

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A/MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie physico-chimique

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

Evaluation de l'activité antihyperuricémique *in-vivo* des extraits aqueux des feuilles, graines et l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus*.

Présenté par :

M^r ZAIDI Hicham

Membres du jury :

Président : M^r OUCHEMOUKH S

Promotrice : M^{me} RAHMANI M

Co-promotrice : M^{me} DEBBACHE N

Examineur : M^r HARFI T

Examinatrice : M^{elle} CHERAFT N

Grade et lieu

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

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

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

Assistant

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

Année universitaire : 2013 - 2014

Remerciements

Nos chaleureux remerciements sont adressés à :

La faculté des sciences de la nature et de la vie sous l'égide du Monsieur le Doyen, Pr Atmani. D et à l'ensemble des enseignants du laboratoire de génétique, pour nous avoir ouvert leur porte, afin d'effectuer notre stage, pour leur accueil, leurs conseils et le partage de leurs connaissances.

Nous tenons à exprimer nos profonds respects et remerciements envers notre promotrice Madame RAHMANI M, nous lui exprimons notre éternelle reconnaissance de nous avoir fait l'honneur d'encadrer notre thème de mémoire avec gentillesse et bienveillance. Ainsi que pour son savoir, esprit analytique et son assistance précieuse qu'elle nous eussent enseignés et apportée sans lesquelles ce travail n'aurait pu être mené à bien.

Nos remerciements s'adressent également à notre co-promotrice Madame DEBBACHE N, pour son immense contribution et à la supervision de ce modeste travail, c'est à la fois un privilège et une fabuleuse expérience d'avoir pu bénéficier de ses conseils. Nous sommes très admiratifs à son égard pour sa sagesse, sa grâce et son sens pédagogique.

Nous exprimons notre reconnaissance à Monsieur OUCHEMOUKH S de nous avoir fait l'immense honneur d'être le président du jury prestigieux de l'examinations de ce travail. Nos chaleureux remerciements sont adressés envers Monsieur HARFI. T et Mademoiselle CHERAFT. N qui nous ont accordé l'attention et le privilège d'examiner notre modeste travail.

Nous voulons également remercier M^{lle} AYOUNI. N et M^{me} ATMANI. D pour leurs encouragements et conseils. Nous remercions tout le personnel du laboratoire de génétique Mesdemoiselles Wahiba, Radia et Naima pour leur amitiés, leur sympathies et leurs orientations bienveillantes.

Nous sommes éternellement reconnaissants à nos collègues, nos « aînées », Mesdemoiselles, Zineb, Ghania, Saliha, Lila, Kenza et Nadja, pour leurs généreux appuis, tout en leur souhaitant une excellente continuation dans leur voie entreprise.

Et enfin nos remerciements sont adressés à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Métabolisme de l'acide urique..... 2

I.1. Biosynthèse de l'acide urique2

I.2. Elimination de l'acide urique.....3

I.3. Propriétés biologiques de l'acide urique.....4

II. Xanthine oxydoréductase..... 4

II.1 Caractéristiques biochimiques de La xanthine oxydoréductase.....4

III. Hyperuricémie..... 5

III.1. Causes de l'hyperuricémie.....5

III.2. Implications pathologiques de l'hyperuricémie.....6

III.3. Traitements de l'hyperuricémie.....7

IV. Polyphénols 8

IV.1. Intérêts biologiques des polyphénols 9

V. Description botanique de *Pistacia lentiscus*..... 11

V.1 Etudes phytochimiques de *Pistacia lentiscus*12

V.2. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*12

Partie II : Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	13
I. Matériel.....	13
I.1. Matériel végétal	13
I.2. Animaux et conditions d'élevage	13
II. Méthodes empruntées	15
II.1. Récolte, séchage, broyage et tamisage	15
II.2. Extraction.....	14
II.3. Evaluation de l'activité antihyperuricémique des extraits aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i> ...	16
II.3.1 Induction de l'hyperuricémie expérimentale	16
II.3.2 Expérimentation animale	16
II.3.3. Sacrifice et prélèvement de sang	17
II.3.4. Analyses biochimiques	18
II.3.4.1 Dosage de l'acide urique sérique	18
II.3.4.2. Évaluation de l'activité enzymatique de la xanthine oxidoreductase	18
II.3.4.3. Dosage des protéines totales	19
II.3.5. Evaluation statistique	19
III. Résultats et discussion	20
III.1. Résultats	20
III.1.1. Activité antihyperuricémique des extraits aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i>	20
III.1.1.1. Variation du taux d'acide urique chez les souris normales traitées par les différents extraits	20

III.1.1.2. Variation du niveau d'acide urique chez les souris hyperuricémiques traitées par les différents extraits	21
III.1.1.3. Analyses de l'activité enzymatique la xanthine oxydoréductase	23
III.2. Discussion	27
Conclusion	32
Références bibliographiques	33
Annexes	

Liste des abréviations

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

ADN: Acide désoxyribonucléique.

Allo: Allopurinol.

AMP : Adénosine mono-phosphate

BSA: albumine serum bovin.

CMC: Carboxy-méthyl cellulose.

Da: Dalton.

EDTA : acide éthylène diamine tétra acétique.

GLUT9 : Glucose Transporter 9.

HCl : Acide chlorhydrique.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

HGPRT : Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransférase

KCl : Chlorure de potassium.

mURAT1 : Urate acide Transporter 1 messenger.

NAD⁺: Nicotinamide adénine dinucléotide.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

O₂⁻ : Superoxide.

OAT 1-3: Organic anion transporter 1-3.

OCT 1-2: Organic cation transporter 1-2.

P. lentiscus: *Pistacia lentiscus*.

PMSF: Phenylmethylsulfonyl fluoride

SEM: Standard error of the mean.

URAT1: Urate transporter 1.

XDH: Xanthine déshydrogénase.

XO: Xanthine oxydase.

XOR : Xanthine oxydoréductase.

Leste des figures

Figure 1 : Métabolisme de l'acide urique	2
Figure 2 : Régulation rénale de la réabsorption et l'élimination l'acide urique	3
Figure 3 : L'oxydation de la xanthine en acide urique par la XO/XDH	4
Figure 4 : Photographies (a) : feuilles, (b) : graines, (c) : écorce des racines de <i>P. lentiscus</i> (originale).....	13
Figure 5 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction (Atmani et <i>al.</i> , 2009).....	15
Figure 6 : Effet antihyperuricémique des extraits aqueux de feuilles, graines et écorce des racines de <i>Pistacia lentiscus</i> chez les souris normales.....	20
Figure 7 : Effet antihyperuricémique des extraits aqueux de feuilles, des graines, et écorce des racines de <i>Pistacia lentiscus</i> hyperuricémiques.....	22

Liste des tableaux

Tableau I : Principales classes de composés phénoliques	9
Tableau II : Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i>	11
Tableau III : Répartition des groupes de souris et leurs administrations respectives.....	17
Tableau IV : Effet de l'extrait aqueux des feuilles de <i>P. lentiscus</i> sur l'activité XO/XDH.....	24
Tableau V : Effet de l'extrait aqueux des gaines de <i>P. lentiscus</i> sur l'activité XO/XDH.....	25
Tableau VI : Effet de l'extrait aqueux de l'écorce de <i>P. lentiscus</i> sur l'activité XO/XDH.....	26

INTRODUCTION

Introduction

Les remèdes traditionnels à base de plantes ont toujours fait partie de façon intégrante dans la vie des Hommes pour le traitement de diverses maladies. L'histoire est marquée par des visionnaires qui se sont dévoués pour ces vertus prodigieuses de la nature tel que Ibn-Sina connu pour son ouvrage « The canon of medicine » (Smith., 1980).

Les vertus des plantes doivent leurs activités biologiques aux métabolites secondaires. Au fil des décennies de recherche ont caractérisé que les polyphénols sont répandus dans tout l'appareil végétatif des plantes. Ainsi ces molécules actives représentent un grand intérêt par leurs effets bénéfiques pour la santé notamment comme agents antioxydants, anti-cancéreux, anti-inflammatoires, et neuro-protecteurs (Kamatou et *al.*, 2009 ; Beta et *al.*, 2005). Par ailleurs, l'utilisation d'extrait de plantes médicinales sont souvent sollicitées dans la thérapeutique des différents désordres métaboliques, comme la maladie tristement célèbre : la maladie de la goutte qui est liée de façon directe à une hyperuricémie (De Souza et *al.*, 2012).

L'hyperuricémie est la conséquence d'un désordre métabolique causée par une production excessive d'urate et/ou d'une excrétion rénale affaiblie de l'acide urique d'où son accumulation dans l'organisme. L'implication pathologique de l'hyperuricémie est étroitement liée dans la maladie de la goutte, l'hypertension artérielle, le diabète et l'obésité (Tsouli et *al.*, 2006).

Le traitement de l'hyperuricémie repose sur l'allopurinol, un inhibiteur synthétique de xanthine oxydoréductase qui par son action catalytique oxyde la xanthine issue du métabolisme des purines en acide urique. L'approche thérapeutique par l'allopurinol entraîne à long terme chez les patients, des effets indésirables engendrant de graves conséquences telles que des réactions d'hypersensibilité, hépatites et insuffisance rénale (Dubost et *al.*, 2011).

De nombreuses études font état d'investigation sur l'activité anti-hyperuricémique qui repose sur le principe de l'augmentation de l'excrétion rénale de l'acide urique et sur le potentiel inhibiteur de la xanthine oxydoréductase par les extraits de plantes, déjouant ainsi les dommages collatéraux des traitements synthétiques (Lee et *al.*, 2008).

Dans cette optique de recherche nous nous sommes intéressés au potentiel antihyperuricémique *in-vivo* d'une plante médicinale : *Pistacia lentiscus* utilisée en médecine traditionnelle pour prévenir et traiter la maladie de la goutte.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

Synthèse bibliographique

I. Métabolisme de l'acide urique

L'acide urique est un composé organique dont la formule brute correspond à $C_5N_4O_3H_4$. Il est répandu dans tout l'organisme où dans les conditions physiologiques, celui-ci subsiste de façon dominante sous sa forme anionique : d'urate mono-sodique (Takano et *al.*, 2005).

I.1. Biosynthèse de l'acide urique

L'acide urique est issu de la synthèse de novo des purines, du métabolisme des acides nucléiques d'origine endogène et provient également du catabolisme des purines présents abondamment dans les aliments tels que la viande. Ces réactions ont en commun la formation de l'acide urique par l'intermédiaire de la xanthine oxydoréductase qui catalyse l'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (figure1) (Le Treut, 2010).

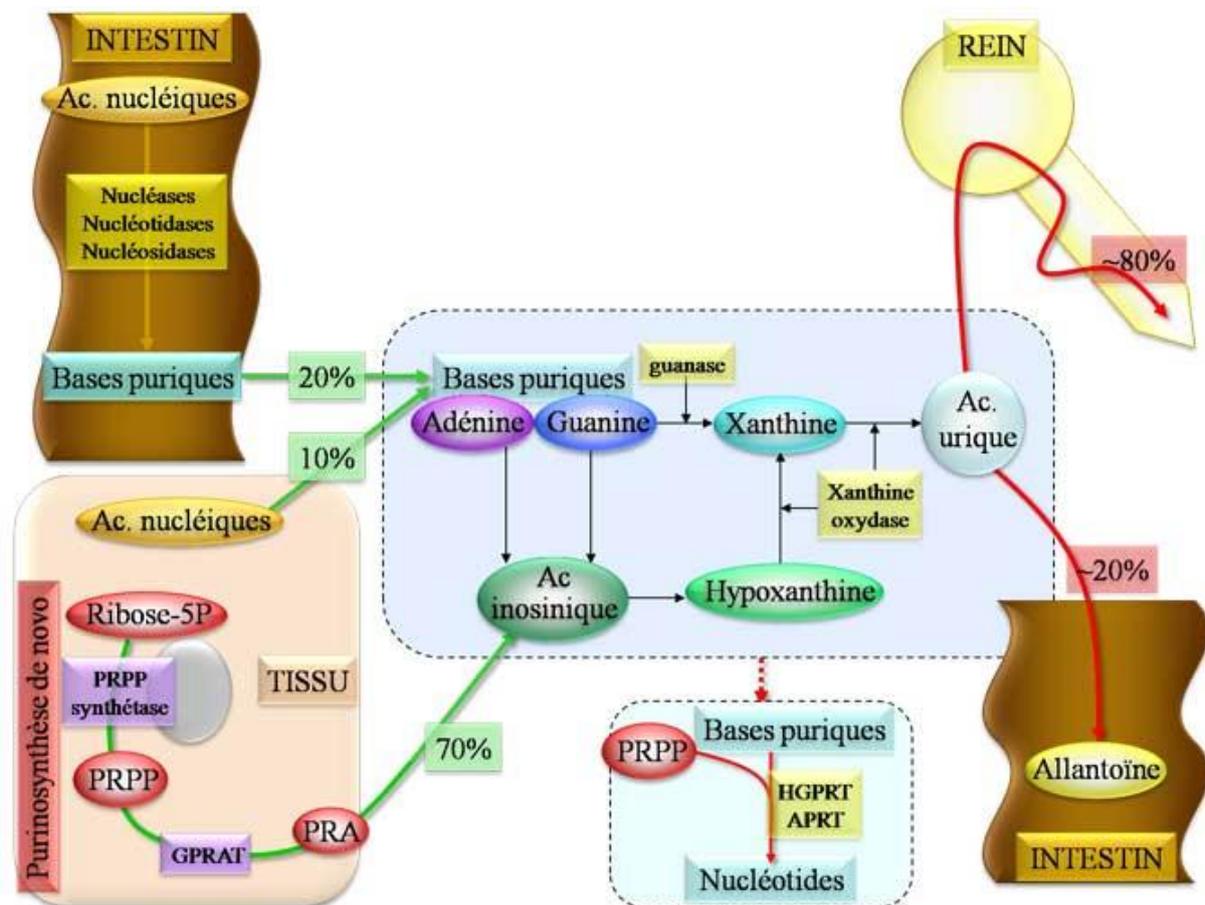


Figure 1 : Métabolisme de l'acide urique (Le Treut, 2010).

I.2. Elimination de l'acide urique

L'élimination de l'acide urique chez les mammifères est réalisée par l'uricase, enzyme capable de transformer l'acide urique, par uricolyse en allantoiné qui est 10 fois plus soluble dans le plasma que l'urate. Une différence est marquée entre les primates supérieurs dont l'Homme et les autres mammifères par l'absence de l'uricase, cela s'explique par deux mutations faux sens au niveau du gène de cette enzyme chez les hominidés (Seet *et al.*, 2009). Néanmoins, il subsiste d'autres mécanismes d'élimination de l'acide urique. En effet l'excrétion de l'urate se fait au environ de 20% par voie intestinale, par uricolyse de la flore intestinale et essentiellement à 80% par voie rénale. L'homéostasie de l'urate repose sur la réabsorption et l'élimination de ce dernier. Cette régulation est régit par les transporteurs : URAT1 (Urate transporter 1) et GLUT 9 (Glucose transporter 9) qui ont la fonction de réabsorber l'urate au niveau du tubule proximal rénale (Hou *et al.*, 2012). Autres transporteurs : OAT 1, OAT3 (transporteur anionique organique 1et3). L'urate est transporté du côté basal vers l'intérieur des cellules épithéliales via OAT1 et OAT3 en échange d'anions carbohydrates. L'urate intracellulaire est sécrété dans les urines par les transporteurs ABCG2 et les co-transporteurs sodium/phosphate (NPT) (figure2) (Ea, 2011 ; Wong *et al.*, 2012).

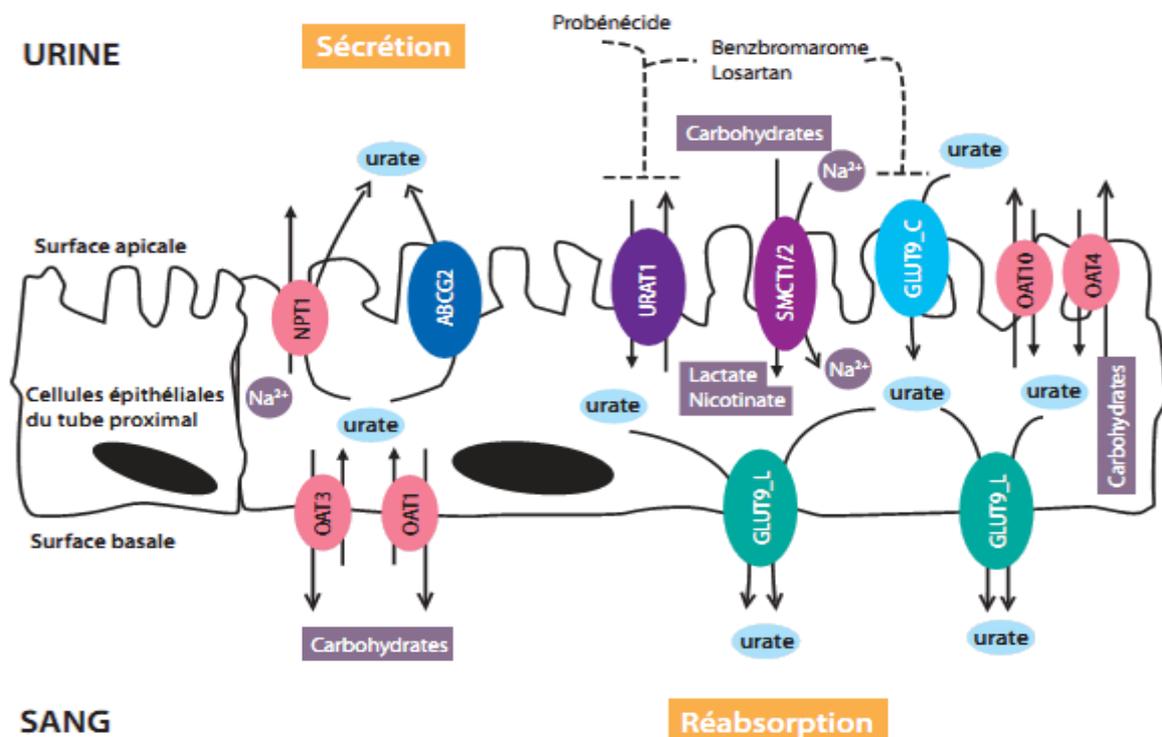


Figure 2 : Régulation rénale de la réabsorption et l'élimination l'acide urique (Ea, 2011).

I.3. Propriétés biologiques de l'acide urique

Des études exhaustives convergent toutes vers la même constatation que l'acide urique est doué d'importantes propriétés biologiques. En effet, l'urate exerce une activité antioxydante en réduisant les radicaux libres tels que le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), peroxy ($\text{ROO}\cdot$) et le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$) et parallèlement comme chélateur de fer, ce dernier étant source d'autres espèces réactives de l'oxygène (Ames et *al.*, 1981 ; Strazzullo et Puig, 2007). L'acide urique pourrait contribuer dans la prévention de maladies neurodégénératives telle que la maladie de parkinson (Gagliardi et *al.*, 2008 ; Seet et *al.*, 2009).

II. La xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase est une enzyme largement distribuée dans les organismes vivants : les bactéries, le règne végétal et animal. (Kooij et *al.*, 1992). La XOR est présente dans le lait où elle exerce une activité antimicrobienne, le liquide synovial et localisée en grande concentration dans le cytoplasme et la membrane cellulaires des cellules hépatiques (Parks et Granger, 1986 ; Oliviero et *al.*, 2012).

II.1. Caractéristiques biochimiques de La xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase est un complexe molybdoflavoenzyme d'environ 300 Kd, constitué d'homo-dimère. Cette enzyme se présente sous deux formes: forme déshydrogénase (XDH) dépendante du cofacteur NAD^+ , utilisé comme accepteur d'électrons et sous la forme oxydase (XO) qui réduit l'oxygène moléculaire étant accepteur final d'électrons issus de l'hydroxylation de l'hypoxanthine et de la xanthine. La réduction de l'oxygène conduit à la formation de $\text{O}_2^{\cdot-}$ et convertie en H_2O_2 par la superoxide dismutase (figure 3) (Allen et *al.*, 1987).

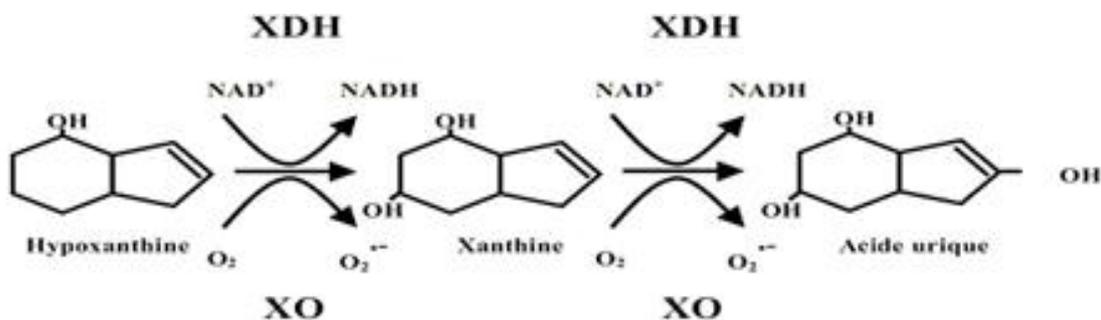


Figure 3 : L'oxydation de la xanthine en acide urique par la XO/XDH (Coriat, 2012)

Le traitement de la XOR par des protéases conduit à la formation de la forme XO irréversible (Ayama et *al.*, 1990). La conversion réversible se produit par l'oxydation des groupements sulfhydriles [SH] (Mellado et *al.*, 2007 ; Corpas et *al.*, 2008).

III. L'hyperuricémie

L'hyperuricémie est une anomalie biochimique, résultante d'une production excessive d'urate et/ou d'une élimination diminuée d'acide urique. L'acide urique est un composé qui résulte de la synthèse de novo de purine, du catabolisme des acides nucléiques et des apports alimentaires riches en purines. Par conséquent, un déséquilibre métabolique de l'urate conduit à son accumulation dans l'organisme où sa concentration sérique supérieur à 70mg/dl (420 μ mol/l) est considérée en excès (Terkeltaub, 2003). Cette concentration représente la limite de la solubilité de l'acide urique favorisant ainsi la cristallisation en urate monosodium est à l'origine des polyarthrites goutteuses ou même de calculs rénaux (Ea, 2011 ; Lioté, 2012).

III.1. Causes de l'hyperuricémie

L'hyperuricémie est liée à des facteurs qui influencent de façon directe ou indirecte le niveau de l'acide urique dans l'organisme.

❖ Le facteur génétique

L'élimination de l'acide urique par voie rénale dépend essentiellement des transporteurs au niveau du tubule proximal rénal. Ainsi une mutation au niveau des gènes des transporteur1 de l'urate: URAT1 (codé par le gène SLC22A12) et GLUT9 (codé par le gène SLC2A9) abouti au final à une réabsorption rénale accrue de l'urate (Mellado et *al.*, 2007 ; Li et *al.*, 2012). D'autre part un défaut dans la régulation de l'expression génique des transporteurs anioniques organiques 1et 3 (OAT 1 et 3 codé par le gène SLC22A6 et SCLC22A8), diminue l'excrétion de l'urate par voie rénale (So, 2007 ; Hu et *al.*, 2010). En outre les hommes semblent plus probables de développer une hyperuricémie que les femmes. Ceci d'une part, des déficiences gonosomales induisant une hyperuricémie touchant uniquement le sexe masculin tel que le déficit du gène HGPRT (syndrome de Lesch Nyhan) (Meyer, 2011). D'autre part, les œstrogènes effectuent un effet hypouricémiant de façon diurétique (Bardin, 2011).

❖ L'hygiène de vie

Une alimentation abusive riche en purine : viandes, fruits de mer, et le tabagisme par son effet cytotoxique augmente le risque d'observer une hyperuricémie. L'alcoolisme favorise une élévation de la concentration sérique de l'acide urique. L'oxydation de l'alcool abouti à l'hyperproduction de lactate à action anti-uricosurique. L'éthanol est métabolisé en acétyle

coenzyme A conduit à la formation l'AMP précurseur de l'acide urique (Ea., 2011 ; Leiba et *al.*, 2012).

III.2. Les implications pathologiques de l'hyperuricémie

La concentration excessive de l'acide urique dans l'organisme est liée dans la manifestation de divers pathologies telles que la maladie de la goutte, l'hypertension artérielle, le diabète.

❖ la maladie de la goutte

L'arthrite goutteuse aigüe ou communément la goutte est la conséquence d'une concentration excessive de l'acide urique dans l'organisme, dépassant ainsi le seuil de solubilité pour former des cristaux d'urate mono sodique qui se précipitent dans les articulations. Le recrutement des cellules immunitaires dirigées contre les cristaux d'urate de sodium sont à l'origine des réactions inflammatoires qui poquent des douleurs articulaires insoutenable (Smith et *al* 1980 ; Emmerson, 2014). Autres symptômes de la crise de goutte : les tophis, ce sont des hypertrophie tissulaires causées par le dépôt des cristaux d'urate monosodium dans le pavillon de l'oreille, les doigts et les orteils (Mirriman et Dalbeth 2010 ; Chales, 2011).

❖ L'hypertension artérielle

L'acide urique stimule directement le système rénine-angiotensine et induit une vasoconstriction et une augmentation de la pression glomulaire. Par ailleurs, il inhibine la synthèse du monoxyde d'azote (NO \cdot) par les cellules endothéliale, responsable de la vasodilatation. Tous ces facteurs réunis manifestent une hypertension artérielle (Perlstein et *al.*, 2004 ; Lippi et *al.*, 2008).

❖ Le diabète

L'hyperuricémie est précurseur de la lithiase urique due à une cristallisation de l'acide urique au niveau rénal. Ce facteur est lié à l'insulino-résistance caractéristique du diabète de type 2 (Eraly et *al* ., 2008 ; Feig et *al.*, 2009).

III.3. Les traitements de l'hyperuricémie

Les médicaments thérapeutiques sont indiqués dans le traitement des états d'hyperuricémie associés à des manifestations pathologiques. Ils sont répartis en 3 catégories de classe thérapeutique :

❖ Les inhibiteurs de synthèses de la xanthine oxydoréductase

L'allopurinol est un analogue de la xanthine qui participe à une inhibition compétitive de la XOR, par conséquent la synthèse de l'acide urique est considérablement réduite. À long terme, ce traitement peut aboutir à l'apparition d'effets secondaires marqués par des hypersensibilités cutanées (rache), insuffisances rénales et hépatites (Ernst et Fravel, 2009 ; Wang et *al.*, 2010)

Une autre molécule a été élaborée : le febuxostat, aussi efficace que l'allopurinol avec des effets indésirables moins intenses. Il pourrait être une alternative aux patients intolérables à l'allopurinol. Toutefois, le febuxostat fait l'objet de pharmacovigilance, susceptible d'avoir des effets délétères sur le foie et le réseau cardiovasculaire (Gaffo et Saag, 2009 ; Poon et *al.*, 2009).

❖ Les uricosuriques

La classe des uricosuriques est représentée par le probénécide et le benzbromarone. Ils agissent en diminuant la réabsorption tubulaire de l'acide urique en inhibant les transporteurs de l'urate en l'occurrence URAT1 et GLUT9 et dans une moindre mesure en augmentant sa sécrétion tubulaire via le transporteur anionique organique OAT1. Les uricosuriques sont préconisés en cas d'intolérance sévère à l'allopurinol mais ils sont caractérisés par le risque d'induire des lithiases urinaires, responsables de coliques néphrétiques (Boussert et *al.*, 2003; Dubost et *al.*, 2011).

❖ Les uricolytiques :

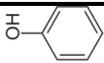
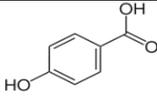
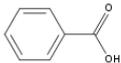
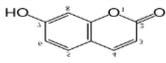
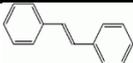
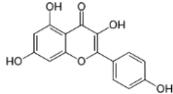
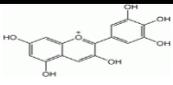
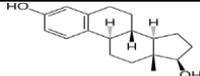
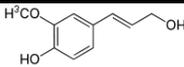
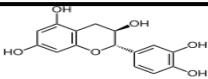
Enzyme urate-oxydase recombinée qui catalyse l'oxydation de l'acide urique en allantoïne dont la solubilité est 10 fois supérieure dans le plasma que l'urate, ce qui facilite l'excrétion par voie rénale. Ce type de traitement est souvent sollicité lors des chimiothérapies mais toutefois comporte l'apparition de réactions d'hypersensibilités de haut grade (Garay et *al.*, 2012).

L'hyperuricémie et la goutte, l'une comme précurseur et l'autre comme conséquence, sont liées à des facteurs génétiques ou environnementaux. Les progrès technologiques ont permis, de remédier à ces affections par des traitements plus ciblés mais qui présentent des dommages collatéraux sur l'organisme. On assiste à une reprise de flambeau par des recherches modernes pour tenter de découvrir les principes actifs des remèdes ancestrales antihyperuricémiques, identifiés comme étant les polyphénols.

IV. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répartis dans le règne végétal et présents dans tout l'appareil végétatif des plantes. La structure des composés phénoliques est caractérisée par la présence de groupement phénols ainsi que d'autres groupements fonctionnels (hydroxyle, carboxylique) (Beta et al. 2005). Cette diversité structurale aboutit à la formation de nombreuses classes, certaines d'entre elles sont rassemblées dans le tableau I.

Tableau I : principales classes de composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Marcheix, 2006)

Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C6	Phénols simples	hydrpquinone		busserole
C6-C1	Acide hydroxybenzoïque	Acide p-hydroxybenzoïque		fraises
C6-C3	Acide hydroxycinnamique	Acide p-coumarique		Tomate
	Coumarine	Ombélliférone		Carotte
C6-C4	Naphtoquinone	juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	stilbéne		Raisins
C6-C3-C6	flavonols	Kaempférol		Fraises
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisins
(C6-C3) _n	Lignanes	Entérodiol		Bactérie intestinale
(C6-C3) ₂	Lignines	Alcool coniférylique		Bois
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Catéchine		Raisins

IV.1. Intérêts biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont responsables des aspects morphologiques des plantes. Les flavonoïdes par exemple les anthocyanidines procurent la pigmentation des feuilles, des fruits. Les polyphénols sont impliqués dans la croissance cellulaire et capable de contrer les attaques des insectes et les microorganismes. Du point de vue nutritionnel, les polyphénols représentent un intérêt bénéfique pour la santé par leurs activités biologiques telles que l'activité antioxydante, inflammatoire, l'inhibition enzymatique et notamment dans le traitement de l'hyperuricémie (Chen et *al.*, 2011 ; Srivastava et *al.*, 2012 ; Silva et *al.*, 2013).

❖ Activité uricosurique

Les polyphénols ont la propriété d'inhiber les transporteurs du tubule proximal rénal URAT1 et GLUT9 ; ainsi qu'une modulation sur l'expression des gènes des transporteurs anioniques organiques 1 et 3 (OAT 1 et 3). Ces mécanismes aboutissent à la réduction de la réabsorption tubulaire distale ainsi que l'élimination accrue de l'acide urique (Lin et *al.*, 2002 ; Hou et *al.*, 2012 ; Shi et *al.*, 2012).

❖ Inhibition de la xanthine oxydase

les flavonoïdes tels que les flavonols et les flavones représentés respectivement par la Quercétine et lutéoline par ont la capacité à inactiver la xanthine oxydase. Leur structure est caractérisée par la présence de groupements phénols en C5 et C7, d'une double liaison C2-C3 responsable de l'inhibition de la xanthine oxydase. (Cos et *al.*, 1998 ; Cottele et *al.*, 2001)

Les tanins sont le résultat de la polymérisation des flavonoïdes. Ces composés ont un effet inhibiteur sur l'activité de la xanthine oxydase via les groupements fonctionnels portés par le noyau phénolique (Maicheix, 2005).

❖ Activité antioxydante

Les flavonoïdes sont doués d'activité antioxydante par leur capacité à réduire des espèces réactives à l'oxygène instables qui sont responsables de lésions génétiques tel le radical hydroxyle (OH·) (Lehucher-Michel et *al.*, 2001). La structure des flavonoïdes leur confère la prédisposition de piéger les (ERO). Les terpènes tels que l' α -tocophérol (vitamine E) stabilise les acides gras insaturés et protège la membrane cytoplasmique de la peroxydation lipidique à l'origine des dommages cellulaires (Palloza et Krinsky, 1992).

V. Description botanique de *Pistacia lentiscus*

❖ Taxonomie

Le genre *pistacia* comporte plusieurs espèces : *Pistacia atlantica*, *Pistacia chinensis*, *Pistacia integerrima*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia mexicana*, *Pistacia terebinthes*

La taxonomie de l'espèce investiguée par la présente étude est dans le tableau II

Tableau II : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* (Ansari et al., 2012).

Règne	Plantae.
Embranchement	Spermatophyte
Classe	Dicotylédones.
Ordre	Sapindales.
Famille	Anacardiaceae.
Genre	<i>Pistacia</i> .
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> .

❖ Morphologie de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus est un arbuste pouvant atteindre 3 mètres. Les feuilles sont persistantes, ont un nombre variant entre 2 et 12 folioles pointues.

Le fruit est une baie comestible, arrondie, d'environ cinq millimètres. D'abord de couleur rouge, puis devient noire à maturité (More et White, 2005 ; Mezni et al., 2012).

❖ Localisation géographique

Pistacia lentiscus est un arbuste très largement distribué dans tout le bassin méditerranéen. La plante s'appuie dans le massif forestier et le maquis nord-africain. C'est une espèce qui pousse dans tout type de sol mais préfère les terrains siliceux (Castola et al., 2000). Le lentisque dans les régions kabyles est nommé localement « amadegh ». Les graines sont communément appelées « Tideks »

❖ Utilisation traditionnelle

En médecine traditionnelle, Les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont utilisées sous forme d'infusion pour traiter la maladie de la goutte, la résine est utilisée pour traiter les ulcères d'estomac. Elle est sollicitée pour ses vertus : anti-inflammatoire, hépatoprotéctive (jaunisse) et

anti-ulcère. L'huile fixe est utilisée pour le traitement des varices, la lourdeur des jambes, et des hémorroïdes. Les graines peuvent être préparées en les faisant bouillir ou grillées avec du

blé concassé, aspergées d'huile d'olive. Cette préparation est notamment appréciée dans les régions Est de l'Algérie (Delille, 2007 ; Dellai et al., 2013).

V.1. Composition chimique de *Pistacia lentiscus*

Au cours d'études phytochimiques, les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été analysées par la chromatographie HPLC qui révèle la composition en Kaempferol-3-glucoside, la Catéchine Quercetin-3-O-glucoside, la Lutéoline, la Myricétine, et l'acide Gallique (Rodriguez-Pérez et al., 2013). L'huile essentielle est constituée de terpènes : monoterpènes, sesquiterpènes (Romani et al., 2002 ; Chryssavgi et al., 2007).

D'après une analyse des graines de *Pistacia lentiscus* par la chromatographie HPLC, Trois composés chimiques qui constituent les anthocyanidines ont été isolés à partir des graines de *Pistacia lentiscus* : Delphinidine 3-O- glucoside, Cyanidine 3-O-glucoside et Cyanidine 3-O-arabinoside (Longo et al., 2007). Une autre étude effectuée par Abdelwahed et ses collaborateurs (2007) établie la présence de l'acide gallique et le penta-golloylylucose dans cette même partie de la plante.

V.2. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*

L'évaluation des activités biologiques potentielles de *Pistacia lentiscus* a fait l'objet de nombreuses études scientifiques. Les travaux de Janakat et Al-Merie (2002) qui ont démontré que l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* a une activité hépatoprotéctive. Par ailleurs, des études *in vitro* et *in vivo* révèlent que *Pistacia lentiscus* est douée d'activités antioxydantes, anti-inflammatoires et neuro-protectives. Les huiles essentielles de *pistacia lentiscus* présente des effets antifongique, antimicrobienne et antiulcéreux (Castola et al., 2000; Ljubuncic et al., 2005 ; Chryssavgi et al., 2007).

L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'activité anti-hyperuricémique *in-vivo* des extraits aqueux de chloroforme des feuilles, fruits et l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus*.

*MATÉRIEL ET
MÉTHODES*

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* (a) ont été échantillonnées dans la ville d'Amizour, une région loin de tout impact de pollution durant la période de juin et juillet 2013. Tandis que les fruits (b) et l'écorce des racines (c), la récolte a été faite en novembre de la même année.

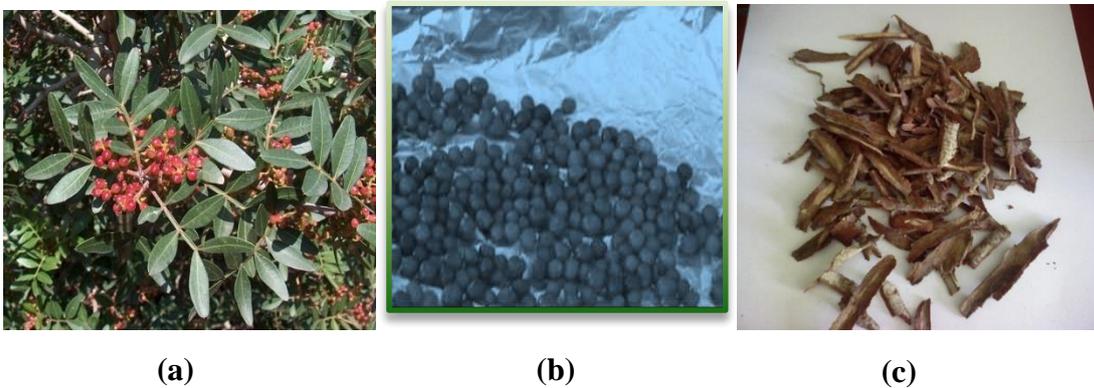


Figure 4 : Photographies (a) : feuilles, (b) : graines, (c) : écorce des racines de *P. lentiscus* (originale).

I.2. Animaux et conditions d'élevage

Les animaux d'expérience sont des souris males albinos (Institut Pasteur, Alger) ayant par un poids compris entre 22-30 g et d'un âge aux environ de six semaines. Dès leur réception, les souris sont maintenues dans une animalerie à température constante (25 ± 2) °C soumises à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h. Les animaux ont été placés en groupe de huit dans des cages standards d'élevage, avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. Les souris ont été acclimatées pendant une semaine à ces conditions avant de passer aux tests d'activité anti-hyperuricémique.

II. Les méthodes empruntées

II.1. Récolte, séchage, broyage et tamisage

Les trois parties de la plantes ont été séchées à l'ombre, ensuite broyées et tamisées (feuilles et écorce des racines). Quant aux fruits, une patte huileuse est obtenue directement après le broyage.

II.2. Extraction

L'extraction a été réalisée selon le protocole de Atmani et *al* (2009). Il consiste en une macération de la poudre de différentes parties de *P lentiscus* dans de l'éthanol (p : v, 1:4) pendant 24 heures. Après décantation, le surnagent a été récupéré et mis à évaporation totale, à température ambiante. L'extrait éthanolique est soumis par la suite à une partition liquide-liquide dans un mélange de solvant, acétate d'éthyle et eau (v :v, 3 :1). Les deux phases ont été séparées et mis à sécher. Ainsi les extraits organiques et aqueux d'acétate d'éthyle ont été obtenus. De même, l'extrait organique d'acétate d'éthyle a subi une partition dans un mélange de solvant, à savoir chloroforme et eau (v : v, 3 :1). La séparation des deux phases et leur séchage produit l'extrait organique et aqueux de chloroforme. Ce dernier fera l'objet des tests ultérieurs. Le figure 8 suivant illustre les étapes de l'extraction.

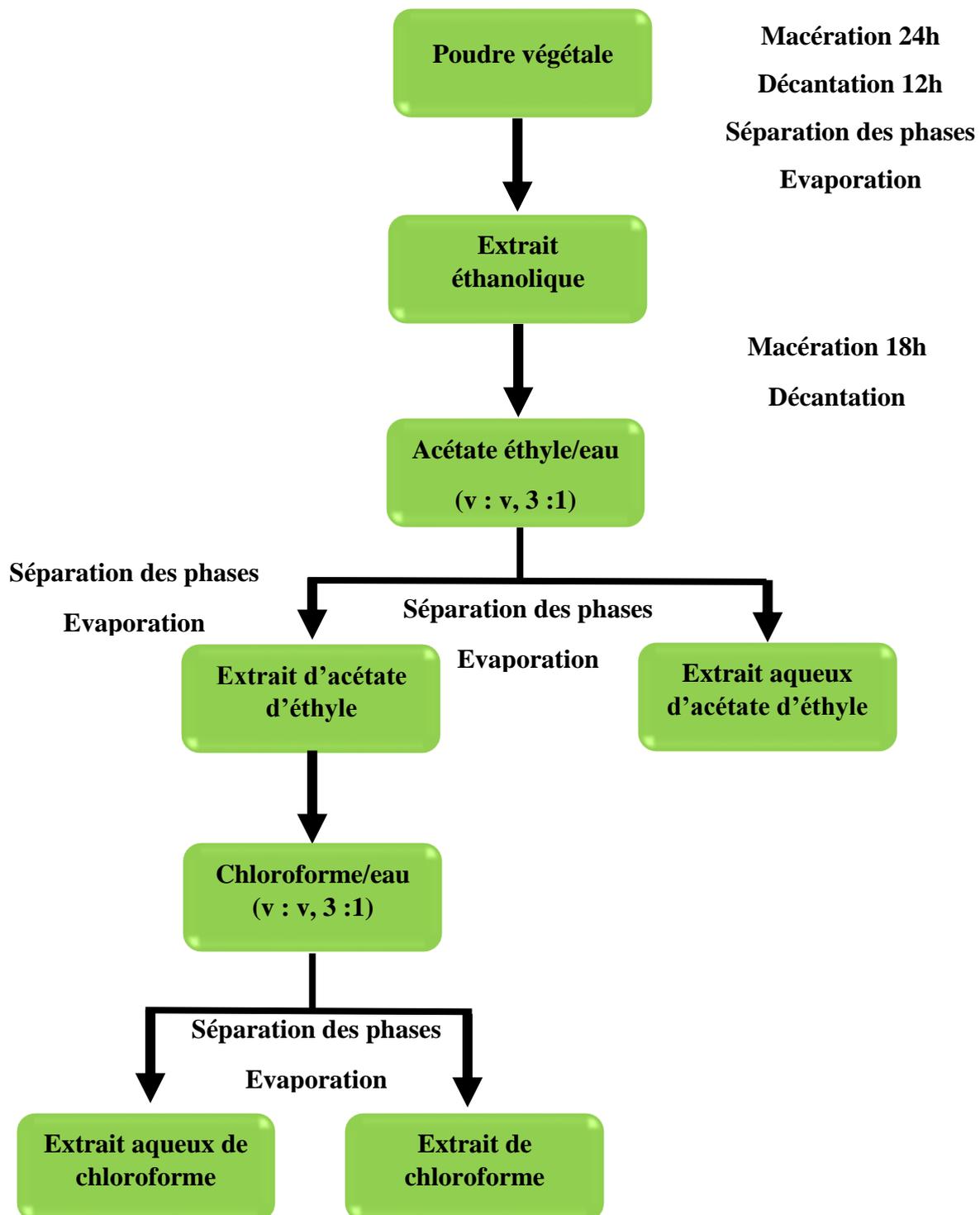


Figure 5 : Schéma récapitulatif des étapes du procédé d'extraction (Atmani et *al.*, 2009).

II.3. Evaluation de l'activité antihyperuricémique des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus*

II.3.1 Induction de l'hyperuricémie expérimentale

Afin d'évaluer l'activité antihyperuricémique des extraits aqueux de *P. lentiscus*, un modèle de souris hyperuricémiques induit par l'oxonate de potassium qui est un inhibiteur compétitif de l'uricase, ce qui provoque une accumulation de l'urate dans l'organisme donnant ainsi une hyperuricémie. L'administration de l'oxonate de potassium est effectuée par voie intrapéritonéale (250 mg/Kg de poids corporels) (Hall et *al.*, 1990 ; Zhu et *al.*, 2004).

II.3.2 Expérimentation animale

Les animaux ont été répartis en 22 lots de huit souris, ayant un poids homogène. Au début de chaque expérimentation, les souris sont mises à jeun, 90 min avant les différents traitements. Les groupes contrôles et tests ont reçu respectivement une dose proportionnelle à leur poids d'eau distillée stérile et d'oxonate de potassium par voie intra-péritonéale (250mg/kg de poids de souris). Après une heure, les souris ont été traitées par voie orale avec différentes doses d'extrait aqueux des trois parties de plante dissous dans du CMC (0,8%). L'allopurinol (10mg/kg) a été utilisé comme molécule de référence.

L'expérimentation a été effectuée pour les extraits des trois différentes parties de *Pistacia lentiscus* à savoir les feuilles, les graines et l'écorce des racines et ce pendant 3 jours successifs avec un intervalle de 24 heures de traitement. La répartition des groupes et leurs administrations respectives est présentée dans le tableau III.

Tableau III : Répartition des groupes de souris et leurs administrations respectives.

	Groupes	1ère administration	2ème administration
		Intra-péritonéale	Intra-gastrique
Souris normales	Véhicule	eau distillée	CMC 0, 8%
	Control 25	eau distillée	extrait 25 mg/ Kg
	Control 50	eau distillée	extrait 50 mg/ Kg
	Control 100	eau distillée	extrait 100 mg/Kg
	Allopurinol	eau distillée	Allopurinol 10 mg/ Kg
Souris hyperuricémiques	Test	Oxonate de potassium	CMC 0, 8%
	Test 25	Oxonate de potassium	extrait 25 mg/ Kg
	Test 50	Oxonate de potassium	extrait 50 mg/ Kg
	Test 100	Oxonate de potassium	extrait 100 mg/Kg
	Allopurinol	Oxonate de potassium	Allopurinol 10 mg/ Kg

II.3.3. Sacrifice et prélèvement de sang

Au bout de trois jours de traitement, les souris ont été sacrifiées une heure après leurs traitements. Le sang est collecté pour le dosage de l'acide urique ainsi que le foie est prélevé pour le dosage des formes enzymatiques de la XOR.

❖ Préparation des sérums sanguins

Les échantillons sanguins récupérés ont été mis dans l'étuve à 37°C pendant 5 min puis centrifugés à 5000 g pendant 10 min. Une fois le sérum récupéré, il est conservé à -20°C jusqu'à l'utilisation.

❖ Préparation des homogénats du foie

Après la dissection des souris, le foie est directement prélevé et lavé dans du KCl glacial. La préparation des homogénats hépatiques commence d'abord par le broyage du foie dans du tampon phosphate contenant : 0,05M d'EDTA, et 0,01M de PMSF (10%, p : v). L'homogénat a été centrifugé à 5000 g durant 10 min. Le surnageant est centrifugé encore une fois à 5000 g pendant 10 min. Le surnageant final est conservé à -80°C jusqu'à l'utilisation.

II.3.4. Analyses biochimiques

Pour évaluer le potentiel antihyperuricémique des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus*, un dosage de l'acide urique sérique et une évaluation de l'activité enzymatique de la xanthine oxidoreductase hépatique a été réalisée.

II.3.4.1 Dosage de l'acide urique sérique

Le dosage de l'acide urique a été réalisé à l'aide d'un kit commercial qui repose sur un dosage colorimétrique. L'acide urique est converti par l'uricase en allantoïne et en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier sous l'action catalytique de la peroxydase oxyde la 4-aminoantipyrine (4-AAP) et l'acide 2, 4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoïque (TBHB), forme un complexe quinoneimine rosé et la concentration est déterminée par spectrophotométrie. Ainsi 25µl de sérum est ajouté à 1ml de réactif de dosage, suivie d'une incubation pendant 10 min à température ambiante. La lecture d'absorbance a été faite à 520 nm et la concentration en acide urique des échantillons est exprimée en mg/dl selon l'équation suivante :

$$[\text{Acide urique sérique}] = \frac{\text{absorbance (échantillon)}}{\text{absorbance standard}} \times 6 \text{ mg/dl} ;$$

$$[\text{acide urique standard}] = 6 \text{ mg /dl}$$

II.3.4.2. Évaluation de l'activité enzymatique de la xanthine oxidoreductase

L'évaluation de l'activité enzymatique de la xanthine oxidoreductase repose essentiellement sur la détermination de la concentration de l'acide urique produit au cours de la préparation suivante :

➤ le milieu renferme du tampon phosphate (0,05M; pH=7.5) auquel sont ajoutés 100 µl d'homogénat, 1 ml d'oxonate de potassium (1mM) et 0,5 ml de NAD⁺ (200 µM) pour la mesure de l'activité XOR

➤ La préparation a été mise en incubation à 37°C pendant 15 min. Ainsi la réaction est amorcée par l'addition de 1 ml xanthine (250 µM), substrat de prédilection de la xanthine oxydoréductase, suivie d'une deuxième incubation à 37°C durant 10 min après laquelle 0,5 ml

de HCl (0,58M) est ajouté afin de stopper la réaction. Puis la solution est centrifugée à 5000 g pendant 5 min.

➤ Enfin, vient la détermination de la concentration en acide urique produit au cours de cette réaction par spectrophotométrie, la lecture d'absorbance se fait à 290 nm. Sachant qu'une unité d'activité de xanthine oxydoréductase correspond à 1nmol d'acide urique produit par min par mg de protéine.

L'activité de la xanthine oxydoréductase est exprimée en pourcentage d'inhibition selon

l'équation suivante :
$$\text{Inhibition \%} = \left(1 - \left(\frac{B}{A}\right)\right) * 100 ;$$

Où B : Concentration en acide urique de l'échantillon.

A : Concentration en acide urique du véhicule (hyperuricémique pour les tests).

II.3.4.3. Dosage des protéines totales

La détermination de la concentration en protéines totales des homogénats a été établie par spectrophotomètre selon la méthode de Bradford (1976) décrite comme suit :

Le mélange réactionnel est constitué de 10µl d'homogénat de foie dilué et 90µl d'eau distillée, auquel on ajoute 1 ml de réactif de Bradford. La mixture a été incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 min. L'absorbance est lue à 595 nm et la concentration en protéine est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'albumine du sérum bovin (BSA) utilisée comme protéine standard.

II.3.5. Evaluation statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm l'erreur standard moyenne (SEM) l'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel *Graph Pad Prism* par le test d'ANOVA univariée (one-way ANOVA), Les moyennes ont été comparées en utilisant le test Tukey's à comparaison multiples. Les différences sont considérées significatives à $P < 0,05$.

*RÉSULTATS ET
DISCUSSION*

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Activité antihyperuricémique des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus*

Notre étude a pour but l'évaluation de l'activité anti-hyperuricémique des extraits préparés à partir des trois parties (feuilles, graines et l'écorce des racines) de *P. lentiscus* sur un modèle animal. Nous avons tenté de déterminer le mécanisme d'action des extraits testés en utilisant des méthodes biochimiques

III.1.1.1. Variation du taux d'acide urique chez les souris normales traitées par les différents extraits

Le niveau d'acide urique sérique a été déterminé chez les souris normales traitées pendant 3 jours avec les différentes concentrations d'extraits (25, 50 et 100mg/ml) et l'allopurinol 10mg/kg). Les résultats sont regroupés dans la figure 9.

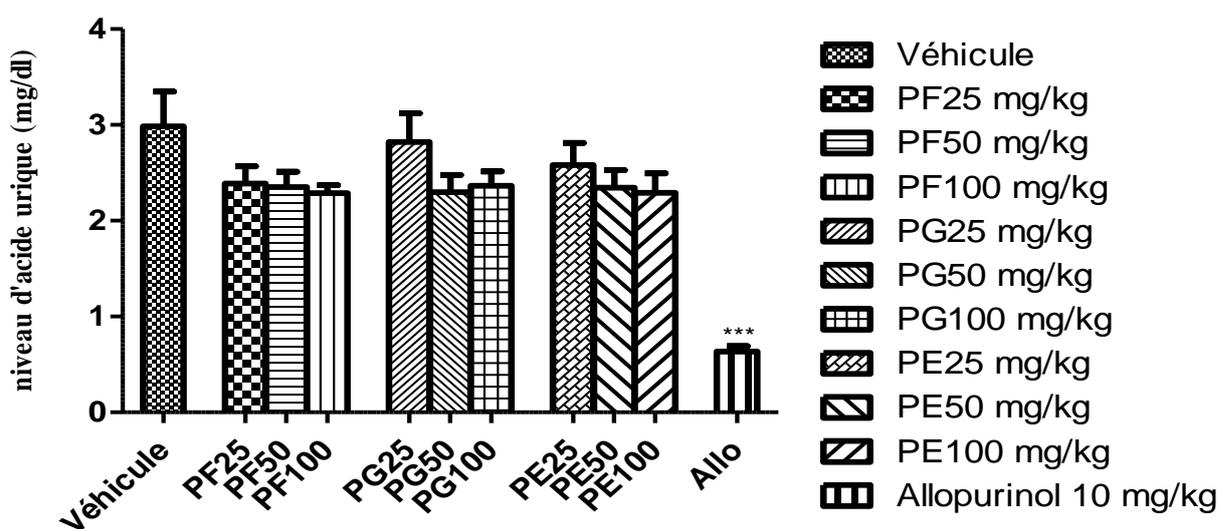


Figure 6 : Effet antihyperuricémique des extraits aqueux de feuilles, graines et écorce des racines de *Pistacia lentiscus*, à différentes doses chez les souris normales. (Les valeurs données sont en Moyenne \pm SEM). One-way ANOVA suivie par le test Tukey's est réalisé pour les différences significatives *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 comparé au groupe control (véhicule). PF : *Pistacia* feuilles ; PG : *Pistacia* graines ; PE : *Pistacia* écore ; allo : allopurinol.

Aucune différence significative n'a été montrée entre les groupes tests ayant reçus les différentes concentrations d'extraits et le groupe control qui a reçu que le véhicule.

En outre, on remarque l'absence de dépendance entre l'effet hypouricémiant et les différentes doses administrées. A noter un niveau d'acide urique de $2,38 \pm 0,18$, $2,35 \pm 0,16$ et $2,28 \pm 0,08$ mg/dl pour les lots traités respectivement, avec l'extraits aqueux de feuilles aux doses : 25, 50 et 100 mg/Kg. Par ailleurs le niveau d'urate sérique est de $2,82 \pm 0,30$, $2,29 \pm 0,17$, et $2,36 \pm 0,14$. mg/dl pour les lots traités respectivement par l'extrait aqueux des graines à la dose : 25, 50 et 100 mg/Kg. Et enfin la concentration de l'acide urique sérique est de $2,58 \pm 0,23$, $2,34 \pm 0,18$ et $2,29 \pm 0,20$ mg/dl pour les lots traités respectivement par l'extraits aqueux de l'écorce des racines au dose : 25, 50 et 100 mg/Kg. Ces concentrations sont juxtaposées avec le véhicule où sa concentration en urate est évaluée à $2,98 \pm 0,36$ mg/dl.

Nous avons constaté qu'il y'a eu une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la concentration en acide urique sérique après 3 jours de traitement intra gastrique des animaux par l'allopurinol à 10mg/kg, en comparaison avec le véhicule ($0,63 \pm 0,05$ versus $2,98 \pm 0,36$ mg/dl).

III.1.1.2. Variation du niveau d'acide urique chez les souris hyperuricémiques traitées par les différents extraits

La figure 10 illustre l'effet des extraits aqueux des trois parties (feuilles, graines et écorce des racines sur la variation du taux d'acide urique sérique chez les souris hyperuricémique prétraitées par l'oxonate de potassium, à 250mg/Kg par voie intra-péritonéale.

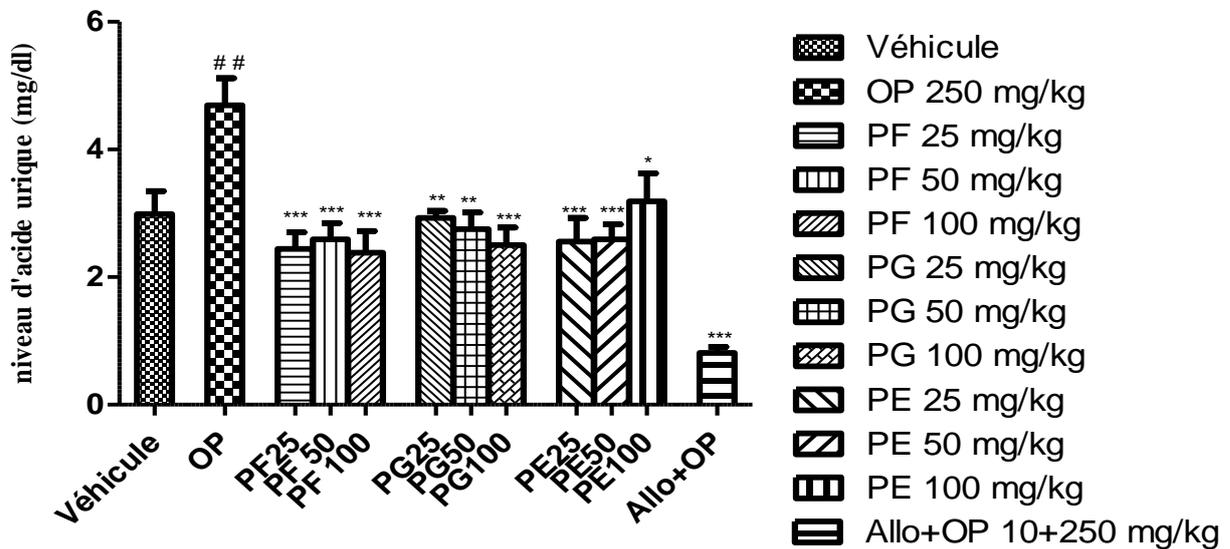


Figure 7 : Effet antihyperuricémique des extraits aqueux de feuilles, des graines, et écorce des racines de *Pistacia lentiscus* à différentes doses chez les souris hyperuricémiques (Les valeurs données sont en moyenne \pm SEM). One-way ANOVA suivie par le test Tukey's est réalisé pour les différences significatives * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs OP. ## : $p < 0,01$ vs véhicule. PF : *Pistacia* feuilles ; PG : *Pistacia* graines ; PE : *Pistacia* écorce ; allo : allopurinol ; OP : oxonate de potassium.

Nous avons constaté une élévation très significative ($p < 0,01$) du taux de l'acide urique chez le control hyperuricémique (OP) recevant l'oxonate de potassium ($4,69 \pm 0,42$ mg/dl) par rapport au véhicule ($2,98 \pm 0,36$ mg/dl). Une diminution très significative ($p < 0,001$) des niveaux d'acide urique a été trouvé entre les groupes traités par l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* par rapport au groupe hyperuricémique (OP) ($4,69 \pm 0,42$ mg/dl).

A noter un niveau d'acide urique de $2,44 \pm 0,25$; $2,59 \pm 0,25$ et $2,38 \pm 0,34$ mg/dl pour les lots traités respectivement, avec l'extrait aqueux de feuilles aux doses : 25, 50 et 100 mg/kg. Par ailleurs, aucune variation significative de la concentration en acide urique n'est constatée entre les souris hyperuricémiques traitées par les extraits des trois parties de *Pistacia lentiscus* et le véhicule. Ces résultats révèlent l'activité anti-hyperuricémique des extraits aqueux de *P. lentiscus*.

Une réduction très significative ($P < 0,01$) a été trouvée dans les niveaux d'acide urique des groupes traités par l'extrait aqueux des graines de *Pistacia lentiscus* avec un taux de $2,92 \pm$

0,11 et $2,50 \pm 0,27$ aux doses respectivement administrées de 25 et 50 mg/kg et une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) équivalant à $2,75 \pm 0,25$ à la dose de 100 mg/kg par rapport au groupe hyperuricémiques.

Les données obtenues après le traitement des souris hyperuricémiques par l'extrait aqueux de l'écorce des racines montrent une baisse très hautement significative ($p < 0,001$) du niveau d'acide urique évaluée à $2,55 \pm 0,37$ et $2,59 \pm 0,23$ aux doses 25 et 50 mg/kg. Ainsi qu'une réduction significative ($p < 0,05$) de l'acide urique : $3,18 \pm 0,44$ à la dose de 100 mg/mg. En outre on remarque d'après l'analyse statistique : l'absence d'une dose dépendance dans l'effet hypouricémiant et aucune différence significative (0,05) n'est révélée entre l'effet des différentes concentrations.

L'allopurinol reste indétrônable de son efficacité, en effet les résultats dévoilent son grand potentiel hypouricémiant par la réduction très hautement significative ($p < 0,001$) du niveau d'acide urique ($0,81 \pm 0,09$ mg/dl) par rapport au groupe positif d'hyperuricémie (OP) ($4,69 \pm 0,42$ mg/dl).

III.1.1.3. Analyses de l'activité enzymatique de la xanthine oxydoréductase

Les propriétés antihyperuricémiques sont en partie responsables de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydoréductase. A l'instar de l'allopurinol qui est un puissant inhibiteur de cette enzyme, nous avons procédé aux tests d'inhibition des deux formes physiologiques de la xanthine oxydoréductase : xanthine oxydase et xanthine déshydrogénase (XO/XDH), chez les souris saines et hyperuricémiques.

Ainsi, la détermination de la concentration en acide urique grâce à la méthode précédemment décrite, nous permet d'évaluer le potentiel d'inhibition des extraits aqueux des trois parties (feuilles, graines, et l'écorce des racines) de *Pistacia lentiscus*.

Les résultats recueillis à partir du test d'inhibition enzymatique de XO/XDH hépatiques des souris normales et hyperuricémiques traitées par l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* sont rassemblés dans le tableau IV.

Tableau IV: Effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* et de l'allopurinol sur l'activité enzymatique XO/XDH hépatique chez les souris normales et les souris hyperuricémiques. (Les valeurs données sont en Moyenne \pm SEM). One-way ANOVA suivie par le test Tukey's est réalisé pour les différences significatives * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs véhicule. ### $p < 0,001$ vs OP. PF : *Pistacia* feuilles ; allo : allopurinol ; OP : Oxonate de potassium.

Traitement	Dose (mg/kg)	n	XO (AU nmol/min/mg de protéine)	XDH (AU nmol/min/mg de protéine)	% d'inhibition	
					XO	XDH
Véhicule	/	6	2,75 \pm 0,08	3,02 \pm 0,16	/	/
PF	25	6	2,36 \pm 0,13	2,90 \pm 0,24	14,14	- 3,72
PF	50	6	2,71 \pm 0,33	2,62 \pm 0,26	15,43	- 13,25
PF	100	6	1,90 \pm 0,19	2,34 \pm 0,29	30,79	- 22,44
Allopurinol	10	6	1,61 \pm 0,11**	1,84 \pm 0,12*	41,28	- 38,87
OP	250	6	2,66 \pm 0,10	2,69 \pm 0,24	/	/
OP + PF	250 + 25	6	3,18 \pm 0,07	3,23 \pm 0,10	/	- /
OP + PF	250 + 50	6	2,57 \pm 0,13	3,09 \pm 0,19	3,34	- /
OP + PF	250 + 100	6	1,93 \pm 0,11	2,23 \pm 0,05	27,08	- 16,82
OP + Allo	250 + 10	6	1,35 \pm 0,26###	1,61 \pm 0,16###	49,27	- 40,09

Les données du tableau IV montrent que les doses (25 et 50 mg/kg) administrées aux souris normales ne provoquent aucune inhibition de l'activité enzymatique XO/XDH. Cependant, à la dose de 100mg/kg on note une inhibition considérable mais pas significative de la XO et la XDH estimée à 30,79% et 22,44% respectivement pour les deux formes. Le même constat est retrouvé chez les souris hyperuricémiques où aux doses de 25 et 50 mg/kg présentent une inhibition quasi nulle de la XO/XDH. Par contre, à la dose 100 mg/kg nous avons enregistré

une inhibition non significative de la XO/XDH équivalente à 27,08% et 16,82% respectivement pour les deux formes.

Les résultats restitués à partir du test d'inhibition enzymatique de XO/XDH hépatiques des souris normales et hyperuricémiques traitées par l'extrait aqueux des graines de *P. lentiscus* sont rassemblés dans le tableau V.

Tableau V: Effet de l'extrait aqueux des graines de *Pistacia lentiscus* et de l'allopurinol sur l'activité enzymatique XO/XDH hépatique chez les souris normales et les souris hyperuricémiques. (Les valeurs données sont en Moyenne \pm SEM). One-way ANOVA suivie par le test Tukey's est réalisé pour les différences significatives * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs véhicule. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs OP. PG : *Pistacia* graines ; allo : allopurinol OP : Oxonate de potassium.

Traitement	Dose (mg/kg)	n	XO (AU nmol/min/mg de protéine)	XDH (AU nmol/min/mg de protéine)	% d'inhibition	
					XO	XDH
Véhicule	/	6	2,75 \pm 0,08	3,02 \pm 0,16	/	/
PG	25	6	3,28 \pm 0,56	3,92 \pm 0,24	/	- /
PG	50	6	2,49 \pm 0,21	2,78 \pm 0,16	9,46	- 7,63
PG	100	6	2,50 \pm 0,17	2,62 \pm 0,51	9,07	- 12,95
Allopurinol	10	6	1,61 \pm 0,11**	1,84 \pm 0,12*	41,28	- 38,87
OP	250	6	2,66 \pm 0,10	2,69 \pm 0,24	/	/
OP + PG	250+25	6	2,13 \pm 0,15	2,14 \pm 0,21	19,94	- 20,29
OP + PG	250+50	6	1,98 \pm 0,27 [#]	1,88 \pm 0,15 ^{##}	25,68	- 29,95
OP + PG	250+100	6	1,63 \pm 0,14 ^{###}	1,78 \pm 0,16 ^{##}	38,65	- 33,67
OP + Allo	250+10	6	1,35 \pm 0,26 ^{###}	1,61 \pm 0,16 ^{###}	49,27	- 40,09

D'après les données du tableau V, nous avons constaté un taux d'inhibitions non significatif chez les souris normales, avec un maximum d'inhibition de XO/XDH équivalent à 9,07 % et 12,95% respectivement pour les deux formes et ceci pour la dose de 100mg/Kg.

Chez les souris des groupes tests, la dose de 25mg/Kg présente une inhibition non significative de XO/XDH respectivement pour les deux formes de 19,94 et 20,29%. En comparaison avec le groupe hyperuricémique (OP). Par contre aux doses 50 mg/Kg, l'extrait

présente une inhibition significative ($P < 0,05$) avec un taux d'inhibition respectivement des deux formes de la XO/XDH de 25,68 et 29,95%. La dose 100 mg/Kg révèle une inhibition significative avec un taux d'inhibition de 38,65% et 33,67% des deux formes de la XO/XDH respectivement.

Les résultats rapportés à partir du test d'inhibition enzymatique de XO/XDH hépatiques des souris normales et hyperuricémiques traitées par l'extrait aqueux de l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus* sont rassemblés dans le tableau VI

Tableau VI: Effet de l'extrait aqueux de l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus* et de l'allopurinol sur l'activité enzymatique XO/XDH hépatique chez les souris normales et les souris hyperuricémiques. (Les valeurs données sont en Moyenne \pm SEM). One-way ANOVA suivie par le test Tukey's est réalisé pour les différences significatives * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs véhicule. # : $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs OP. PE : *Pistacia* écorce ; allo : allopurinol OP : Oxonate de potassium.

Traitement	Doses (mg/kg)	n	XO (AU nmol/min/mg de protéine)	XDH (AU nmol/min/mg de protéine)	% d'inhibition	
					XO	XDH
Véhicule	/	6	2,75 \pm 0,08	3,02 \pm 0,16	/	/
PE	25	6	2,75 \pm 0,22	3,06 \pm 0,23	/	- /
PE	50	6	2,58 \pm 0,12	2,67 \pm 0,28	6,05	- 11,53
PE	100	6	2,34 \pm 0,17	2,68 \pm 0,19	14,77	- 11,04
Allopurinol	10	6	1,61 \pm 0,11**	1,84 \pm 0,12*	41,28	- 38,87
OP	250	6	2,66 \pm 0,10	2,69 \pm 0,24	/	/
OP + PE	250 + 25	6	2,19 \pm 0,08	2,30 \pm 0,10	17,86	- 14,43
OP + PE	250 + 50	6	2,26 \pm 0,05	2,57 \pm 0,07	15,18	- 4,57
OP + PE	250 + 100	6	2,26 \pm 0,19	2,56 \pm 0,13	15,10	- 4,89
OP + Allo	250 + 10	6	1,35 \pm 0,26###	1,61 \pm 0,16###	49,27	- 40,09

Les résultats de ce test montrent qu'il n'y a aucune inhibition significative de la XO/XDH par l'extrait aqueux de l'écorce des racines et ce pour les deux modèles expérimentaux (normales et hyperuricémiques). On note un maximum d'inhibition de l'activité de XO/XDH évalué à 17,86 et 14,43% respectivement, pour les souris hyperuricémiques à la dose 25mg/kg.

Tous les résultats précédemment décrits sont comparés avec les souris normales et hyperuricémiques traitées par: l'allopurinol. Les données des souris traitées par la molécule de référence montrent que l'allopurinol est un puissant inhibiteur de l'activité enzymatique XO/XDH. En effet, chez les souris normales, le taux d'inhibition de la XO/XDH est de 41,28 et 38,87% respectivement. Par ailleurs chez les souris hyperuricémiques l'inhibition de la XO/XDH est de 49,27 et 40,09% respectivement pour les deux formes.

III.2. Discussion

L'hyperuricémie est une maladie métabolique caractérisée par un accroissement excessif du niveau de l'acide urique sérique dans l'organisme, issue de l'oxydation de la xanthine par la xanthine oxydoréductase. Des pathologies s'accompagnent d'une uricémie élevée, telles que la maladie de la goutte, des lithiases et les affections cardiovasculaires (Feig et *al.*, 2009).

La stratégie clé dans le traitement de patients atteints de l'hyperuricémie, est le maintien d'une concentration normale de l'acide urique sérique. Le traitement pionnier et à ce jour sollicité de cette pathologie est l'administration de l'allopurinol, un puissant inhibiteur synthétique de la xanthine oxydoréductase réduisant ainsi la voie de synthèse de l'acide urique. Mais il n'est pas rare que suite à ce traitement par l'allopurinol, des patients présentent des effets secondaires manifestés par des hypersensibilités cutanées, hépatites ou encore des néphropathies (Zhu et *al.*, 2012). En conséquence, la découverte et le développement de nouveaux traitements antihyperuricémiques est encore plus que primordiale.

La médecine traditionnelle pratiquée à travers les quatre coins du globe est basée essentiellement sur l'utilisation des plantes comme sources de substances naturelles actives. Parmi ces substances, les composés phénoliques qui occupent une place importante dans le traitement de nombreuses pathologies entre autres la goutte, les rhumatismes, le diabète et le système vasculaire. L'élixir préparé à partir de *Pistacia lentiscus* est communément prescrit aux personnes souffrantes de goutte ou de rhumatisme. Des études *in-vitro* ont montré l'évidence de d'activité inhibitrice *Pistacia lentiscus* sur la xanthine oxydase (Bhourri et *al.*, 2010 ; Berboucha et *al.*, 2010).

L'hyperuricémie induite par l'oxonate de potassium est un modèle expérimentale bien connu. Nous avons constaté une augmentation très significative ($p < 0,01$) de l'uricémie après injection intra-péritonéale pendant 3 jours de l'oxonate de potassium aux animaux. Ce composé peut provoquer d'une part une inhibition compétitive de l'uricase et d'autre part la surexpression des protéines de l'URAT1 et GLUT 9 (Hou et *al.*, 2012). L'acide urique en excès

devient moins soluble et son élimination est considérablement réduite. Par ailleurs, nous avons pris comme molécule de référence l'allopurinol qui a été administré à la dose de 10 mg/kg pendant 3 jours à des souris normales et les souris hyperuricémiques. Suite à cette administration nous avons constaté une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du niveau de l'acide urique ainsi qu'une inhibition très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité XO/XDH chez les animaux. Les données de la présente étude sont accord avec les résultats des travaux de Kong et ses collaborateurs (2004) où l'administration de l'allopurinol à des souris normales et hyperuricémique a abouti à une réduction de l'acide urique et une

inhibition très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique XO (42,9%) et XDH (49,4%).

Une normalisation durable de l'uricémie diminue le risque de développer des cristaux d'urate mono sodiques dans les articulations et les tissus, manifestés dans la maladie de la goutte et réduire les complications liées à cette pathologie. Les thérapies conventionnelles de l'hyperuricémie ont de nombreuses lacunes, car elles engendrent des effets secondaires comme les allergies cutanées et les hépatites. De nombreux travaux ont montré que des extraits de plantes ont exhibé un potentiel hypouricémiant comparable à celui des médicaments chimiques (Haidari *et al.*, 2008 ; Murugaiyah *et al.*, 2009 ; Chen *et al.*, 2011)

Dans la présente étude, l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, administré aux doses de 25, 50, et 100 mg/kg aux animaux hyperuricémiques a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du niveau de l'acide urique sérique. Le même effet a été démontré par d'autres auteurs, ou l'administration des extraits alcooliques d'autres plantes : *Peperomia pellucida*, *Cinnamomum osmophloeum* et *Balanophora laxiflora* (Sio *et al.*, 1998, Wang *et al.*, 2008 ; Ho *et al.*, 2012) à des rats hyperuricémiques prétraités par l'oxonate de potassium a engendré une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'acide urique sérique.

Par contre, le test d'inhibition de la XO/XDH de la présente étude révèle que l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* n'exerce aucune inhibition significative ($P < 0,05$) sur cette activité.

Une étude *in-vitro* menée par Bakasso *et al.*, (2013) révèle que les polyphénols en l'occurrence les flavonoïdes des extrait aqueux de *Indigofera tinctoria* ont la propriété d'inhiber l'activité de la XO/XDH.

Une étude exhaustive menée par Mo et ses collaborateurs (2007) a révélé une relation entre la structure de la quercétine et le kaempferol et l'activité inhibitrice de l'activité XO/XDH.

Toutefois, les études de caractérisation ont révélé que l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* contient des composés phénoliques tels que les flavonoïdes en l'occurrence la kaempferol-3-glucoside, la quercitine-3-O-glucoside et la myricétine (Rodriguez-Pérez et al., 2013). Du fait que la présente étude montre une inhibition modérée de l'activité XO/XDH cela s'explique probablement par le métabolisme et de biodisponibilité des composés phénoliques.

Des études ont montré l'évidence de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase par les composés phénoliques. Une corrélation étroite est considérée dans la similarité structurale des flavonoïdes (la Quercétine, la silibine et la lutéoline) et le site actif de la xanthine oxydase

rendant cette dernière dépourvue de l'activité catalytique de l'oxydation de la xanthine en acide urique (Chang et al., 1993 ; Cos et al., 1998 ; Da Silva et al., 2004).

Tout porte à croire que cet extrait tire son effet hypouricémiant sur d'autre mécanisme. En d'autre terme l'effet uricosurique semble être le moyen privilégié de l'activité antihyperuricémique de l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*. Ces résultats sont cohérent avec les travaux de Kuo et al., (2012). L'administration d'extrait éthanolique de *Hibiscus sabdariffa L* à un modèle animal hyperuricémique induit par l'oxonate de potassium a abouti à une réduction significative ($P < 0,001$) du niveau de l'acide urique sérique sans exhiber une d'inhibition sur l'activité enzymatique XO/XDH.

L'abondance en composées phénoliques des feuilles de *P. lentiscus* procure diverses activités biologiques telles que hépatoprotéctive, anti-inflammatoire et antifongique (Janakat et Al-Merie ; 2002; Ljubuncic et al., 2005 ; Chryssavgi et al., 2007). La faculté hypouricémiante de l'extrait aqueux des feuilles est sans doute due à cette richesse en polyphénols que ces derniers sont dotés d'une activité uricosurique.

En effet des études plus approfondies ont été menées afin de déterminer les différents mécanismes de l'activité antihyperuricémique des composés phénoliques. L'activité uricosurique se manifeste par la modulation des transporteurs de l'acide urique au niveau rénal. L'inhibition des transporteurs URAT1 et GLUT 9 réduit la réabsorption de l'acide urique sérique au sein du tubule rénale (Hu et al., 2010 ; Shi et al., 2012). Ainsi les travaux de Murugaiyah et Chan, (2009) ont révélé que la lignine effectue un amoindrissement sur la rétention rénale de l'acide urique. Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes ont la propriété d'exercer un accroissement de l'expression des gènes des transporteurs ioniques OAT1, OCT1-2 (Li et al., 2011 ; Hua et al., 2012) favorisant au final une élimination accrue de l'acide urique.

Les résultats de la présente étude montrent que l'extrait aqueux des graines de *P. lentiscus* exerce une activité antihyperuricémique sur les animaux. Cela est dû probablement à la richesse en composés phénoliques. Cette suggestion est soutenue par des travaux antérieurs ou l'analyse chromatographique par HPLC a confirmé cette abondance, en l'occurrence la présence de flavonoïdes (Delphinidine 3-O -glucoside, Cyanidine 3-O- glucoside, Cyanidine 3-O- arabinoside (Longo et al., 2007).

Le niveau de l'acide urique des souris hyperuricémiques est marqué par une diminution très significative ($p < 0,01$) induite par l'extrait aqueux des graines aux doses 25, 50 et 100 mg/kg. L'activité enzymatique de la XO/XDH est réduite de façon significative ($P < 0,05$) seulement

aux doses-effectives 50 et 100 mg/Kg. on suppose que l'extrait aqueux des graines exerce à la fois une activité inhibitrice sur la XO/XDH et un effet uricosurique. L'absence de l'effet inhibiteur de la XO/XDH à la dose de 25mg/kg est probablement due au métabolisme et à la biodisponibilité des composés phénoliques

Les résultats des deux études menées par Wang et al., (2009) et Hou et al., (2012) sur le potentiel hypouricémiant respectivement de l'extrait du rhizome de *Sanmiao wan* et l'extrait des graines de *Dimocarpus longan* convergent vers la même conclusion : que l'activité antihyperuricémique des extraits végétaux chez le modèle animal est manifestée par la réduction de l'expression de mURAT1 ainsi que sur l'inhibition de la xanthine oxydase.

L'activité anti-hyperuricémique de l'extrait aqueux des graines de *P. lentiscus* par l'inhibition de l'activité enzymatique de XO/XDH est probablement due aux anthocyanidines que renferme cet extrait. En effet, des études *in vitro* ont rapporté que les procyanidines sont doués d'effet inhibiteur sur la xanthine oxydase. (Gariboldi et al. 1998; Nagao et al. 1999). Les travaux *in-vivo* de Wang et ses collaborateurs (2004) ont démontré la capacité des procyanidines de l'extrait de raisin à inhiber l'activité enzymatique de la XO/XDH chez des souris prétraitées par l'oxonate de potassium.

L'extrait aqueux de l'écorce des racines de *P. lentiscus* a révélé un effet hypouricémiant manifesté par la réduction très hautement significative ($P < 0,001$) des niveaux de l'acide urique sérique. En outre on a enregistré une absence d'inhibition de l'activité enzymatique XO/XDH tous porte à penser que cette diminution s'est effectuée sans doute par d'autres mécanismes.

D'après la littérature consultée, l'écorce de plantes médicinales est souvent utilisé en médecine traditionnelle comme agent anti-inflammatoire, hypouricémiant et diurétique. (Zhao et al., 2006 ; Havlik et al., 2010). Dans notre étude, L'effet hypouricémiant de l'extrait aqueux

de l'écorce de racines de *P. lentiscus* est a priori procuré par l'élimination prononcée de l'acide urique via l'urine par l'activité diurétique.

L'activité diurétique de *P. lentiscus* a été observée au cours, d'une étude menée par Benachour et Benrab, (2012). L'étude phytochimique par la chromatographie en couche mince menée par Benrezkellah et Khellaf, (2012), révèle que l'extrait aqueux de chloroforme de l'écorce des racines de *P. lentiscus* contient de la catéchine, rutine et la quercétine.

Les polyphénols exercent un effet de diurèse par l'augmentation de la filtration glomulaire. L'augmentation du volume urinaire accroît la solubilité de l'urate et rend donc son élimination plus facile et réduit le risque de lithiase rénale (Enomoto and Endou, 2005).

L'étude menée par Arafat et ses collaborateurs (2008) montre que l'extrait méthanolique d'*Orthosiphon stamineus* procure un effet hypouricémiant sur le modèle animal. Cette propriété a été assimilée à l'activité de diurèse, notamment expliquée par la présence de flavonoïdes, triterpènes et des dérivés de l'acide caféique.

Les travaux de Chen et ses collaborateurs (2011) ont montré que l'extrait de rhizome de *Smilax china* présente une diminution très significative du niveau de l'acide urique ($P < 0,01$) chez des souris hyperuricémique induit par l'oxonate de potassium. L'analyse par la chromatographie HPLC dévoile que l'extrait du rhizome de *Smilax china* est constitué par Protocatechique aldéhyde, acide caféique et la rutine ou ces derniers exercent une inhibition très significative ($p < 0,01$) de la xanthine oxydase.

CONCLUSION

Conclusion

La nature est dotée d'une immense biodiversité végétale constituée par des plantes médicinales. *Pistacia lentiscus* est une espèce très utilisée dans le traitement de la goutte et les affections inflammatoires et rhumatismales.

La présente étude s'est penchée sur l'évaluation de l'activité antihyperuricémique des extraits aqueux des feuilles, des graines, et l'écorce des racines de *P. lentiscus* à différents paliers. Tous les extraits aqueux des trois parties de la plante investiguée sont doués d'effet hypouricémiant. Cette constatation est reflétée par les résultats rassemblés au terme de cette évaluation qui montrent clairement une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'acide urique sérique chez les souris hyperuricémiques. Sans doute que les composés phénoliques présents en grande concentration dans ces extraits sont l'œuvre de cette activité biologique.

Par ailleurs, la propriété de l'inhibition enzymatique de la XOR n'est pas attribuée de façon unanime à tous les extraits aqueux de *P. lentiscus*. En effet, seul l'extrait aqueux des graines détient un potentiel inhibiteur significatif ($p < 0,05$) de la xanthine oxydoréductase chez les souris hyperuricémiques.

La dissimilitude exposée par les résultats de cette étude est traduite par la multitude de mécanisme hypouricémiant propre aux extraits aqueux de *P. lentiscus*. Cette hypothèse ouvre une vaste voie de recherche pour l'identification des molécules actives et d'élucider leur modes d'actions, notamment à l'échelle moléculaire qui procurent l'activité antihyperuricémique de *P. lentiscus*.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdelwahed, A., Bouhleb, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., and Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-biological interactions*, 165:1-13.
- Allen, R.E., Outhwaite., J.M., Morris, C.J and Blake, D.R. (1987). Xanthine oxidoreductase is present in human synovium. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 46: 843-845.
- Al-Said, M. S., Ageel, A. M., Parmar, N. S., and Tariq, M. (1986). Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *Journal of ethnopharmacology*, 15: 271-278
- Amaya, Y., Yamazaki, K. I., Sato, M., Noda, K., and Nishino, T. (1990). Proteolytic conversion of xanthine dehydrogenase from the NAD-dependent type to the O₂-dependent type. Amino acid sequence of rat liver xanthine dehydrogenase and identification of the cleavage sites of the enzyme protein during irreversible conversion by trypsin. *Journal of Biological Chemistry*, 265: 14170-14175.
- Ames, B., Cathcart, R., Schwiers, E and Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis. *Proc. NatL Acad. Sci.* 78: 6858-6862.

- Ansari, S.H., Nahida, A., and Siddiqui, A-N.(2012). Pistacia lentiscus: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4: 16-20.
- Arafat, O., Tham, Y., Sadicum, A and Zhari, I. (2008). Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats. *Journal of ethnopharmacology* 118: 354-360.
- Atmani, D., Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H and Debbache, N. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112: 303–309
- Bardin, T. (2011). Conclusion. *Revue du Rhumatisme*, 78: 148-149.
- Benachour, K., Benrab, S. (2012). Evaluation de l'activité diurétique des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* écorces des racines, feuilles et graines. *Université A/Mira*, P :29
- Benrezkellah, L., Khellaf, A.M. (2012). Activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. et leurs fractions chromatographique par bioautographie. *Université A/Mira*, P : 38
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., Atmani, D and Benboubetra, M. (2010). Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *Journal of Medicinal Food*, 13: 896-904.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapirstein, H.D (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal chem.*, 82: 390-393
- Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., Sghaier, M. B., Chekir-hedira, L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24: 509 515.
- Bossert, P., Guanter, M., Mir, C., Rossier, C., Ruggli, M., Savoia Bossert, M., (2003).Pharma-News. *Le journal de l'équipe officinale*, 23 : 10-15.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of mi-crogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72: 248-254.

- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. *Tec et Doc*, paris
- Castola, V., Bighelli, A., and Casanova, J. (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 79-88.
- Chalès, G. (2011). De l'hyperuricémie à la goutte: Epidémiologie de la goutte. *Revue de Rhumatisme* 78: 109-115.
- Chen, L., Yin, H., Lan, Z., Ma, S., Zhang, C., Yang, Z., and Lin, B. (2011). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. *Journal of ethnopharmacology*, 135: 399-405.
- Chryssavgi, G., Papageorgiou Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T and Michael, K. (2007). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*. 107: 1120–1130.
- Coriat, R. (2012). Applications d'une modulation pharmacologique des dérivés des formes réactives de l'oxygène pour une optimisation thérapeutique des patients traités par chimiothérapie (Doctoral dissertation, Université René Descartes-Paris V).
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoid in oxidative stress. *Med chem*, 1: 569: 590.
- Cos, P., Clomme, M. ; Yang, L., Van Poel, B., Pieters, L and Beryghe, D.K. (1998). Structure activity relationship and classification of flavonoïds as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural and products*. 61:71-76.
- Corpas Francisco, J., José, M,Palma.; Luisa, M, Sandalio and Raquel Valderraura. (2008). Peroxisomal xanthine oxidoreductase : characterization of the enzyme from pea (*Pisum sativum*) leaves. *Journal of Plant Physiology* 165 :1319-1330.
- Da Silva, S. L., Da Sliva, A., Da Silva, A. B. F., Honorio, K. M., Marangoni, S., and Toyama, M. H. (2004). The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 684:1-7

- Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A and Chouchane, N. (2013). Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial Crops and Products* 49: 879– 882.
- Delille, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. ALGER. BERTI éditions, 240p
- De Souza, M., De Paula, C and De Resende, P. (2012). Pharmacological basis for use of *lychnophora trichocarpa* in gouty arthritis: Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effect. *Journal of ethnopharmacology*, 142: 845-850.
- Dubost, J., S. Mathieu, S. and Soubrier, M. (2011). Traitement de la goutte. *La Revue de médecine interne*, 32: 751–757
- Ea, H.K. (2011). De l'hyperuricémie à la goutte : physiopathologie. *Revue du Rhumatisme*, 78 : 103-108
- Emmerson, B.T. (2014). The management of gout. *The New England Journal of Medicine*, 7: 445-451.
- Enomoto, A and Endou, H. (2005). Roles of organic anion transporteur (OATs) and urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease. *Clin. Exp. Nephrol.*9: 195-205.
- Eraly, S.A., Vallon, V., Rieg, T., Gangoiti, J.A., Wikoff, W.R., Siuzdak, G., Barshop, B.A and Nigam, S.K. (2008). Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid. *New England Journal of Medicine*, (2): 180–192.
- Ernst, M and Fravel, M., (2009). Febuxostat: A Selective Xanthine-Oxidase/Xanthine Dehydrogenase Inhibitor for the Management of Hyperuricemia in Adults With Gout. *Clinical Therapeutics*, 31: 2503-2518.
- Feig, D.I., Kang, DH M.D.2, and Johnson, R.J. (2009). Uric Acid and Cardiovascular Risk. *New England Journal of Medicine*. 17: 1811–1821.
- Daniel I. Feig., Magdalena Madero, M., Jalal, D.I., Sanchez-Lozada, L.G and Johnson, R.J. (2012). Uric Acid and the Origins of Hypertension. *The journal of pediatric*, 19:1-7
- Gaffo, A. L., & Saag, K. G. (2009). Febuxostat : the evidence for its use in the treatment of hyperuricemia and gout. *Core evidence*, 4: 25

- Gagliardi, A.C.M., Miname, M.H., and Santos, R.D. (2008). Uric acid: A marker of increased cardiovascular risk. *Atherosclerosis*, 202:11–17.
- Garay, R. P., El-Gewely, M. R., Labaune, J. P., and Richette, P. (2012). Therapeutic perspectives on uricases for gout. *Joint Bone Spine*, 79 : 237- 242.
- Gariboldi, E., Mascetti, D., Galli, G P. Caballion and E. Bosisio :Masse. (1998). Analyse LC-UV-électrospray-MS-MS spectrometry of plants constituents inhibes xanthine oxidase. *Pharm*, 15 : 936-943.
- Haidari, F., Rashidi, M.R and Keshavarz, S.A., (2008). Effects of onion on serum uric acid levels and hepatic xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase activities in hyperuricemic rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 1779–1784.
- Hall, I. H., Scoville, J. P., Reynolds, D. J., Simlot, R.,and Duncan, P. (1990). Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. *Life Sciences*, 46: 1923-1927.
- Havlik, A., Huebra, R.G., Hejtmankova, K, Fernandez, J., Simonova, J., Melich, M and Rada, V. (2010). Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 132: 461–465.
- Hille, R., Nishino, T and Bittner, F. (2011). Molybdenum enzymes in higher organism's coordination chemistry. *Reviews* 255:1179-1205.
- Ho, S. T., Tung, Y. T., Huang, C. C., Kuo, C. L., Lin, C. C., Yang, S. C., & Wu, J. H. (2012). The Hypouricemic Effect of *Balanophora laxiflora* Extracts and Derived Phytochemicals in Hyperuricemic Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012: 1-7.
- Hou, C.W., Lee, Y.C., Hung, H.F., Fu, H.W and Jeng, K.C. (2012). Longan Seed Extract Reduces Hyperuricemia via Modulating Urate Transporters and Suppressing xanthine Oxidase Activity *The American Journal of Chinese Medicine*, 5: 979–991.
- Hu, Q., Jiao, R., Wang, X., Lv, Y. Z and Kong, L., (2010). *Simiao pill* ameliorates urate under excretion and renal dysfunction in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 685-691.

- Janakat, S and Al-Merie, H. (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology* 83:135-138.
- Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., B and Steenkampc, P. (2009). Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *South Africa Food Chemistry*, 119: 684–688.
- Kim, K.Y., PharmD,I., Schumacher, H.R., MD., Hunsche, E., Dipl.rer.pol., Wertheimer, A.I and Kong, S.X. (2003). Literature review of the epidemiology and treatment of acute gout. *Clinical Therapeutic*, 25: 1-25.
- Kooij, A., Bosch, K.S., Frederiks W.M. and Van Noorden, C.J. (1992). High levels of xanthine oxidoreductase in endothelial, epithelial and connective tissue cells in rat tissue relation between localization and function. *Virchows Archiv Cell Pathology*, 62: 143-150.
- Kong, L. D., Yang, C., Ge, F., Wang, H. D., and Guo, Y. S. (2004). A Chinese herbal medicine *Ermiao wan* reduces serum uric acid level and inhibits liver xanthine dehydro-genase and xanthine oxidase in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 93:325-330.
- Kuo, C Y., Erl-Shyh Kao, E S., Chan, K C., Huei-Jane Lee, H J., Huang, T F., and Wang, C J. (2012). *Hibiscus sabdariffa* L. extracts reduce serum uric acid levels in oxonate-induced rats. *Journal of functional foods*, 4: 375-381.
- Lee, H. Y., Ariyasinghe, J. T., &Thirumoorthy, T. (2008). Allopurinol hypersensitivity syndrome: a preventable severe cutaneous adverse reaction?. *Singapore medical journal*, 49: p 384.
- Lehucher-Michel, M.P., Lesgards, J.F., Delubac, O., Stocker, P and Durand, M. (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med*, 30: 1076-1081.
- Leiba, A., Dinour and D., Shani, M (2012). Healthy subjects with low uric acid levels followed up for 10 years, have a decreased incidence of diabetes and hypertension. *Journal of Hypertension*, 518: 30-50.
- Le Treut, A. (2010). Métabolisme des purines. *Biologie moléculaire P.C.E.M.2* :1-80 Université de rennes (France).

- Li, J., M., Zhang, X., Wang, X., Xie, Y. C and Kong. L. D., (2011). Protective effects of cortexfraxini coumarines against oxonate-induced hyperuricemia and renal dysfunction in mice. *European Journal of Pharmacology*, 666: 196–204.
- Li, Z., Ding, H., Chen, C., Chen, Y., Wang, D.W and Yongman, L (2012). Novel URAT1 mutations caused acute renal failure after exercise in two Chinese families with renal hypouricemia, *China Gene* 512: 97–101
- 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. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294: 167–172.
- Lippi, G., Montagnana, M., Franchini, M., Favaloro E.J and Targher, G. (2008). The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta* 392: 1-7.
- Lioté, F. (2012). Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du Rhumatisme* 78 : 122-128.
- Ljubuncica, P., Songa, H., Coganb, U., Azaizehc, H and Bomzona, A. (2005). *Journal of Ethnopharmacology* 100:198–204.
- Longo, L., Scardino, A and Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 360 – 364.
- Lotito, S.B and Frei, B (2006). onsumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon. *Free Radical Biology & Medicine*, 41: 1727 – 1746.
- Maicheix, J.J., Fleuriet, A and Allmand, C.J. (2005). Les composes phénoliques des végétaux : un composé de métabolites secondaires d'importance économique.PPUR *presses polytechniques*. 84-86.
- Mezni, F., Maaroufi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Khouja, M L., and Khaldi, A., (2012). Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 5266-5271

- More, D., and White, J. (2005). Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. Flammarion, 797: 1-8.
- Mirriman, TR and Dalbeth, N. (2010). Bases Génétique de l'hyperuricémie et de la goutte. *Revue du Rhumatisme* 77: 328-334
- Mellado, V., Vaca, J.N., Covarrubias., S.C., Romano,A.G., and Vargas, R.B. (2007). Molecular analysis of the SLC22A12 (URAT1) gene in patients with primary gout. *Rheumatology*, 46:215–219.
- Meyer, J. (2011). Goutte: Physiopathologie, diagnostic, évolution, traitement. *Service de rhumatologie*. 3 : 1- 11.
- Mo, S. F., Zhou, F., Lv, Y. Z., Hu, Q. H., Zhang, D. M., and Kong, L. D. (2007). Hypouricemic action of selected flavonoids in mice : structure-activity relationships. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30:1551-1556.
- Murugaiyah,V., and Chan, K., (2009). Mechanisms of antihyperuricemic effect of Phyllanthus niruri and its lignan constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 233-238.
- Nagao, A., M. Seki & H. Kobayashi. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoid. *Biotechnol. Biochem*, 63: 1787-1790
- Oliviero, F., Scanu, A., Galozzi, P., Gava, A., Frallonardo, P., Ramonda, R and Punzi, L. (2012). Prévalence des cristaux de pyrophosphate de calcium et d'urate monosodique dans le liquide synovial de patients avec un diagnostic d'arthropathie. *Revue du rhumatisme*, EL SEVIER 71 : 49-84.
- Palloza, P and Krinsky, N.I. (1992). β -carotène and α -tocophérol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.*, 297: 184-187.
- Parks, DA and Granger, DN. (1986). Xanthine oxydase: *Biochemistry distribution and physiology*. Scand Acta 548: 87-99.
- Perlstein, T.S., Gumieniak, O and Hopkins, P.N. (2004). Uric acid and the state of the intrarenal renin-angiotensin system in humans. *Kidney Int*, 66:1465-70.
- Poon, A.H., Hall, H.Aand Zimmermann, B. (2009). Approach To the Treatment of Hyperuricemia. *Medicine & Health*, 92: 359-361.

- Rodriguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Khodir, M., Segura-Carretero, A and Fernandez-Gutierrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 77: 167–174.
- Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N and Tattini, M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoids glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Photochemical analysis*, 13: 79-86.
- Seet, R.C.S., Kasiman, K., Gruber, J., Yew Tang, S., Wong, M.C., Chang, H.M., Chan, Y.H., Halliwell, B and Chen, C.P. (2009). Is uric acid protective or deleterious in acute ischemic stroke? A prospective cohort study. *Atherosclerosis*, 209: 215–219.
- Shi, Y. W., Wang, C. P., Wang, X., Zhang, Y. L., Liu, L., Wang, R. W., Hu, L. S., Kong, L. D and Ye, J. F., (2012). Uricosuric and nephroprotective properties of *Ramulus Mori* ethanol extract in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 143: 896-904.
- Silva, C.R, Janaina K. Frohlich, J.K., Oliveira, S.M., Cabreira, T.N., Rossato, M.F., Trevisan, G., Froeder, A.L., Bochi., G.V., Moresco R.N., Athayde, M.L., and Ferreira, J. (2013). The antinociceptive and anti-inflammatory effects of the crude extract of *Jatropha haisabellei* in a rat gout model. *Journal of Ethnopharmacology* 145 205 –213.
- Sio, S.O., Cortes-Maramba, N.P and Sia., J.P. (1998). Antihyperuricemic effect of freeze dried aqueous extract of *Peperomia pellucida* L, *Ulasimang bato* in rats *Acta Medica Philippina*, 1: 12-21.
- Smith, R.D. (1980). Avicenna and the Canon of Medicine: A millennial tribute. Ed. *West J Med*, 133:367-370.
- So, A. (2007). Avancées récentes dans la physiopathologie de l'hyperuricémie et de la goutte. *Revue Médicale Suisse*, 103 : 32128
- Strazzullo et P., Puig, J.G. (2007). Uric acid and oxidative stress: Relative impact on cardiovascular risk. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 17: 409-414.
- Takano, Y., Hase-Aoki, K., Horiuchi, H., Zhao, L., Kasahara, Y., Kondo, S and Becker, M.A. (2005). Selectivity of febuxostat, a novel non-purine inhibitor of xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase. *Life Sciences*, 76: 1835 – 1847.

- Terkeltaub., R.A. (2003). Gout. *The new england journal of medicine*, 349:1647-55.
- Tsouli, S.G., Evangelos, N., Liberopoulos, E.N., Mikhailidis, D.P., Athyros, V.G and Elisaf, M.S. (2006). Elevated serum uric acid levels in metabolic syndrome:an active component or an innocent bystander.*Metabolism ClinicalExperimental*,55:1293-1301.
- Wang, S. Y., Yang, C. W., Liao, J. W., Zhen, W. W., Chu, F. H., & Chang, S. T. (2008). Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomedicine*, 15: 940-945.
- Wang, X., Wang, C P., Hu, Q H., Lv, Y Z., Zhang, X., Yang, Z O., and Kong, L D., (2010). The dual actions of *Sanmiao wan* as a hypouricemic agent: Down-regulation of hepatic XOD and renal mURAT1 in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 107-115.
- Wang, Y., Zhu, J.X., Kong, L.D., Yang, C., Ki Cheng, C.K and Zhang, X. (2004). Administration of Procyanidins from G rape Seeds Reduces Serum Uric Acid Levels and Decreases Hepatic Xanthine Dehydrogenase/Oxidase Activities in Oxonate-Treated Mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 94: 232–237.
- Wong, C.C., Botting, N.P., Orfila, C., Al-Maharik., N and Williamson, G. (2012). Flavonoid conjugates interact with organic anion transporters (OATs) and attenuate cytotoxicity of adefovir mediated by organic anion transporter 1(OAT1/SLC22A6). *Biochemical Pharmacology*, 38: 514- 563
- Zhao, X., Zhu, J. X., Mo, S. F., Pan, Y., and Kong, L. D. (2006). Effects of cassia oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver.*Journal of ethnopharmacology*,103 :357-65.
- Zhu, J. X., Wang, Y., Kong, L. D., Yang, C., and Zhang, X., (2004). Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 133-140
- Zhu, W., Pang, M., Dong, L., Huang, X., Wang, S and Zhou, L. (2012). Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill (Rubiaceae) on uric acid nephropathy rats. *Life Sciences*, 91:369– 376

ANNEXES

Annexes

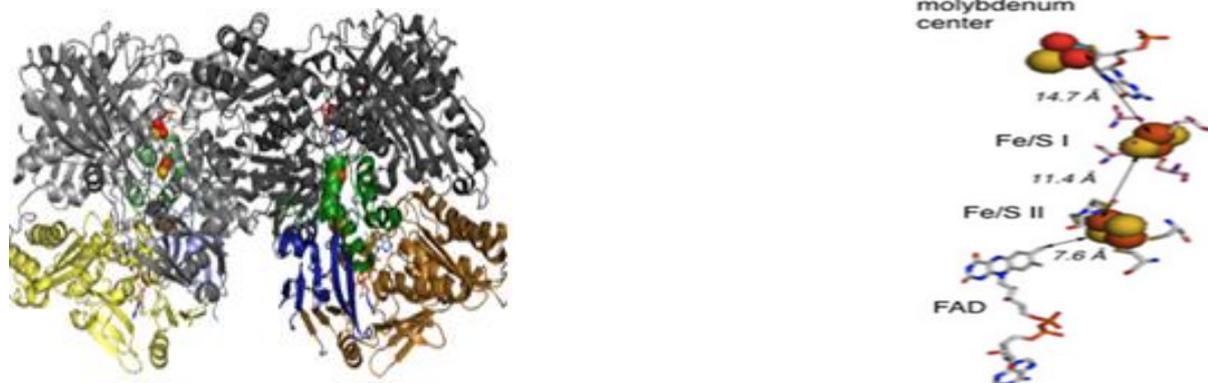


Figure 1 : Structure de la xanthine oxydoréductase bovine (Hille et *al.*, 2011).

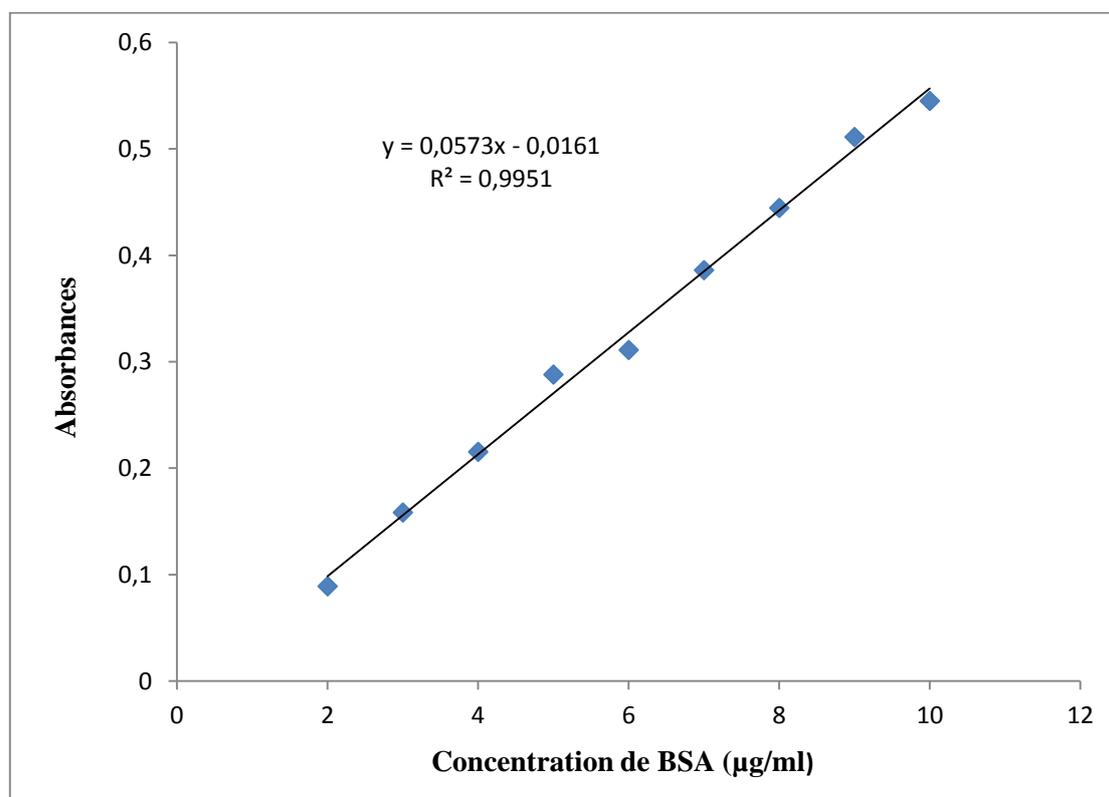


Figure 2: Courbe d'étalonnage du dosage de Bradford

Tableau I : appareils utilisés dans les tests étudiés

Appareils	Type
Centrifugeuse	Sigma
Agitateur chauffant	VELP
Spectrophotomètre	SHIMADZU
Balance de précision (Max=600g, d= 0,001g)	RADWAG
Etuve	Binder
pH mètre	HANNA.
Sonicateur	Raypa.

Tableau II : produits chimiques et réactifs utilisés dans les tests étudiés.

Réactifs	Fournisseur
Carboxy-méthyl cellulose (CMC)	Sigma-Aldrich
Oxonate de potassium (OP)	Sigma-Aldrich
Xanthine	Sigma
Acide Ethylène-Diamine Tetraacetic (EDTA)	Biochem
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD ⁺)	Sigma-Aldrich
Acide chloridrique (HCl)	Biochem
Ethanol	Faprolab
Chloroforme	Faprolab
Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)	Sigma-Aldrich
Chlorure de potassium (KCl)	Biochem
Kits de dosage de l'acide urique	Sigma-Aldrich
Hydroxyde de sodium (NaOH)	Biochem
Bleu de coomassie G 250	Biochem

Résumé

L'objectif de cette étude est d'étudier l'effet de l'extrait aqueux des feuilles, des graines, et de l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus* sur les concentrations de l'acide urique sérique et de l'activité enzymatique de la xanthine oxydoréductase hépatique chez les souris normales et hyperuricémiques. L'hyperuricémie est induite par le prétraitement des souris par l'oxonate de potassium par voie intrapéritonéale (250mg/kg). Les résultats suite à l'administration des souris par voie orale des extraits aqueux des feuilles, des graines et l'écorce des racines de *P. lentiscus* aux doses 25, 50 et 100 mg/kg pendant 3 jours montrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) des niveaux de l'acide urique sérique des animaux normaux et hyperuricémiques. Le traitement des souris par l'extrait aqueux des graines révèle une inhibition significative ($p < 0,05$) de l'activité enzymatique de la XO/XDH des souris hyperuricémiques. Les différents mécanismes de l'activité anti-hyperuricémique des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* et leur richesse en molécule actives incitent l'engouement à entreprendre des recherches exhaustives.

Mots clés: hyperuricémie, xanthine oxydoréductase, acide urique, *Pistacia lentiscus*.

Abstract

The objective of this study is to investigate the effect of aqueous extract of leaves, seeds, bark and roots of *Pistacia lentiscus* on serum uric acid levels and enzyme activity of liver xanthine oxidoreductase in normal mice and hyperuricemia. Hyperuricemia is induced in mice by pretreatment potassium oxonate intraperitoneally (250mg/kg). The results following administration mice orally aqueous extracts of the leaves, seed and root bark of *P. lentiscus* at doses 25, 50 and 100 mg / kg for 3 days show a very highly significant ($p < 0.001$) in the levels of serum uric acid hyperuricemic and normal animals. Treatment of mice with the aqueous extract of seeds revealed a significant inhibition ($p < 0.05$) of the enzymatic activity of XO / XDH of hyperuricemic mouse. The different mechanisms of anti-hyperuricemic activity of aqueous extracts of *Pistacia lentiscus* and richness in active molecule encourage enthusiasm to undertake extensive research.

Keywords: Hyperuricemia, oxydoréductase xanthine, uric acid, *Pistacia lentiscus*.