers sont transférés au centre FAD par l'intermédiaire des centres Fe₂/S₂ (Figure 06) (Olson *et al.*, 1974).

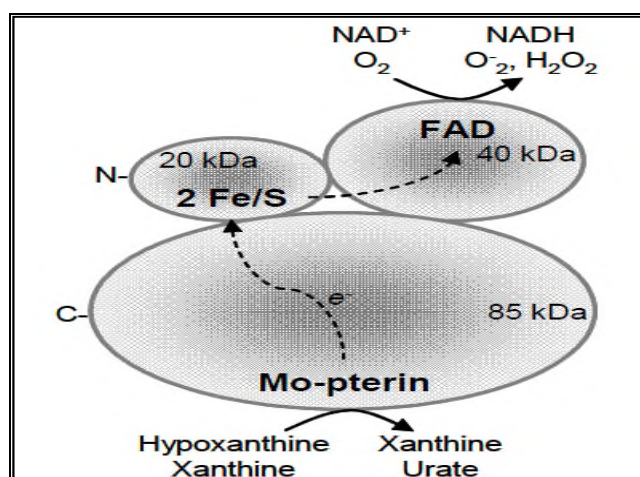


Figure 06 : Schéma de l'oxydation de la xanthine et l'hypoxanthine au niveau du site Mo, et réduction du NAD et l'O₂ au niveau du site FAD (Linder, 2005).

Le mécanisme réactionnel de la XOR consiste en deux demi-réactions, d'oxydation et de réduction (Olson *et al.*, 1974). La demi-réaction de réduction a lieu au niveau du site Mo

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

où la xanthine subit une oxydation, avec transfert d'hydrogène au site Mo^{VI} qui sera réduit en Mo^{IV} (Xia et al., 1999). L'hydroxylation de la xanthine par la molécule d'eau produit l'acide urique (Murray et al., 1966).

La demi-réaction d'oxydation a lieu au niveau du site FAD (Hille and Nishino, 1995), un transfert bi-électronique du site Mo vers le site FAD via les centres Fe_2 / S_2 pour réoxyder le Mo^{IV} en Mo^{VI} avec une libération du produit (acide urique) suivie d'une réduction du FAD en FADH_2 (Olson et al., 1974). Si la demi-réaction d'oxydation est catalysée par la XDH, le NAD^+ est alors réduit par le FADH_2 (Harris and Massey, 1997). Par contre, si la demi-réaction d'oxydation est catalysée par la XO le substrat oxydant est O_2 qui sera réduit soit d'une manière univalente pour donner $\text{O}_2^{\cdot-}$, soit d'une manière bivalente en H_2O_2 (Figure 07) (Hille and Massey, 1981).

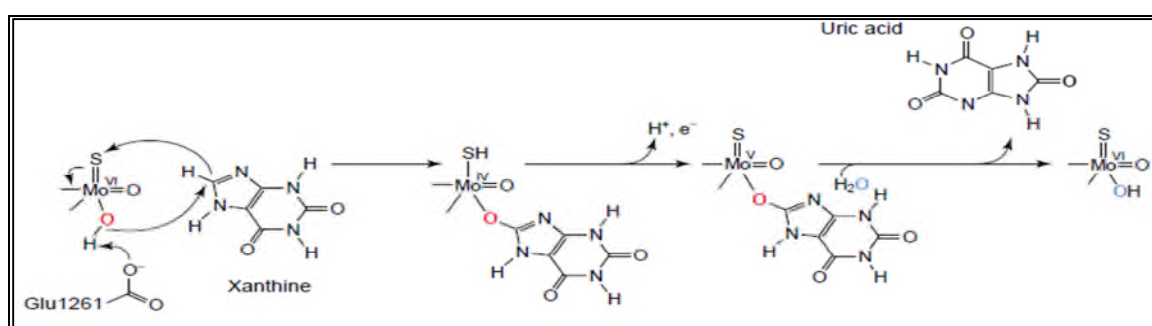


Figure 07 : Mécanisme d'action de la XO (Hille, 2002).

I.2.4. La conversion de la XDH en XO

La forme dominante de la XOR *in-vivo* est le type XDH. La conversion de la XDH en XO se fait via différentes voies (figure 08), par les protéases, comme la trypsine, la chymotrypsine ou la pancréatine, elle est donc irréversiblement transformée en XO (Nishino and Tamura, 1991; Kuwabara et al., 2003).

La deuxième conversion de la XDH est réversible, elle est dû à l'oxydation des groupements thiols de la Cys 535 et la Cys 992 (Nishino and Nishino, 1997) suite à une exposition aux agents sulphydryls et à l'exposition aux conditions anaérobiques (Della Corte et al., 1969).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

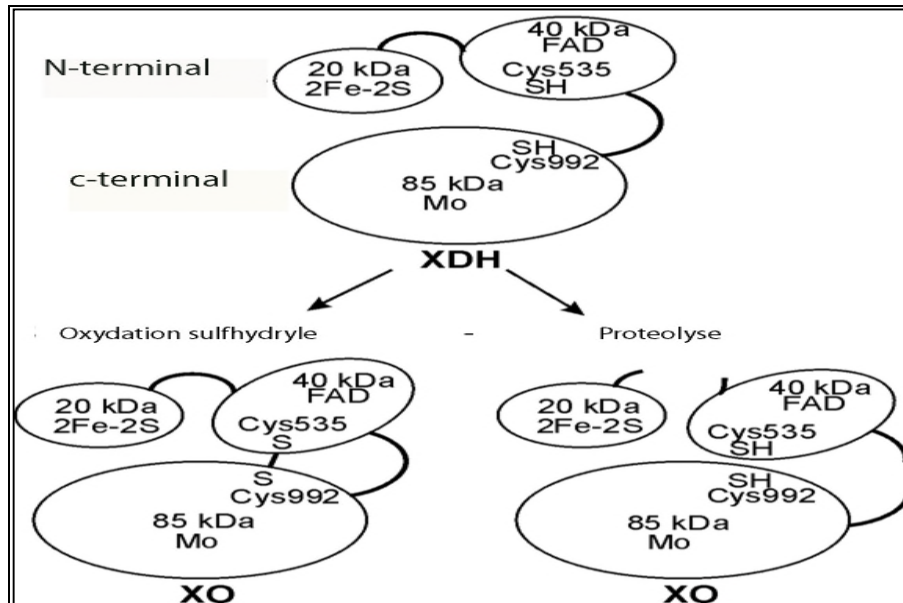


Figure 08: Conversion de la XDH en XO (Martelin, 2004).

I.2.5. Rôles physiologiques

- La XOR joue un rôle principal dans le catabolisme des purines (Bray, 1975).
- Hancock et ses collaborateurs (2002) ont pu montrer une activité antimicrobienne de la XOR du lait humain et bovin qui inhibe la croissance bactérienne *in vitro* d'une manière nitrite-dépendante suggérant l'implication du NO° et du ONOO^- .
- Le radical nitroxyde (NO°) est un produit de la Nitric Oxyde synthase (NOS) (Berry and Hare, 2004), sous des conditions hypoxiques, la XOR joue le rôle de NOS. En présence du nitrite (NO_2^-) et d'un substrat réducteur (Xanthine ou NADH), le NO° est formé au niveau du site Mo (Figure 09). La réduction de l'oxygène moléculaire a lieu au niveau du site FAD en produisant le superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$. Le superoxyde produit se combine avec le NO° pour former le peroxynitrite (ONOO^-), qui est une espèce oxydante extrêmement toxique (Harrison, 2002).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

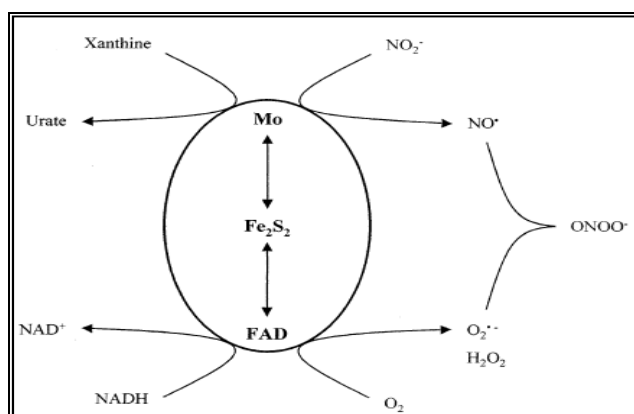


Figure 09: génération du NO⁻ et du peroxynitrite catalysée par la XOR (Harrison, 2002).

I.3. Hyperuricémie

La XOR est considérée comme une source très importante d'espèces réactives de l'oxygène (H₂O₂, O₂⁻) et de l'acide urique, qui sont à l'origine de plusieurs pathologies telles que la goutte et les inflammations (Kong et *al.*, 2000), l'ischémie-réperfusion (Granger et *al.*, 1986), le Parkinson et l'Alzheimer (Squadrito, 2000). L'hyperuricémie est définie comme la concentration d'urate sérique excédant la limite de solubilité (environ 6,80mg/dl, 40mmol/l), qui reflète la saturation du fluide extracellulaire en urate et prédispose les personnes affectées à la goutte. Ainsi, le but majeur dans le contrôle de la goutte est la réduction à long terme des concentrations d'urate sérique à des niveaux subsaturants, une telle réduction va empêcher la formation et la déposition des cristaux d'urate (Becker et *al.*, 2005).

I.3.1 Causes de l'hyperuricémie

L'inhibition de la XO par l'allopurinol a été étudiée, et celle-ci est devenue la base de contrôle de l'hyperuricémie dans la maladie de la goutte (Lewis et *al.*, 1984). L'hyperuricémie est secondaire à plusieurs désordres secondaires métaboliques :

❖ Les anomalies enzymatiques

- Un déficit en HGPRT (hypoxanthine-guanosinephosphoribosyl transferase) (syndrome de Lesch-Nyhan) qui peut être partiel et entraîner une goutte sévère, précoce (avant l'âge de 25 ans).
- Hyperactivité de la PRPP (phosphoribosyl-pyrophosphate) synthétase: maladie rare, transmise par le chromosome X (Nyhan et *al.*, 2005).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

❖ **Les hyperuricémies secondaires à une maladie ou à un traitement médicamenteux:** Ce type d'hyperuricémie peut être causé par:

- Une augmentation de la dégradation des acides nucléiques. On voit cela dans les maladies du sang (leucémies, hémopathies, anémies hémolytiques, parfois psoriasis étendu), et suites à certaines chimiothérapies cancéreuses.

- Un défaut d'élimination de l'acide urique. dans le cas d'une insuffisance rénale ou causé par certains traitements, (les diurétiques, les laxatifs...) (Chalès et *al.*, 2005).

❖ **L'hyperuricémie idiopathique ou primitive :** Ces hyperuricémies représentent 95% des gouttes. Elles ont des causes multiples qui associent augmentation de la synthèse des acides nucléiques (Hyperactivité de la Xanthine oxydase) et réduction de l'élimination rénale. L'hérédité et la suralimentation y ont des rôles prédominants (Guggenbuhl et *al.*, 2005).

I.3.2. Les pathologies secondaires à l'hyperuricémie

a) La goutte

La goutte est une maladie métabolique fréquente (Reginato et *al.*, 2012), liée à un désordre du métabolisme des purines. C'est la conséquence d'une hyperuricémie prolongée. La goutte se caractérise par un dépôt de cristaux d'urate de sodium dans les articulations, surtout distales, et au niveau des tissus (Kuntz et *al.*, 2003).

b) Hypertension artérielle

L'injection d'acide oxonique à des rats Sprague-Dawley a augmenté la concentration d'acide urique sérique (Mazzali et *al.*, 2001), après sept semaines, les rats développaient une hypertension qui pouvait être entièrement prévenue par la co-administration d'un inhibiteur de la xanthine oxydase ou par un agent uricosuriques (Watanabe et *al.*, 2002).

C) Insuffisance rénale aiguë

Deux études récentes ont montré que le risque de développer une maladie rénale était augmenté proportionnellement au degré d'élévation du taux plasmatique d'AU (Obermayr et *al.*, 2008; Weiner et *al.*, 2008).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.3.3. Les hypo-uricémiant synthétique

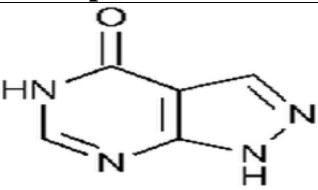
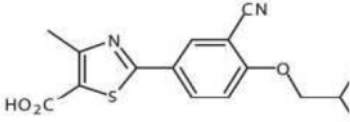
Plusieurs substances hypo-uricémiants ont été développées pour contrôler l'hyperuricémie :

- **Les uricosuriques:** Les uricosuriques diminuent l'uricémie en augmentant l'excrétion urinaire de l'acide urique. Tous induisent un risque de lithiase urique (Bennesser et *al.*, 2010).

- **Uricases :** Ils correspondent à l'urate oxydase qui transforme l'acide urique en allantoiné (Dubost et *al.*, 2010).

- **Inhibiteurs de la xanthine oxydase:** Ils peuvent être des analogues de substrats puriniques (allopurinol) ou des molécules n'ayant aucune relation structurale avec les substrats biologiques de l'enzyme (febuxostat) (tableau I). Les deux types d'inhibiteurs réagissent au niveau ou pré du site Mo (Hille and Massey, 1981).

Tableau I: Comparaison des inhibiteurs de la XO (Pacher et *al.*, 2006; Wilhelmy et Janecek, 2012 ; Umair et *al.*, 2011).

	Allopurinol	Febuxostat
Structure		
Mécanisme d'action	Inhibiteur non sélectif de la xanthine oxydase.	Inhibiteur sélectif de la xanthine oxydase.
Métabolisme	Hépatique (oxydation : 70 % converti en oxypurinol).	Hépatique (glucuronidation : 22 % – 44 % et oxydation : 2 % – 8 %).
Élimination	Élimination des métabolites actifs (oxypurinol) par les reins.	Dans l'urine (1 % – 6 % inchangé dans les urines).
Effets indésirables	Intolérance gastro-intestinale, éruption cutanée et risque d'hypersensibilité grave.	Anomalie de la fonction hépatique, nausées, diarrhée, éruptions cutanées.
IC50	10.66µM	2.9µM

I.3.4. Les hypo-uricémiantes d'origine végétale

Des études pharmacologiques ont été menées sur un large éventail de plants utilisées en médecine traditionnelle, notamment celles qui sont couramment utilisées comme anti-inflammatoire ou diurétique. Les différents effets thérapeutiques des plantes médicinales ont été attribués à leurs composés phénoliques (Owen and Johns, 1999).

L'inhibition de la xanthine oxydase à un double rôle, en plus de la prévention des maladies liées au stress oxydant provoqué par les espèces réactives de l'oxygène (O_2^- , H_2O_2) elle pourrait réduire la concentration de l'acide urique et traiter toutes les maladies associées à une hyperuricémie. Les traitements chimiques actuels sont efficaces mais présentent des effets secondaires lourds pour les patients, c'est l'une des raisons qui a poussé les chercheurs à trouver des substituts qui ne retiennent que l'efficacité thérapeutique souhaitée, l'une des sources importantes sont les plantes médicinales.

I.4. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante (Lugasi et *al.*, 2003). Ces composés ont en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000; Macheix et *al.*, 2005).

I.4.1. Les acides phénoliques

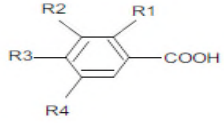
Les acides phénoliques sont des substances phytochimiques avec des effets antioxydants et anti inflammatoires (Psotová et *al.*, 2003). Ils regroupent deux classes de composés:

A. Les acides hydroxybenzoïques

Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque, avec une structure générale de base de type (C_6-C_1). Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau II:

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

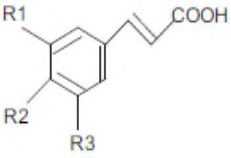
Tableau II: Principaux acides hydroxybenzoïques (Macheix et *al.*, 2005).

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

B. Les acides hydroxycinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique, avec une structure générale de base de type (C₆-C₃). Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau III représente les principaux acides hydroxycinnamiques.

Tableau III: Principaux acides hydroxycinnamiques (Macheix et *al.*, 2005).

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

❖ Mécanisme d'inhibition de la XO

Les études réalisées par Chang et ses collaborateurs (2007) ont montré que l'activité inhibitrice de CAPE est beaucoup plus importante que celle de l'acide caféique (Tableau IV). CAPE et l'acide caféique interagissent favorablement avec le site actif de XO par la formation d'une liaison hydrogène et des interactions électrostatiques entre leurs deux groupes hydroxyles avec des acides aminés Arg 880, Glu 1261, et Thr 1010 de la chaîne latérale de XO.

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

D'autre part le groupement OH est important pour l'inhibition de la XO. Son absence (acide trans-cinnamique) et sa méthylation (acide férulique) diminue cette activité inhibitrice (Ferrari *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2007).

Tableau IV : Inhibition de la XO par les hydroxycinnamiques (Chang *et al.*, 2007).

Composés	IC ₅₀ (μ M)	Type d'inhibition
Allopurinol	1.47 \pm 0.32	Compétitive
Acide caféique	65.58 \pm 2.71	Compétitive
Ester de l'acide caféique et du 2-phényléthanol(CAPE)	6.26 \pm 1.60	Compétitive
Acide férulique	93.88 \pm 18.95	Compétitive
Acide isoférulique	143.19 \pm 2.60	Compétitive
Acide p-méthoxycinnamique	>200	Compétitive
Acide m-méthoxycinnamique	183.96 \pm 1.24	Compétitive
Acide o-méthoxycinnamique	>200	Compétitive
Acide di-méthoxycinnamique	>200	Compétitive
Acide trans-cinnamique	>200	Compétitive

C. Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Quelques dérivés sont illustrés dans la figure 10.

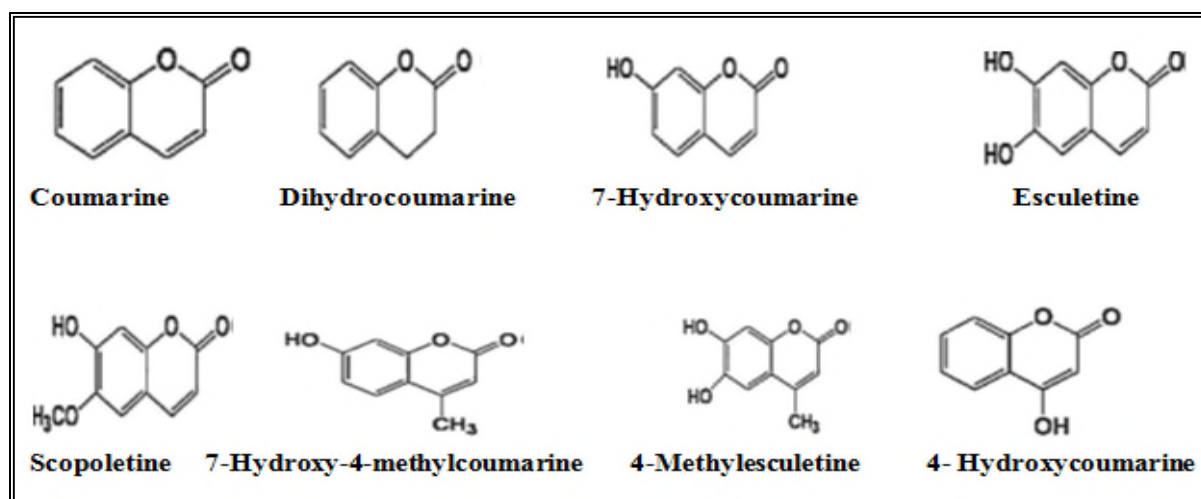


Figure10: Structure chimiques des dérivés des coumarines (Lin *et al.*, 2008).

❖ Mécanisme d'inhibition de la XO

Tous les dérivés ont inhibé compétitivement la XO (Tableau V). Les résultats de la structure moléculaire basée sur la modélisation ont exhibé des interactions entre les coumarines et la

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

région molybdoptérine de la XO. Le modèle d'hydroxylation des coumarines s'est avéré être important pour l'inhibition de la XO (Ferrari et *al.*, 2007).

Les études réalisées par Lin et ses collaborateurs, (2008) ont montré que la méthylation du groupement OH au C₆ réduisait l'action inhibitrice vis-à-vis de la XO et que l'atome H du 6-hydroxyl est indispensable pour cette activité.

Tableau V: Inhibition de la XO par les coumarines (Lin et *al.*, 2008).

Composés	Inhibition(%)	IC ₅₀ (µM)	Type d'inhibition
Coumarine	1.59 ± 5.61	>100	Non déterminé
4-Hydroxycoumarine	37.18 ± 3.80	78.13 ± 3.11	Compétitive
7-Hydroxycoumarine	8.67 ± 3.05	>100	Compétitive
Esculetine	83.44 ± 2.76	10.84 ± 0.14	Compétitive
Scopoletine	4.55 ± 3.46	>100	Compétitive
Dihydrocoumarine	5.32 ± 3.90	>100	Non déterminé
7-Hydroxy-4-methylcoumarine	4.65 ± 2.93	>100	Compétitive
4-Methylesculetine	37.35 ± 2.20	75.79 ± 1.98	Compétitive
Allopurinol	99.43 ± 2.23	1.07 ± 0.01	Compétitive

❖ Effet uricosurique

Des études ont déterminé que l'esculetine et esculine, fraxetine et la fraxine ont un effet diurétique à travers une régulation rénale par les différents transporteurs d'anions organiques. Ainsi, l'esculetine et esculine ont augmenté la sécrétion rénale de l'acide urique via une régulation positive de l'ARNm du transporteur anionique organique (OAT1m). La fraxetine a diminué la réabsorption rénale de l'urate en inhibant l'URAT1m, la fraxine a interagit avec GLUT9m et URAT1m, OAT1m. En outre, esculetine, fraxetine et fraxine ont augmenté l'expression de l'ARNm de ABCG2m et ils ont diminué les taux de protéines dans la membrane rénale apical chez les souris hyperuricémiques (Li et *al.*, 2011).

I.4.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires d'origines végétales, existent dans presque chaque partie de la plante. Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydant et leur propriété thérapeutique (Cowan, 1999). On distingue deux types de tanins :

-Les tanins hydrolysables: formés à partir de l'acide gallique avec une distribution dans le règne végétal assez limité (Hopkins, 2003).

-Les **tanins condensés**: ce sont de polymères de certains flavonoles, les catéchines ou les catéchols (Hopkins, 2003).

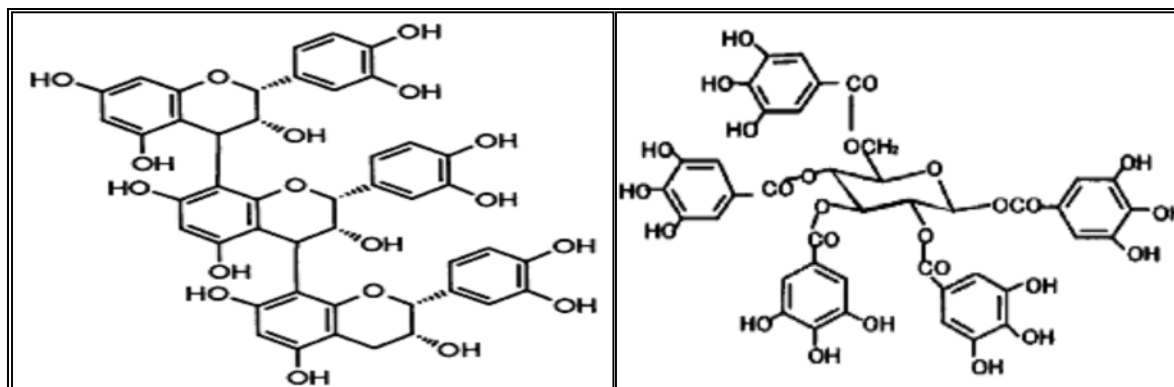


Figure 11: tanins condensés

(Yukozaawa et *al.*, 1998).

Figure 12 : tanins hydrolysables

(okuda, 2005).

❖ Mécanisme d'inhibition de la XO

L'activité inhibitrice des tanins sur la xanthine oxydase dépend de leur PM et du nombre de groupements OH portés par le noyau phénolique. Les tannins oligomériques hydrolysables sont de faibles inhibiteurs de la XO à cause de leurs grande taille moléculaire (Hatano et *al.*, 1990).

Hatano et ces collaborateurs (1990) ont également rapporté que le changement de position des groupes acyle sur les noyaux d'hydrates de carbone induit des différences dans l'activité inhibitrice des tanins hydrolysables. L'epigallocatechine gallate, un inhibiteur compétitif de la XO, présente une inhibition comparable à celle exercée par l'allopurinol (Aucamp et *al.*, 1997).

I.4.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal (Bruneton, 2009). Ils sont des composés dont la structure de base est constituée de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 13).

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

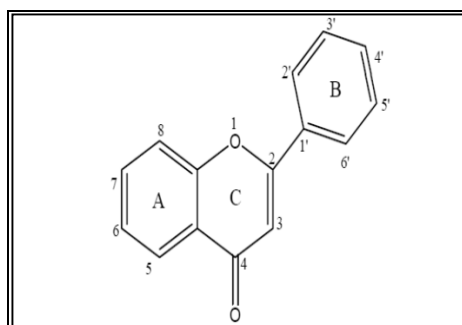


Figure13 : Structure de base des flavonoïdes (Erlund, 2004).

Les flavonoïdes existent sous différentes classes et ceci en fonction du degré d'oxydation et d'insaturation du cycle C (Tableau VI).

Tableau VI: Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001; Erdmanet *et al.*, 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

➤ Mécanisme d'inhibition de la XO

Plusieurs études ont montré l'effet inhibiteur de la XO et l'activité scavenging des espèces réactives de l'oxygène des flavonoïdes (Cos et al., 1998; Nagao et al., 1999).

La relation structure chimique des flavonoïdes et leur activité inhibitrice de la XO a été établie. Il a été montré que la présence de la double liaison entre les carbones C₂ et C₃ (maintiens la structure des flavonoïdes plane) et des groupements hydroxyles en C₅ et C₇ ont un rôle important dans leurs effet inhibiteurs (Cos et al., 1998).

La présence d'un groupement OH en C₃ diminuait leur effet inhibiteur sur la XO qui peut être expliqué par la déstabilisation au niveau de la polarité du groupement OH dans la région hydrophobe du site actif ce qui engendre la diminution de l'affinité de liaison. De même une substitution glycosyl en position C₆ dans le noyau benzopyranone (cas de l'isovitexine) empêchait son interaction avec le site actif de la XO (Lin et al., 2002).

Tableau VII: Effet de certains flavonoïdes sur la XO (Nagao et al., 1999; Cos et al., 1998; Lin et al., 2002).

Composés	Type d'inhibition	IC ₅₀ (µM)
Apigenine	Compétitive	0.70 ± 0.23
Quercetine	Compétitive	2.62 ± 0.13
Myricetine	Compétitive	2.38 ± 0.13
Geneisteine	Compétitive	83.0
Allopurinol	Compétitive	0.24 ± 0.01
Kaempférol	Mixte	1.06 ± 0.03
Luteoline	Compétitive	0.55 ± 0.04

➤ Effet uricosurique

Wang et ces collaborateurs, (2010) ont déterminé que 2', 3,4', 5,7-pentahydroxyflavone (morine) a une activité uricosuriques, cette molécule agit en diminuant la réabsorption rénale de l'acide urique via une régulation négative de l'ARNm de transporteur de glucose 9 (GLUT9m) et d'urate (URAT1m), et en augmentant la sécrétion rénale de l'urate via une régulation positive de l'ARNm du transporteur anionique organique (OAT1m).

II- Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal (*Populus nigra*)

Pour évaluer l'activité anti-hyperuricémique, nous avons choisis le peuplier noir (*Populus nigra*). Le choix n'était pas arbitraire mais on s'est basé sur l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies notamment celles associées à la maladie de la goutte.

II.1.2. Description botanique

Populus nigra appartient à la famille des salicacées, sont de grands arbres qui peuvent atteindre 25 à 30 m de haut très communs, ils affectionnent les lieux humides. Leurs feuilles, alternes et pétiolées sont grandes. Au niveau des tiges les bourgeons végétatifs sont petits, glabres, visqueux et souvent appliqués. Ce sont des espèces dioïques, ils possèdent des chatons à écailles, blanchâtres, cylindriques que l'on aperçoit de mars à avril. Les fruits sont duveteux et blanchâtres (Figure 14) (Marnotte et *al.*, 2006).



A



B



C

Figure 14 : (A) les bourgeons, (B) les feuilles, (C) l'arbre complet de *Populus nigra*.

II- Matériel et méthodes

II.1.3. Classification

Règne : Végétal

Sous règne : Eucaryotes

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Monochlamide

Ordre: Salicales

Famille: Salicacées

Genre: Populus

Espèce: *Populus nigra* (Quezel et Santa, 1962; Crété, 1965).

Appellation locale: Asafçaf

Appellation commune: Peuplier noir, le peuplier franc.

II.1.4. Habitat

Le peuplier noir pousse en Afrique du Nord (Maroc, vallée du Haut Atlas), dans le sud et le centre de l'Europe, en Asie centrale, en Sibérie, en Amérique du Nord et il peut également être trouvé en Croatie (Häne and Dobbertin, 2006). En Algérie il se répartit surtout en montagnes, commun à El Kala, Kabylie, Tlemcen (Beloued, 1998). Il s'épanouit dans la lumière et aux endroits riches en végétations, qui peuvent être trouvés près des rivières (Jerkovic and *al.*, 2003).

II.1.5. Composition chimiques

Les bourgeons contiennent un glucoside: le populoside benzoyleosalicoside. Ils sont très riches en salycates, en acides phénoliques et en flavonoïdes. Leurs acides caféique et p-coumarinique ont d'importantes propriétés antioxydants (Goetz, 2011).

L'écorce contient des phénols glycosides, la salicine et Populin (salicine benzoate) qui cause l'élimination de l'acide urique. Les tanins sont également présents (5-9 %) (Khare, 2007).

II- Matériel et méthodes

II.1.6. Activités biologiques

Sa composition en divers composés lui confère plusieurs activités biologiques :

a) **Activité anti-inflammatoire**

L'activité anti-inflammatoire des extraits de plusieurs espèces de *Populus* en utilisant un modèle impliquant la xanthine oxydase a été déjà rapportée, Ces auteurs ont montré que ces activités sont principalement dues à la richesse de cette espèce en flavonoïdes et en salicylate (Rohnert et al., 1998b; Meyer et al., 1995; Von Kruedener et al., 1996; Zhang et al., 2006; Guerrier et al., 2000; Oka et al., 2007; Havlik et al., 2010).

b) **Activité antioxydant**

Populus tremula constitue une source potentielle importante d'antioxydants naturels pour les industries alimentaires et pharmaceutiques. Les effets antioxydants de *Populus tremula* sont essentiellement attribués aux polyphénols majeurs et aux flavonoïdes (Neacsu et al., 2007).

c) **Activité antalgique**

La décoction de l'écorce de *Populus davidiana* est utilisée comme remède contre les douleurs et comme antidote (Zhang et al., 2006).

d) **Activité antimicrobiennes**

Une étude réalisée par Vardar-Unlu et ces collaborateurs (2008) dans le but d'analyser l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques des bourgeons de trois espèces de populus (*Populus alba*, *Populus nigra*, *Populus tremuloides*) contre une panoplie de souches. Les exsudats des bourgeons du genre populus ont montré une activité antimicrobienne très importante.

e) **Activité antiseptique**

L'exsudat des bourgeons de nombreuses espèces du genre *Populus* a longtemps été utilisé pour le traitement des plaies et des ulcères. Cette activité est due au phénol, aux acides carboxyliques et flavonoïdes (Isidorov et al., 2008).

II- Matériel et méthodes

II.1.7. Propriétés thérapeutiques

Les bourgeons calment les catarrhes de l'estomac et de l'intestin (Garnier et *al.*, 1961). Vu sa richesse en salycates, lors de l'ingestion des bourgeons, les salycates se transforment en acide salicylique. Aujourd'hui encore, les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, et diurétiques sont utilisées contre diverses affections douloureuses, et ils ont été recommandés par voie interne dans les maladies chroniques du poumon et des voies urinaires, ainsi que dans les rhumatismes chroniques, et pour la fabrication d'un sirop contre la toux (Häne and Debbertin, 2006).

II.2. Matériel animal et conditions d'élevage

Pour évaluer l'activité anti-hyperuricémique *in-vivo* des extraits de plantes, nous avons utilisé des souris albinos NMRI mâles, d'un poids qui varie entre (25-30) g avec une moyenne d'âge (6 ± 2) semaines.

Les animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et l'expérimentation était réalisée au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia. Pour respecter leur cycle biologique, les animaux ont été mis dans des cages en polycarbonate (figure 16) sous des conditions de température ambiante de (18-23) °C et d'humidité de (60-70)%. La salle est soumise à un éclairage artificiel de 12 heures et d'obscurité de 12 h (figure 15). Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment à bouchon et à l'eau de robinet.



Figure 15: Matériels animal et conditions d'élevages.



Figure 16: cage de souris.

II- Matériel et méthodes

II.3. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: oxonate de potassium, allopurinol, KCl, Xanthine, acide hydrochlorique (HCl), NaOH, NAD⁺, bovine albumine sérum (BSA), éthanol, chloroforme, kit de dosage de l'acide urique, Bleu de coomassie, acide orthophosphorique (H₃PO₄) de 85%, Carboxymethyl cellulose CMC de 0.8%.

Parmi l'appareillage utilisé: agitateur électronique (phywe), balance électronique (KERN KB), balance de précision (sartorius), broyeur électronique (KIKA labortechnikM20), centrifugeuse (sigma), étuve (BINDER), spectrophotomètre automatisé (SPECORD 50, analytikjéna).

II.4 Méthodes

II.4.1. Préparation des extraits

➤ Récolte

La partie de la plante utilisée (bourgeons) a été récoltée en mars 2013 dans un endroit naturel loin de toute pollution et de perturbation humaine dans la forêt d'Azur N' bachar à Amizour située à l'Est de Bejaia.

➤ Séchage

Les bourgeons de *Populus nigra* ont été séchés à l'étuve à 37°C, afin d'éliminer toute trace d'humidité.

➤ Broyage

Les bourgeons de *Populus nigra* ont été broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre fine <63µm.

➤ Tamisage

La poudre obtenue a été tamisée pour récupérer à la fin une poudre très fine de diamètre inférieur ou égale à 63 µm. La poudre a été stockée dans des flacons en verre fermés à l'abri de la lumière.

II- Matériel et méthodes

➤ Extraction

La poudre fine (800g) de *Populus nigra* a été macérée dans de l'éthanol à (96%) avec un rapport de 1 :6ml durant 24h sous agitation continue à l'abri de la lumière. Le mélange a été transféré dans des éprouvettes et laissé décanter pendant 24h. Après centrifugation 3000tour/min pendant 10 minutes, le surnageant a été récupéré et laissé séché sous la hotte jusqu'à l'obtention d'un résidu sec (Atmani et *al.*, 2009).

II.4.2. Evaluation de l'activité anti-hyperuricémique

Pour mettre en évidence l'activité anti-hyperuricémique des extraits de *Populus nigra* un modèle expérimental qui a été décrit par (Hall et *al.*, 1990; Zhu et *al.*, 2004 ; Haidari et *al.*, 2008). Ce test consiste en une injection intrapéritonéale (figure 17) d'une suspension d'oxonate de potassium qui est un inhibiteur de l'urate oxydase (250 mg/Kg). Les solutions d'extraits à tester à différentes concentrations (400, 200, 100 mg/Kg) ont été administrées par voie intragastrique par une sonde de gavage Gaston-œsophagienne (figure 18) 1 heure après l'injection de l'oxonate de potassium, le traitement est réalisé chaque jour pendant 3 jours. L'allopurinol est utilisé comme molécule standard.



Figure 17: Injection intrapéritonéal.

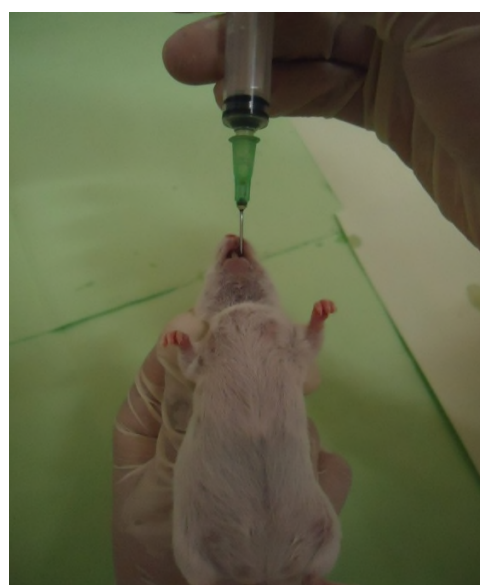


Figure 18 : Administration intragastrique. (Gvage).

II- Matériel et méthodes

Les animaux utilisés ont été privés de nourriture une heure et demie avant l'expérimentation. Un effectif de 80 souris mâles (18-23g) a été réparti en 10 groupes (n=8), comme suit :

Les groupes :

Groupe 1: non traités, animaux non- hyperuricémiques.

Groupe 2: traités avec l'extrait à 400mg/Kg

Groupe 3: traités avec l'extrait à 200mg/Kg.

Groupe 4: traités avec l'extrait à 100mg/Kg.

Groupe 5 : traités avec l'allopurinol à 10mg/Kg.

Groupe 6: traités avec l'oxonate de potassium, animaux hyperuricémiques.

Groupe 7: animaux hyperuricémiques traités avec l'extrait à 400mg/Kg.

Groupe 8: animaux hyperuricémiques traités avec l'extrait à 200mg/Kg.

Groupe 9: animaux hyperuricémiques traités avec l'extrait à 100mg/Kg.

Groupe 10: animaux hyperuricémiques traités avec l'allopurinol à 10mg/Kg.

Les extraits sont dissous dans du CMC (0,8%). L'allopurinol et la suspension d'oxonate de potassium sont préparés dans de l'eau physiologique.

• Dosage de l'acide urique sérique

Le sang a été récupéré par décapitation des souris (figure 19), le sang est laissé coagulé pendant 1 heure, après centrifugation à 5000g pendant 10mn, l'acide urique sérique était dosé en utilisant un kit commercial.



Figure 19: décapitation des souris.

II- Matériel et méthodes

Le réactif du Kit est basé sur les méthodes de Trivedi et Kabasakalian (1976) avec un dosage du peroxyde utilisant de l'acide benzoïque 2,4,6-tribromo-hydroxy-3 (TBHB).

Voir ci-dessous, la suite de réactions ayant lieu au cours de ce dosage:

uricase



péroxydase



1. L'acide urique est oxydé en allantoïne par l'uricase, ceci s'accompagne de production de H₂O₂.

2. Le peroxyde réagit avec l'aminopyrine-4 (AAP-4) et le TBHB en présence de peroxydase pour former un colorant quinoéimine. Le changement d'absorbance à 560 nm est proportionnel à la concentration en acide urique dans l'échantillon.

La concentration de l'acide urique est déterminée :

$$[\text{Acide urique}] \frac{\text{mg}}{\text{dl}} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} * 6[\text{Standard acide urique}] = 6\text{mg/dl}$$

- **Dosage des protéines hépatiques**

La méthode Bradford (1976) a été utilisée pour le dosage des protéines de l'homogénat. La B.S.A est utilisé comme standard.

- **Détermination de l'activité de la XDH et XO hépatiques**

Les souris ont été anesthésiées, le foie était récupéré, rapidement lavé avec une solution saline froide (0.9%) puis pesé et conservé à -80°C jusqu'à utilisation.

Les foies étaient broyés et homogénéisés. L'homogénat était centrifugé à 3000g pendant 10mn. La couche lipidique était délicatement déplacée, le surnageant était encore centrifugé à 15000g pendant 60mn à 4°C. Le surnageant était stocké à -20°C jusqu'à utilisation.

Les activités XO et XDH ont été mesurées par spectro-photométrie en mesurant la production de l'acide urique à partir de la xanthine selon la méthode de Prajda and Weber's (1975). Dans le cas de la XDH, le mélange réactionnel contient 0.5ml de NAD⁺, 3.5 ml de tampon phosphate (5Mm, pH=7.5) 0.1 ml d'homogénat de foie et 1 ml d'Oxonate de potassium. L'activité XO était

II- Matériel et méthodes

mesurée en utilisant la méthode similaire à celle décrite pour la XDH avec l'oxygène moléculaire utilisée à la place du NAD^+ comme accepteur d'électrons.

Après 10 minutes, la réaction était stoppée par l'addition de 0.5 ml HCl (0.6 M), et l'absorbance était mesurée à 290 nm utilisant un spectrophotomètre UV/VIS. Une unité (UI) d'activité était définie comme 1 μmol d'acide urique formé par minute par mg de protéine a pH 7.4.

II.4.3 Analyse des résultats

Les résultats expérimentaux sont la moyenne \pm S.E.M. L'analyse des résultats était réalisée par le logiciel statistica en utilisant la variance (ANOVA) suivie par l'analyse Student Newman-Keuls method post hoc et en utilisant le test one-way analyse de la variance ANOVA, les moyennes sont comparées par le test de Dunnett Les différences sont considérées comme significatives à $p < 0.05$.

III- Résultats et Discussion.

III.I Résultats

III.I.1 Evaluation de l'activité anti-hyperuricémique de l'extrait de *P.nigra*

L'étude de l'activité anti-hyperuricémique de *P. nigra* a été réalisée sur un modèle animal en provoquant une hyperuricémie par injection pendant 3 jours de l'oxonate de potassium qui est un inhibiteur de l'uricase.

L'activité anti-hyperuricémique de l'extrait éthanolique à différentes concentrations de *P.nigra* a été évaluée par le dosage du taux d'acide urique dans le sérum, les résultats sont présentés dans les figures 20 et 21.

a) Effet de l'extrait *P.nigra* sur les niveaux d'acide urique chez des souris hyperuricémiques

Les résultats des effets hypouricémisants de l'extrait éthanolique et de l'Allopurinol chez des souris hyperuricémiques induite par l'oxonate de potassium sont montrés dans la figure 20. Chez le groupe contrôle, les niveaux d'acide urique sont $3,34 \pm 0,38$ mg/dL. Chez les souris hyperuricémique, 1 h après l'injection intrapéritonéale de l'oxonate de potassium et après trois jours de traitement les niveaux d'acide urique sont très significativement ($P < 0,001$) élevés à $4,73 \pm 0,19$ mg/dL. Ces résultats indiquent que l'oxonate de potassium a efficacement induit l'hyperuricémie. Le niveau d'acide urique sérique du groupe hyperuricémique traité avec l'Allopurinol (10mg/Kg) pendant trois jours a très significativement diminué de 92,81% (**tableau VIII**). De plus, les niveaux d'acide urique sérique des souris hyperuricémiques traitées avec les différentes concentrations d'extrait ont été significativement diminués de 56,02-58,56%. Cependant, en analysant nos résultats avec le logiciel statistica une différence significative ($P < 0,001$) a été enregistrée entre les groupes hyperuricémiques traités avec les différentes concentrations de l'extrait et le contrôle positif (allopurinol).

III- Résultats et Discussion.

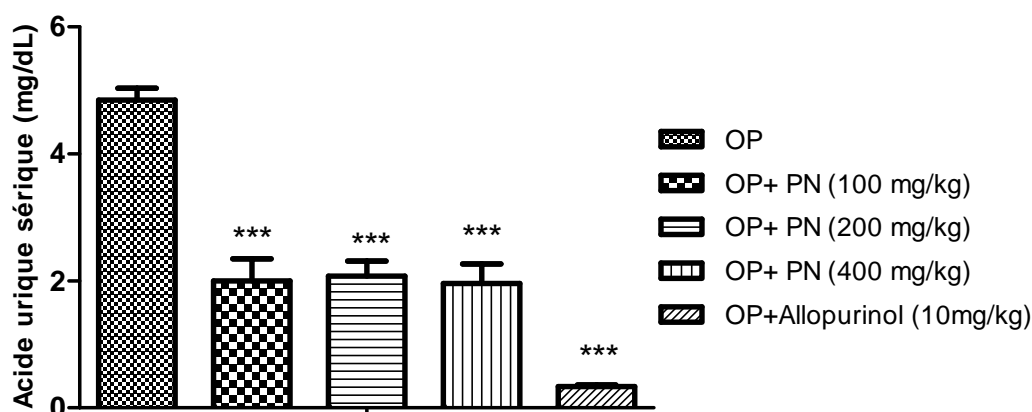


Figure 20 : Effet de l'extrait de *P.nigra* et l'allopurinol sur les niveaux de l'acide urique chez des souris hyperuricémiques. Les résultats sont exprimés comme la moyenne±SEM, 6 souris dans chaque groupe, L'analyse statistique est réalisée par le logiciel Graphpad. Les moyennes sont comparées par le test de Dunnett, les différences sont significatives à * $p<0.05$; ** $p<0.01$ and *** $p<0.001$ par rapport au groupe hyperuricémique. OP : oxonate de potassium

Tableau VIII : Taux de réduction de l'acide uriques des souris hyperuricémiques traitées par les extraits éthanoliques de *Populus nigra* et l'allopurinol.

Groupe	mg /Kg	Taux de réduction (%)
Hyperuricémique(OP)	250	-
OP+ extrait	100	57,72
OP+ extrait	200	56,02
OP+ extrait	400	58,56
OP+ allopurinol	10	92,81

b) Effet hypouricémique de l'extrait de *P.nigra* chez des souris normales

Dans le but d'examiner le potentiel hypouricémiant, différentes concentrations d'extrait éthanolique de *P.nigra* ont été administrées chez des souris normales pendant trois jours (figure 20). D'après les résultats l'allopurinol (10 mg/kg) a diminué les niveaux de l'acide urique de 90,72% (**tableau IX**), comparé au groupe non traité. Les niveaux de l'acide urique ont été très significativement diminués par l'extrait 100mg/kg et significativement diminués ($p<0.01$, $p<0.05$) par les extraits (200, 400 mg/kg) chez les souris normales.

Par contre en analysant nos résultats avec le logiciel statistica, il a été enregistré que l'allopurinol a efficacement ($P<0,05$) diminué la concentration de l'acide urique

III- Résultats et Discussion.

comparativement aux effets montrés par l'extrait à 200 et 400mg/kg. L'extrait testé était plus efficace ($P < 0.001$) à 100mg/Kg par rapport aux autres concentrations, cette activité est comparable à celle exhibée par l'allopurinol.

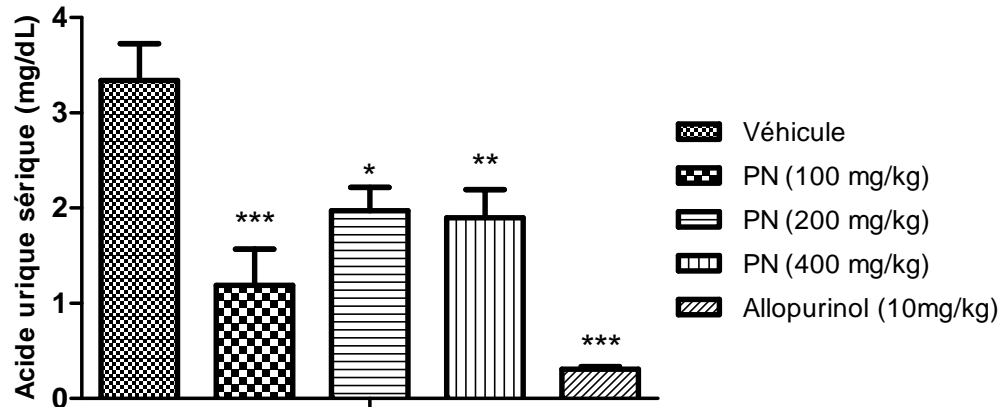


Figure 21 : Effet de l'extrait de *P.nigra* et l'allopurinol sur les niveaux de l'acide urique chez des souris normales. Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm SEM, 6 souris dans chaque groupe, L'analyse statistique est réalisée par le logiciel Graphpad. Les moyennes sont comparées par le test de Dunnett, les différences sont significatives : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ par rapport au groupe ayant reçu que le véhicule.

Tableau IX : Taux de réduction de l'acide uriques des souris normales par les extraites éthanoliques de *Populus nigra* et l'allopurinol.

Groupe	mg/kg	Taux de réduction(%)
Véhicule		-
Véhicule+extrait	100	64,37
Véhicule+extrait	200	41,02
Véhicule+extrait	400	43,11
Véhicule+ allopurinol	10	90,71

III- Résultats et Discussion.

III.I.2 Evaluation de l'effet de l'extrait sur les activités XO/XDH hépatiques

Afin de déterminer le mécanisme hypouricémiant de l'extrait testé nous avons évalué l'action de l'extrait de *P.nigra* sur les activités XO et XDH hépatiques des souris normales et des souris hyperuricémiques (Tableau X).

Tableau X : Les effets de l'extrait éthanoliques de *Populus nigra* sur les activités XDH et XO des foies de souris.

Traitement	activité enzymatique (nmol AU/min/mg protéines).		pourcentage d'inhibition (%)	
	XDH	XO	XDH	XO
Véhicule	25.20±0.67	25.54±1.08	-	-
Véhicule + extrait 100	50.22±3.76***	46.42±3.48***	-	-
Véhicule + extrait 200	33.91±4.24	27.16 ±2.42	-	-
Véhicule + extrait 400	29.86±2.70	31.38±2.86	-	-
Véhicule + allopurinol	5.99±0.87***	5.66±0.60***	76	78
Hyperuricémique	28.95±2.72	23.92± 1.29	-	-
Hyperuricémique + extrait 100	47.64±3.40 ##	43.28±4.27###	-	-
Hyperuricémique + extrait 200	32.14±4.25	33.33±3.52	-	-
Hyperuricémique + extrait 400	26.34±3.93	26.83±3.36	10	-
Hyperuricémique+ allopurinol	8.90±2.02##	8.97±1.86##	69.26	62.9

Les résultats sont exprimés comme la moyenne±SEM, 6 souris dans chaque groupe, L'analyse statistique est réalisée par le logiciel Graphpad . Les moyennes sont comparées par le test de Dunnett, les différences sont significatives : *p<0.05; **p<0.01, ***p<0.001 par rapport au groupe ayant reçu que le véhicule. # p<0.05; ## p<0.01 and ###p<0.001 par rapport au groupe hyperuricémique.

III- Résultats et Discussion.

a- Effet de l'extrait sur les activités XO/XDH hépatiques chez des souris hyperuricémiques

Les résultats de l'action *in vivo* de l'extrait de *P.nigra* (100, 200 et 400 mg/ml) et l'allopurinol (10mg/ml) sur les activités XO/XDH hépatiques sont montrés dans le tableau IX.

L'induction de l'hyperuricémie par l'oxonate de potassium n'a montré aucune différence significative dans les activités XDH chez les souris hyperuricémiques traitées avec l'extrait éthanolique de *Populus nigra* (400 et 200 mg/kg) (26.34 ± 3.93 et 32.14 ± 4.25 nmol/min/mg) et le groupe hyperuricémique (28.95 ± 2.72 nmol/min/mg). Par contre, l'extrait à 100mg/Kg a augmenté d'une manière significative ($p < 0.01$) l'activité XDH (47.64 ± 3.40 nmol/min/mg) et très significativement l'activité XO (43.28 ± 4.27 nmol/min/mg) en comparant au groupe hyperuricémique (23.92 ± 1.29 nmol/min/mg).

L'allopurinol a significativement inhibé les activités XDH et XO des souris hyperuricémiques ($p < 0.01$) avec un taux d'inhibition de (69.26% et 62.9 %) respectivement par rapport à celles enregistrées au niveau du groupe hyperuricémique.

b- Effet de l'extrait sur les activités XO/XDH hépatiques chez les souris normales

Le potentiel hypouricémiant de l'extrait testé et de l'allopurinol sur un modèle animal est montré dans le tableau X. Comparé avec le groupe contrôle, l'allopurinol (10 mg/kg) a significativement ($p < 0.001$) diminué l'activité XO/XDH avec un pourcentage d'inhibition de 76 et 78%, respectivement. En revanche, les activités XO/XDH des souris traitées par l'extrait éthanolique de *Populus nigra* (200 et 400 mg/kg) (33.91 ± 4.24 / 27.16 ± 2.42 nmol d'acide urique/min/mg et 29.86 ± 2.70 / 31.38 ± 2.86 nmol/min/mg) respectivement n'ont montré aucune différence significative en comparant avec celles enregistrées au niveau du véhicule (25.20 ± 0.67 et 25.54 ± 1.08 nmol/min/mg). Par contre les activités XDH et XO enregistrées en présence de l'extrait à une dose de 100mg/kg (50.22 ± 3.76 et 46.42 ± 3.48 nmol/min/mg) respectivement ont augmenté d'une manière significative ($p < 0.001$) par rapport aux activités XDH et XO du véhicule.

III- Résultats et Discussion.

III.2 Discussion

L'acide urique qui existe sous une forme ionisée (urate) à pH physiologique dérive des composés puriniques. Sa capacité à scavenger le peroxy-nitrite, le radical hydroxyle et l'oxygène sigulet, et à chélater les métaux de transition suggère un rôle antioxydant à l'urate chez l'Homme (Davies et *al.*, 1986; Becker, 1993). L'urate est dégradé chez la plupart des mammifères par l'enzyme hépatique, urate oxidase (uricase), en allantoiné (Harper et *al.*, 1982). Cependant, chez l'Homme, une mutation au niveau du gène de l'uricase à inactiver ce dernier, ce qui a provoqué une augmentation des niveaux plasmatique d'acide urique chez l'homme d'environ 10 fois plus par rapport aux autres mammifères (Whelton, 2012).

L'hyperuricémie est un trouble métabolique qui peut jouer un rôle important dans le développement de la goutte et de plusieurs maladies liées au stress oxydant telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires (De, Nuki., 2006; Strazzullo and Puig, 2007).

A l'heure actuelle, l'allopurinol (un analogue d'hypoxanthine) est un puissant inhibiteur de la XO qui inhibe l'oxydation d'oxypurines existant naturellement, et il est le seul médicament appliqué cliniquement connu pour diminuer la formation de l'acide urique (Fels and Sundry, 2008). Cependant plusieurs études ont indiqué que l'allopurinol peut induire plusieurs effets secondaires très lourds à supporter par les patients, tels que l'hépatite, néphropathie, le syndrome d'hypersensibilité et le syndrome de Stevens-Johnson (Nguyen et *al.*, 2004; Hseih et *al.*, 2007; Strazzullo and Puig, 2007).

L'hyperuricémie induite par une injection de l'oxonate de potassium est un modèle expérimental très utilisé pour l'étude de l'activité anti-hyperuricémique des extraits de plante (Haidari et *al.*, 2008; Hall et *al.*, 1990; Zhu et *al.*, 2004). A partir du troisième jour de traitement à l'oxonate de potassium, une hyperuricémie significative ($P < 0,001$) a été enregistrée, l'oxonate est un inhibiteur compétitif de l'uricase, bloquant ainsi l'action de l'uricase hépatique (Stavric and Nera, 1978). Aussi il a été rapporté que l'injection intrapéritonéale de l'oxonate peut induire l'activité XO/XDH dans le foie de la souris et bloquer le transporteur d'acide urique (UAT) (Zhao et *al.*, 2009).

L'utilisation des bourgeons de *P.nigra* dans la prévention et le traitement de l'hyperuricémie et la maladie de la goutte est basée sur des expériences de la médecine traditionnelle

III- Résultats et Discussion.

(Berboucha et *al.*, 2009), leur utilisation par la médecine moderne souffre d'un manque de données scientifiques. Ainsi le but de cette étude est de justifier l'utilisation des extraits de bourgeons de *Populus nigra* dans le traitement des maladies à caractère diurétique. Nous avons évalué l'activité anti-hyperuricémique des extraits de plante sur un modèle animal chez qui l'hyperuricémie était induite par une injection intrapéritonéale de l'oxonate de potassium (Hall et *al.*, 1990; Zhu et *al.*, 2004; Haidari et *al.*, 2008).

L'administration de l'extrait de bourgeons de *P.nigra* a affecté les niveaux d'acide urique d'une manière dépendante de la dose (200 et 400mg/Kg) chez les animaux non traités, ainsi on peut suggérer que ce dernier pourrait être utilisé pour prévenir la maladie de la goutte et les désordres métaboliques qui lui sont associés.

L'extrait testé à 100mg/Kg a efficacement réduit la concentration de l'urate comparativement à l'extrait 200 et 400mg/Kg, cela peut être expliqué par l'adsorption et le métabolisme qui était plus rapide pour une faible concentration, aussi l'extrait de *P.nigra* est riche en matériel lipidique (Bankova et *al.*, 2002), ce qui lui permet de passer rapidement et facilement à travers la membrane cellulaire. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité de l'extrait 100mg/Kg en comparaison avec l'allopurinol.

L'activité anti-hyperuricémiques des extraits de *Populus nigra* peut être due à leur composition en métabolites secondaires. En effet les bourgeons de *P. nigra* contiennent des acides phénoliques tels que, l'acide caféique et les acides isoferulic, acide p-coumarique, des flavonoïdes tels que, la quercétine et lutéolin (Jerkovic and Mastelic, 2003; Goetz, 2011), qui sont de puissants inhibiteurs de la XO (Cos et *al.*, 1998; Nagao et *al.*, 1999; Van Hoorn et *al.*, 2002; Lin et *al.*, 2002; Chang et *al.*, 2007; Ferrari et *al.*, 2007 ; Lin et *al.*, 2008; Huang et *al.*, 2011). Plusieurs études ont rapporté l'activité uricosurique de ces composés car ils favorisent l'élimination rénal de l'acide urique (Yu et *al.*, 2006; Mo et *al.*, 2007; Wang et *al.*, 2010; Li et *al.*, 2011). Des études *in vitro* ont déterminé que l'extrait éthanolique des espèces du peuplier sont de puissants inhibiteurs de la XO (Owen and Johns, 1999; Zhang et *al.*, 2006; Oka et *al.*, 2007; Havlik et *al.*, 2010).

Il est connu que la Xanthine oxydase est une enzyme inductible, l'acide oxonique et ses sels sont des substances qui peuvent interférer avec d'autres systèmes métaboliques chez la souris. L'injection intrapéritonéale de l'oxonate peut induire l'activité XO/XDH dans le foie de la souris (Yoshisue et *al.*, 2000). Cependant, d'après nos résultats l'oxonate a faiblement augmenté les activités des enzymes, les mêmes observations ont été rapportées Zhao et ses collaborateurs (2006).

III- Résultats et Discussion.

Dans la présente étude, nous avons observé que l'extrait *Populus nigra* testé à différentes concentrations n'a aucun effet sur les activités XDH et XO *in vivo*, contrairement à ce qui été rapporté par les études effectuées *in vitro* (Owen and Johns, 1999 ; Zhang et al., 2006; Oka et al., 2007; Havlik et al., 2010).

Selon Huang et ces collaborateurs (2011) la divergence entre les résultats *in vitro* et *in vivo* peut être liée aux différences dans la biodisponibilité des composés et leur métabolisme complexe chez la souris.

La différence entre les résultats des études d'inhibition de la XO et XDH nous laisse supposer que la diminution de l'acide urique des souris normales et hyperuricimiques est due à d'autres mécanismes notamment:

-L'inhibition des activités XO sérique sans inhibé les activités XO du foie, Huang et ses collaborateurs (2011) ont démontré que lorsque l'activité XO du sérum a augmenté, l'activité XO du foie a diminué. De même, lorsque l'activité XO sérique a diminué, l'activité XO hépatique a augmenté. Par ailleurs, les niveaux sériques de l'acide urique, sont étroitement liés à l'activité XO, tandis que l'activité XO hépatique a peu d'effet sur le taux d'acide urique sérique.

Selon Battelli et ses collaborateurs, (1999), la XO est présente dans presque tous les tissus de mammifères mais elle existe en concentrations élevées dans le foie, l'intestin et le lait. Comme le foie est le principal organe du métabolisme et la XO est très abondante à ce niveau, l'augmentation de l'activité XO sérique accompagnée par une diminution de l'activité de XO du foie peut être expliquée par la libération de la XO dans le sang en raison de l'augmentation de la perméabilité membranaire des cellules hépatiques dû à l'augmentation du métabolisme au niveau du foie (Huang et al., 2011).

Dans la pratique clinique, environ 90% des patients souffrants de la goutte sont attribués à un défaut d'excrétion rénale de l'urate (Wright et al., 2003). Le système de transport rénal de l'urate chez la souris est similaire à celui des êtres humains (Dan et al., 1989; Cihlar et al., 1999; Hosoyamada et al., 1999). L'expression des transporteur URAT1 et SLC2A9 est fortement associée à la régulation du taux de l'acide urique dans le serum (Li et al., 2004; Enomoto et Endou, 2005; Ichida et al., 2004; Hosoyamada et al., 2004; Hediger et al., 2005; Le et al., 2008; Vitart et al., 2008; Matsuo et al., 2008).

Plusieurs composés appartenant à de différentes classes ont été identifiés dans les bourgeons de *Populus nigra* tel que les flavonoides, les acides phénoliques qui sont directement

III- Résultats et Discussion.

impliqués dans la diurèse (Wang et *al.*, 2010; Li et *al.*, 2011). L'effet uricosurique proposé pour cette plante peut être effectué par le mécanisme prouvé dans l'étude réalisée par Hu et ses collaborateurs (2010). Ils ont démontré que l'oxonate régule positivement l'expression des ARNm de URAT1 et GLUT9 chez les souris hyperuricémiques qui a été significativement atténuée par le traitement avec *Simiao pill*, conduisant à une réduction de la réabsorption et l'amélioration de l'excrétion d'urate.

En outre, OAT1 est une composante moléculaire potentielle dans la première étape de la sécrétion rénale de l'urate (Ichida et *al.*, 2003; Hediger et *al.*, 2005). Ainsi on peut suggérer que l'extrait testé montre un effet hypouricémiant en partie à travers son action uricosurique qui peut être attribuée à l'activation de l'excrétion rénale de l'acide urique à travers une régulation des mURAT1, mGLUT9 et mOAT1 chez les souris hyperuricémiques.

Conclusion et Perspectives

L'extrait avait réduit les niveaux d'acide urique chez des animaux non traités et des animaux hyperuricémiques, cela nous permet de suggérer que ce dernier pourrait avoir un effet curatif et préventif de la maladie de la goutte.

Les résultats obtenus nous ont permis de suggérer que l'extrait testé contient des molécules responsables de la diminution des niveaux d'acide urique dans le sang, ces dernières pourraient agir selon plusieurs mécanismes par inhibition de la xanthine oxydoréductase sérique et/ou par augmentation de l'élimination rénale de l'acide urique. Les composés à activité hypouricémiant peuvent activer l'expression des gènes des récepteurs responsables de la sécrétion de l'urate (OAT1) et/ou en diminuant l'expression des ARNm des récepteurs de sa réabsorption (URAT1 et GLUT9).

Telle action hypouricémiant, montre que l'extrait est une alternative possible pour l'allopurinol, ou au moins dans une combinaison pour minimiser les effets secondaires de l'allopurinol en particulier suite à une application à long terme.

Cette étude pourrait constituer une base scientifique pour valider l'utilisation traditionnelle des bourgeons de *P.nigra* comme diurétique et anti-hyperuricémique. Néanmoins, cette étude reste préliminaire et d'autres doivent être entreprises pour déterminer le mécanisme d'action des composés actifs présents dans l'extrait brut.

Références bibliographiques

A

- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., and Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. 112, 303–309.
- Aucamp, J., Gaspar, A., Hara, Y., Apostolides, Z. (1997). Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*camellia sinensis*). *Anticancer Res*, 17, 4381-4386.
- Alexander, So., Nathalie, B. (2012). Actualités sur la goutte, *Rhumatisme*. 79S, A22-A26.

B

- Becker, B.F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radic Biol Med*, 14(6),615-31.
- Becker, M, A. (2001). Hyperuricemia and Gout. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS and Valle D, editors. *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, McGraw-Hill, 2, 2513-2535.
- Beloued, A. (1998). Plantes médicinales. Edition 2, *Office des publications universitaire*, 162.
- Bennesser Alaoui, H., Tazi Mezalek, Z., Harmouch, H., Aouni, M., Maaouni, A. (2010). La goutte nouvelle recommandations. *Espérance Médicale*, 166, 119-132.
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D., and Benboubetra M. (2009). Kinetic study on the Inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *Journal of food medicinal*. 4, 1–9.
- Berry, C.E., Hare, J.M. (2004). Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J. Physiol*, 555, 589-606.

- Bruneton, J., (2009). Lavoisier. TEC & DOC. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, Paris. 1269.
- Bankovaa, V., Popovaa, M., Bogdanovb, S., Sabatini, A-G (2002). Chemical Composition of European Propolis: Expected and Unexpected Results. *Z. Naturforsch*, 57, 530-533.

C

- Chang, Y-C., Lee, F-W., Chen, C-H., Huang, S-T., Tsai, S-H., Huang, S-H., Lin, C-M. (2007). Structure-activity relationship of C6-C3 phenylpropanoids on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Free Radical Biology & Medicine* 43, 1541–1551.
- Chalès, G., Guggenbuhl, P. (2005). Hyperuricémies, une équation extra-articulaire à trois composante : rénale, cardiovasculaire et métabolique. *La lettre du rhumatologue*. 314.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van-Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Berghe, V-D. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Pro*, 61, 71-76.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobiol agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- Cihlar, T., Lin, D.C., Pritchard, J.B., Fuller, M.D., Mendel, D.B., Sweet, D.H. (1999). The antiviral nucleotide analogs cidofovir and adefovir are novel substrates for human and rat renal organic anion transporter 1. *Molecular Pharmacology* 56, 570–580.

D

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

- Dan, T., Koga, H., Onuma, E., Tanaka, H., Sato, H., Aoki, B. (1989). The activity of AA-193, a new uricosuric agent, in animals. *Advances in Experimental Medical Biology*, 253, 301–308.
- Davies, K. J., Sevanian, A., Muakkassah-kelly, S. F., Hochstein, P. (1986). Uric acid-iron ion complexes, a new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochem. J*, 235, 747-754.
- Della Corte, E., Gozzetti, G., Novello, F. and Stirpe, F. (1969). Properties of the xanthine oxidase from human liver. *Biochem. Biophys. Acta*. 191, 164-166.
- Dubost, J.J., Mathieu, S., Soubrier, M., (2011). Traitement de la goutte. *médecine interne*, 32, 751–757

E

- Ea, H.K. (2011). De l'hyperuricémie à la goutte : physiopathologie, *Rhumatisme*, 78, 103-108.
- Enroth, C., Eger, B.T., Okamoto, K., Nishino, T., Nishino, T., Emil, F. P. (2000). Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *PNAS*, 97(20), 10725.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology, *Nutrition Research*, 24, 851–874.
- Erdman, J.W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Folts, J., Harnly, J., Hollman, P., Keen, C.L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G., Burrowes, J.(2007). Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. *The Journal of Nutrition*, 07, 718-737.
- Enomoto, A., Kimura, H., Chairoungdua, A., Shigeta, Y., Jutabha, P., Cha, SH., Hosoyamada, M., Takeda, M., Sekine, T., Igarashi, T., Matsuo, H., Kikuchi, Y., Oda, T., Ichida, K., Hosoya, T., Shimokata, K., Niwa, T., Kanai, Y., Endou, H. (2002). Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*, 417, 447-52.

- Enomoto, A., Endou, H. (2005). Roles of organic anion transporters (OATs) and a urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease. *Clinical Experiments in Nephrology*, 9, 195–205.

F

- Fels, E and Sundy, J.S. (2008). Refractory gout: what is it and what to do about it? *.Curr Opin Rheumatol*, 20(2): 198-202.
- Ferrari, A.M., Sgobba, M., Gamberina, M.C. and Rastelli, G. (2007). Relationship between quantum-chemical descriptors of proton dissociation and experimental acidity constants of various hydroxylated coumarins. Identification of the biologically active species for xanthine oxidase inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 1028-1031.

G

- Granger, D.N., Rutili, G. and McCord, J.M. (1981). Role of superoxide radical in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 81, 22-29.
- Goetz, M.E., Lunch, A. (2008). Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Letters*. 266, 73–83.
- Guerrier, G., Brignolas, F., Theirry, C., Courtois, M., Kahlem, G. (2000). Organic solutes protect drought-tolerant *Populus x euramericana* against reactive oxygen species. *Journal of plant physiology*, 156(1), 93-99.
- Guignard, J.L., (1979). Les composés aromatiques. In *Abrégé de biochimie végétal*. Masson, (2^{ème} édition), Paris, New York, Barcelone, Milan. 173-197.
- Guggenbuhl, P., Pawlotsky, Y., Chalès, G. (2002). Quoi de neuf dans la goutte en 2002 ?. *La lettre du rhumatologue*, 286, 17-26.
- Goetz, P. (2011). Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie*, 9, 310-317.

H

- Hall, I.H., Scoville, J.P., Reynolds, D.J., Simlot, R., Duncan, P. (1990). Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. *Life Sci*, 46, 1923-12-927.
- Harper, H.A. (1982). Précis de biochimie. Ed. Les presses de l'université laval, Quebec (Canada) : 519-541.

- Hancock, J.T., Salisbury, V., Ovejero-Boglione, M.C., Cherry, R., Hoare, C., Eisenthal, R., and Harrison, R. (2002). Antimicrobial properties of milk: dependence on presence of xanthine oxidase and nitrite. *Antimicrob. Agents. Chemother*, 3308-3310.
- Haidari, F., Rashidi, M.R., Keshavarz, S.A., Mahboob, S.A., Eshraghian, M.R., and Shahi, M.M. (2008). Effect of anion on serum uric acid level and hepatic xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase activities in hyperuricemic rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 1779-1784.
- Hane, K., Kaennel, D., Dobbertin, M. (2006). Le peuplier noir: un géant au pied d'argile. *La foret*, 7-8.
- Harris, C.M., Massey, V. (1997). The oxidative half-reaction of xanthine dehydrogenase with NAD reaction kinetics and steady-state mechanism. *J. Boil. Chem*, 272, 28335-28341.
- Harrison, R. (2002). Structure AND function of xanthine oxidoreductase: where are we now?. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, 774–797.
- Hatano, T., Yasuhara, T., Yoshihara, R., Agata, I., Noro, T., and Okuda, T. (1990). Effect on inhibition of tannins with co-existing substances. Inhibitory effects of tannins and related polyphenol on xanthine oxidase. *Chem. pharm. Bull*, 38(5), 1224-1229.
- Havlika, J., Huebraa, R.G., Hejtmankovab, K., Fernandez, J., Simonovaa, J., Melicha, M., Radaa, V. (2010). Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 132, 461–465.
- Hille, R., and Massey, V. (1998). Studies on the oxidative half-reaction of xanthine oxidase. *J. Boil. Chem*. 256, 9090-9095.
- Hille, R., and Nishino, T. (1995). Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *FASEB J*. 9, 995-1003.
- Hille, R. (2002). Molybdenum and tungsten in biology. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 27, 360-367.
- Hille, R., Nishino, T., Bittner, F. (2011). Molybdenum enzymes in higher organism. *Coordination Chemistry Review*, 255, 1197-1205.
- Hsieh, J.F., Wu, S., and Chen, S.T. (2007). The screening and characterization of 6 aminopurine-base xanthine oxidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15, 3450-3456.

- Hopkins. W.G., (2003). *Physiologie végétale* De Boeck, 514.
- Hosoyamada, M., Ichida, K., Enomoto, A., Hosoya, T., Endou, H. (2004). Function and localization of urate transporter in mouse kidney. *Journal of American Society of Nephrology*, 15, 261–268.
- Hosoyamada, M., Sekine, T., Kanai, Y., Endou, H. (1999). Molecular cloning and functional expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney. *American Journal of Physiology*, 276, 122–128.
- Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Zhu, X., Chen, J. (2011). Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1943–1947.

I

- Ichida, K., Amaya, Y., Noda K., Minoshima S., Hosoya T., Sakai O., Shimizu N. and Nishino, T. (1993). Cloning of the cDNA encoding human xanthine dehydrogenase (oxidase): structural analysis of the protein and chromosomal location of the gene. *Gene*, 133, 279-284.
- Ichida, K., Hosoyamada, M., Kimura, H., Takeda, M., Utsunomiya, Y., Hosoya, T., Endou, H. (2003). Urate transport via human PAH transporter hOAT1 and its gene structure. *Kidney International*, 63, 143–155.
- Ichida, K., Hosoyamada, M., Hisatome, I., Enomoto, A., Hikita, M., Endou, H., Hosoya, T. (2004). Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of URAT1 gene on urinary urate excretion. *Journal of American Society of Nephrology*, 15, 164–173.
- Isidorov, V. A., Vinogorova, V. T. (2003). GC-MS Analysis of compounds Extracted from Buds of *Populus balsamifera* and *Populus nigra*. *Z. Natureforsch*, 58, 355-360.

J

- Jerković, I., Mastelić, J. (2003). Volatile compounds from leaf-buds of *Populus nigra* L. (Salicaceae). *Phytochemistry*, 63, 109–113

K

- Khare, C.P. *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary*. (2007).Springer, New York, pp: 512.
- Kong, L.D., Cai, Y., Huang, W.W., Cheng, C.H., and Tan, R.X. (2000). Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *J. Ethnopharmacol.* 73, 199-207.
- Kooij, A., Bosch, K.S., Frederiks, W.M., and Van Noorden, C.J.F. (1992). High levels of xanthine oxidoreductase in endothelial, epithelial and connective tissue cells in rat tissues. A relation between localization and function. *Virchows Archiv [B] Cell Pathology* 62, 143-150.
- Kuntz, D., Lioté, F., (2003). *Goutte . Encycl Méd Chir, Appareil locomoteur, A- 10, 23,14-270.*
- Kuwabara, Y., Nishino, T., Okamoto, K., Matsumara, T., Eger, B.T., Pai, E.F. and Nishino, T. (2003). Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100, 8170-8175.

L

- Le, M.T., Shafiu, M., Mu, W., Johnson, R.J. (2008). SLC2A9—a fructose transporter identified as a novel uric acid transporter. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 23, 2746–2749.
- Lewis, A. S., Murphy, L., Mc Calla, C., Fleary, M., and Purcell, S. (1984). Inhibition of mammalian Xanthine oxidase by folate compounds and amethopterin. *Journal of biological chemistry*, 2595(1), 12-15.
- Li, J.M., Zhang, X., Wang, X., Xie, Y.C., Kong, L.D. (2011). Protective effect of *cortex fraxini* coumarines against oxonate-induced hyperuricemia and renal dysfunction in mice. *European journal of Pharmacology*, 666, 196-204.
- Li, T., Walsh, J.R., Ghishan, F.K., Bai, L. (2004). Molecular cloning and characterization of a human urate transporter (hURAT1) gene promoter. *Biochimica Biophysica Acta*, 1681, 53–58.
- Lin, C.M., Chen C.S., Chen C.T., Liang Y.C. and Lin J.K. (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochem. And Biophys. Res. Commun.* 294, 167-172.

- Lin, H.C., Tsai, S.H., Chen, C.S., Chang, Y.C., Lee, C.M., Lai, Z.Y., Lin, C.M.(2008). Structure–activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *biochemical pharmacology*, 75, 1416 – 1425.
- Linder, N., Rapola, J., Raivio, K.O. (1999). Cellular expression of xanthine oxidoreductase protein in normal human tissues. *Laboratory Invest*, 79, 967-974.
- Linder, N. (2005). Expression and Regulation of Human Xanthine Oxidoreductase. *Review of the Literature*, 1-47.
- Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V., Bíró, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 119-125.

M

- Marnotte, P., Carrara, A., Dominati, E., Girardot, F.(2006). *Plantes des rizières de camargue*. France. ISBN Cirad, 2-876714-621-5.
- Martelin, E. (2004). Expression and Regulation of Human Xanthine Oxidoreductase, *Review of The Literature*. 1-88.
- Matsuo, H., Chiba, T., Nagamori, S., Nakayama, A., Domoto, H., Phetdee, K., Wiriyasermkul, P., Kikuchi, Y., Oda, T., Nishiyama, J., Nakamura, T., Morimoto, Y., Kamakura, K., Sakurai, Y., Nonoyama, S., Kanai, Y., Shinomiya, N. (2008). Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *American Journal of Human Genetics*, 83, 744–751.
- Mazzali, M., Hughes, J., Kim, Y.G., Jefferson, J.A., Kang, D.H., Gordon, K.L., Lan, H.Y., Kivlighn, S., and Jhonson, R.j. (2001). Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by novel crystal-independent mechanism. *Hypertension*, 38, 1101-1106.
- Moriwaki, Y., Yamamoto, T., Suda, M., Takahashi, S., Agbedana, O.E., Hada, T., Higashino, K. (1993). Purification and immunohistochemical localization of human xanthine oxidase. *Biochem. Biophys. Acta*. 1164, 327-330.
- Meyer, B., Schneider, W., Elstner, E. F. (1995). Antioxidant properties of alcoholic extracts from *fraxinus excelsior*, *Populus termula* and *Solidago virgaurea*. *Arzneimittelforschung* 45(2) 174-6.

- Mo, S.F., Zhou, F., Lv, Y.Z., Hu, Q.H., Zhang, D.M., Kong, L.D. (2007). Hypouricemic action of selected flavonoids in mice: structure–activity relationships. *Biol Pharm Bull*, 30(8), 1551-1556.
- Murray, K.N., Watson, J.G., Chaykin, S. (1966). Catalysis of the direct transfer of oxygen from nicotinamide N-oxide to xanthine by xanthine oxidase. *J. Boil. Chem*, 241, 4798-4801.

N

- Narayana, K.R., Sripal, R.M., Chaluvadi, M.R., Krishna, D.R., (2011). Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential, *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 2-16.
- Nagao, A., Seki, A., Kobayashi, H. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 63, 1787–1790.
- Neascu, M., Micol, V., Pérez-Fons, L., Willfor, S., Holmbom, B., Mallavia, R. (2007). A Novel Antioxidant Phenyl Disaccharide from *Populus termula* Knotwood. *Molecules*, 12, 205-217.
- Nguyen, M.T.T., Awale, S., Tezuka, Y., Tran, Q.L., Watanabe, H., Kadota, S.(2004). Xnthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. *Biol Pharm Bull*, 27(9), 1414-1421.
- Nishino, T., Nishino, T. (1997). The conversion from the dehydrogenase type to the oxidase type of rat liver xanthine dehydrogenase by modification of cysteine residues with fluorodinitrobenzene. *J. Biol. Chem*, 272, 29859-29864.
- Nishion, T. (1994). The conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase and the role of enzyme in reperfusion injury. *J. Biochem*, 116, 1-6.
- Nuki, G. (2006). Gout. *Medicine*, 34(10), 417-423.
- Nyhan, W.L. (2005). Inherited hyperuricemic disorders. *Contrib Nephrol*, 147, 22-34.

O

- Obermayr, R.P., Temml, C., Gutjahr, G., Knechtelsdorfer, M., Oberbauer, R., and Klauser-Braun,R. (2008). Elevated Uric Acid Increases the Risk for Kidney Disease. *Clinical Epidemiology*, 19, 2407–2413.
- Oka, M., Tachibana, M., Noda, K., Inoue. N., Tkana, M., Kuwabara. K. (2007). Revelance of anti-rective oxygen species activity to anti-inflammatory activity of

components of Evipstat, a phytotherapeutic agent for benign prostatic hyperplasia. *Phytomedicine*, 14(14), 465-472.

- Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66, 2012–2031.
- Olson, J.S., Ballou, D.P., Palmer, G., Massey, V. (1974). The mechanism of action of xanthine oxidase. *J. Boil. Chem.* 249, 4363-4382.
- Owen, P.L., and Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 149-160.

P

- Pacher, P., Nivorozhkin, A., Szabó, C. (2006). Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of Allopurinol. *Pharmacol. Rev.* 58, 87-114.
- Psotová, J., Lasovský, J., Vicar, J. (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed. Papers*, 147, 147-153.

Q

- Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'algerie et des regions désertiques méridionales. *C.N.R.S. Paris*, 142,143.

R

- Rohnert, U., Koske, D., Schneider, W., and Elstner, F. (1998). Inhibition by Slix-extract and Phytodolor of copper-catalyzed oxidative destruction. *Z Naturforsch*, 53 (3-4), 233, 40.
- Regianto, A.M., Mount, D.B., Yang, I., Choi, H. k., (20012). The genetics of hyperuricaemia and gout. *Nat Rev R heumatol*, 8(10), 610-621.

S

- Seeta, R.C.S., Kasimanb, K., Gruberc, J., Tangc, S-Y., Wongd, M-C., Change, H-M., Chanf, Y-H., Halliwellc, B., Chen, P. C. (2010). Is uric acid protective or deleterious in acute ischemic stroke? A prospective cohort study. *Atherosclerosis*, 209, 215–219.
- Strazzullo, P., Puig, J.G. (2007). Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 17(6), 409-414.
- Stavric, B., and Nera, E.A., (1978). Use of the uricase-inhibited rat as an animal model in toxicology. *Clin Toxicol.*, 13(1), 47-74.
- So, A., Thorens, B. (2010). Uric acid transport and disease. *J Clin Invest*, 120, 1791-9.
- Squadrito, G.L. (2000). Reaction of uric acid with peroxynitrite and implications for the mechanism of neuroprotection by uric acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 376, 333-337.

T

- Taibi, G., Paganini, A., Gueli, M.C., Ampola, F., and Nicotra, C.M. (2001). Xanthine oxidase catalyzes the synthesis of retinoic acid. *J. Enz. Inh.* 16, 275-285.

U

- Urquiaga, I., Leighton, F. (2000). Plant polyphénols anti-oxidants and oxidative stersse. *Biol. Res*, 33, 2.
- Umair, Z. M., Hundley, N.J., Romero, G., Radi, R., Freeman, B.A., Tarpey, M.M., and Kelley,E.E. (2011). Febuxostat Inhibition of Endothelial-Bound XO: Implications for Targeting Vascular ROS Production. *Free Radic Biol Med*, 51(1), 179–184.
- Unno, T., Sugimoto, A., and Kakuda, T. (2004). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. *Journal of Ethnopharmacology* 93, 391-395.

V

- Van Hoorn, D.E.C., Nijveldt, R.J., Van Leeuwen, P.A.M., Hofman, Z., M'Rabet, L., De Bont, D.B.A., Van Norren, K. (2002). Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. *European Journal of Pharmacology*, 451, 111–118.
- Vitart, V., Rudan, I., Hayward, C. (2008). SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat Genet*, 40, 437-42.
- Von, K. S., Schneider, W., and Elstner, F., (1996). Effects of extracts from *Populus tremula* L., *sioldago virguarea* L. and *Fraxinus excelsior* L. on various myeloperoxidase systems. *Arzneimittel-forschung*, 46(8), 809-14.

W

- Wang, C.P., Xing, W., Xian, Z., Shi, Y.W., Liu, L., Kong, L.D. (2010). Morin Improves Urate Excretion and Kidney Function through Regulation of Renal Organic Ion Transporters in Hyperuricemic Mice, *Pharm Pharmaceut Sci*, 13(3), 411 – 427.
- Watanabe, S., Kang, D. H., Feng, L., Nakagawa, T., Kanellis, J., Lan, H., Mazzali, M., and Richard, J.J. (2002). Uric Acid, Hominoid Evolution, and the Pathogenesis of Salt-Sensitivity. *Hypertension*, 40, 355-360.
- Weiner, D.E., Tighiouart, H., Elsayed, E.F., Griffith, J.L., Salem, D.N., Levey, A.S. (2008). Uric acid and incident kidney disease in the community. *Journal of the American Society Nephrology*, 19, 1204-1655
- Whelton, A. (2012). Hyperuricemia and Hypertension: A Confluence of Concepts. *Hypertension*, 60, 1112-1113.
- Wilhelmy, M., Janecek, S. (2011). La goutte qui fait déborder le vase !, *Le Médecin du Québec*, 47. 98-91.
- Woolfolk, C.A., and Dawnard, J.S. (1977). Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase specificity among bacteria. *Journal of Bacteriology*, 130, 1175-1191.
- Wright, R.M., Vaitailis, G.M., Wilson, C.M., Repine, T.B., Terada, L.S., and Repine, J.E. (1993). cDNA cloning, characterization and tissue-specific expression of human xanthine dehydrogenase/ xanthine oxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 10690-10694.

- Wright, J.D., Wang, C.Y., Kennedy-Stephenson, J., Ervin, R.B. (2003). Dietary intake of ten key nutrients for public health, United States: 1999–2000. *Advance Data*, 334, 1–4.

X

- Xia, M., Dempski, R., and Hille, R. (1999). The reductive half-reaction of xanthine oxidasereaction with aldehyde substrats and identification of the catalytically labile oxygen. *J. Biol. Chem*, 274, 3323-3330.
- Xu, P., Huecksteadt, T., and Hoidal, J.R. (1996). Molecular cloning and characterization of the human xanthine dehydrogenase gene (XDH). *Genomics* 34, 173-180.
- Xu, P., Huecksteadt, T., Harrison, R., and Hoidal, J.R. (1994). Molecular cloning, tissue expression of human xanthine dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun* 199, 998-1004.

Y

- Yokozawa, Y., Chen, C.P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G. I., Nishioka, I. (1998). Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl picrylhydrazylRadical. *Biochemical Pharmacology*, 56, 213–222.
- Yoshisue, K., Masuda, H., Matsushima, E., Ikeda, K., Nagayama, S., and Kawaguchi, Y. (2000). Tissue distribution and biotransformation of potassium oxonate after oral administration of a novel antitumor agent (drug combination of tegafur, 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine and potassium oxonate) to rats. *Drug Metab. Dispos*, 28, 1162-1167.
- Yu, Z.F., Fong, W.P., Cheng, C, H.K. (2006). The dual actions of morin (3,5,7,2-,4_-Pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 316, 169–175.

Z

- Zhang, X-F., Hung, T.M., phuong, P. T., Min, B.S., Song, K-S., Seong, Y. H., and Bae, K-H. (2006). Anti-inflammatory Activity of Flavonoids from *Populus davitina*. *Archives of pharmacal research* 29(12), 1102, 1108.
- Zhu, J.X., Wang, Y., Kong, L.D., Yang, C., Zhang, X. (2004). Effects of *Biota orinietatis* extract and are flavonoid constituent and quercetin and rutin on serum uric acid level in oxonate-induced mice and Xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activites in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology* 93, 133-140.

Dosage des protéines

La méthode de Bradford a été utilisée pour le dosage des protéines dans les homogénats des foies, on utilisant la BSA comme standard.

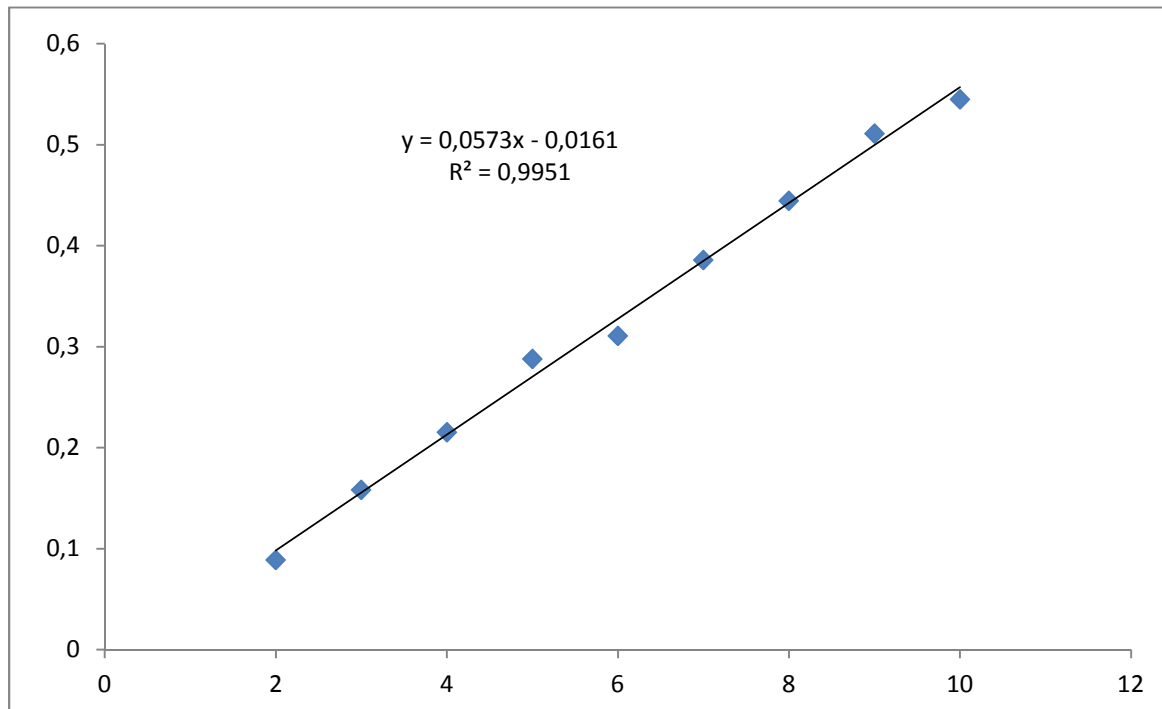


Figure 23 : courbe d'étalonnage.

-Abstract-

The effects of *P.nigra* buds extract on serum urate levels in hyperuricemic mice and the inhibition of xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase activities in mouse liver are evaluated. Hyperuricemia was induced by intraperitoneal injection of 250mg/Kg of potassium oxonate in mice. However, intragastric administration of tested extract (100, 200 and 400mg/ml) produces a significant ($P<0,001$) hypouricemic effect in a dose-dependent manner in hyperuricemic and normal mice. In addition, extract, when tested *in vivo* on mouse liver homogenates, elicited no significant inhibitory actions on the (XDH/XO) activities. These results suggested that hypouricemic effects are in partly due to the inhibition of serum XDH/XO activities and could be explained by the blocking of the renal proximal tubule exchanger URAT1, which reabsorbs uric acid. The effects of tested extract were as potent as that of allopurinol (10mg/ml). Therefore, the pharmacological profile of the extract constituents is different from that of allopurinol. Such hypouricemic action makes it a possible alternative for allopurinol, or at least in combination therapy to minimize the side effects of allopurinol in particular in long term application.

Key word: hyperuricemia, xanthine oxidase, xanthine dehydrogenase, *Populus nigra*

-Résumé-

Les effets de l'extrait des bourgeons de *P.nigra* sur les niveaux de l'urate chez les souris hyperuricémiques et l'inhibition des activités xanthine oxydase/xanthine deshydrogénase hépatique de la souris ont été évalués. L'hyperuricémie était induite par l'injection intrapéritonéale de 250mg/Kg de l'oxonate de potassium chez la souris. Cependant, l'administration intragastrique de l'extrait testé (100, 200 et 400mg/Kg) a causé un effet hypouricémiant très significatif ($P<0,001$) de façon dépendante de la concentration chez les animaux normaux et hyperuricémiques. De plus, l'extrait testé sur les homogénats du foie, n'a révélé aucune inhibition significative sur les activités (XDH/XO). Ces résultats suggèrent que les effets hypouricémiant sont en partie dû à l'inhibition de la XO/XDH sérique et peut être expliquée par le blocage du tubule proximal rénal URAT1 qui réabsorbe l'acide urique. Les effets de l'extrait testé ont montrés la même efficacité que l'allopurinol (10mg/ml). Ainsi, le profile pharmacologique des composés de l'extrait est différent de celui de l'allopurinol. Telle action hypouricémiante, montre que l'extrait est une alternative possible pour l'allopurinol, ou au moins dans une combinaison pour minimiser les effets secondaires de l'allopurinol en particulier suite à une application à long terme.

Mots clés : hyperuricémie, xanthine oxydase, xanthine déshydrogénase et *Populus nigra*.