

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
Spécialité Biochimie Fondamentale



Réf :

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

MASTER

Thème

***Interactions entre les composés phénoliques
et les lipides***

Présenté par :

Benaid Ouissam & Bekkari Zineb

Soutenu le : 26 Juin 2018

Devant le jury composé de :

M ^{me}	Debbache N.	M.C.B	Présidente
M ^{elle}	Ayouni K.	M.A.A	Encadreur
M ^{me}	Cheraft N.	M.A.A	Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018



Remerciements



Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail ,

*Notre gratitude et profonde reconnaissance va à notre enseignante et Promotrice M^{elle} **Ayouni K.** à qui ce travail doit beaucoup grâce à ses conseils et orientations.*

*A notre enseignante et Chef de département B.P.C M^{elle} **Ait Ali D.***

*Nous remercions M^{me} **Atmani D.** de nous avoir accueillis au sein du laboratoire de Biochimie appliquée*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail : la Présidente : M^{me} **Debbache N.** et l'examinatrice : M^{me} **Cheraft N.***

*Nous remercions aussi **Naima Saidène** et **Naima Tabti** ingénieurs du laboratoires de biochimie appliquée et de B.P.C respectivement.*

*On associe à ces remerciements Mr **Aissat Aghilas** et M^{me} **Yous Farah** pour leurs patience et disponibilité durant notre travail pratique.*

*Nous tenons à remercier vivement tout le personnel du département de la Biologie physico – chimique particulièrement M^{elle} **Kherraz Djamila.***

Merci merci et mille merci encore.

Ouissam & Zineb



Dédicace

Tout au début, je tiens à remercier le bon Dieu de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie à :

Mes très chers parents qui m'ont soutenu depuis toujours.

Mes deux sœurs :Dihia et Céline .

La mémoire de mes grand parents que dieu les accueillent dans son vaste paradis Djedi Abdellah, Djedi Mouhemed, Seti Faiza ainsi que dieu me garde ma chère adorable Seti Djouhera.

Mes oncles khalil Ferhat et Saadi, Tanton Riad ainsi que Ammi Hammid

Ammi Saïd et Ammi Saadi.

Mes tantes Fouzia , Lila , Dalila, Zahia et Kahina , Latifa et Souhila .

Toute la famille Benaïd et Hammadi.

Mes chères cousines Sihem, Nouda , Ikram , Sarah , Imane , Malak, Nihal , Chanéze Farah et la petite Aya .

Mes chers cousins Youcef, Mouhemed Zakaria , Yahya Zakaria , Abdellah, sans oublier mes petit chers Adam et Youcef .

Mes ami(e)s : Zineb, Imane, Biba, Kahina, Lydia, Tiziri, Merieme, Raouf, Arzeki, Islam, Samia, Kenza, Sarah .

Tous ceux qui ont contribué de prêt et de loin à la réalisation de ce travail.

Ouissam





Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant ce travail est achevé.

A la mémoire de celui qui guide toujours mes pas ; mon très cher père que la clémence de Dieu soit sur lui et l'accueillait dans son vaste paradis, qui ma laissée un immense vide, que rien ne pourrait le remplacer. Mon père même si t'es pas la mais ton existence est éternel dans mon cœur.

Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères et à qui je leurs serai éternellement reconnaissante :

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance et qui m'ont soutenu nuits et jours pendant tous mon parcours ; à toi ma chère **mère**, ma chère : tante **Zhira** toute ma reconnaissance, je vous dis*

MERCI.

*A mes très cheres soeurs : **Ouarda, Souad, Nadia, Kamilia** .*

*A mes admirables Frères : **Mamou, Fahim, Dadi, Hocine** .*

*A ceux qui ont soucis toujours de moi, qui ont été à mes cotés, mes très chers amis **Ferhat, Nabil, Islam, Idir, Lounis**.*

*A toutes mes copines : **Imane, Meriem, Kahina, Sarah, Lydia, Tiziri**.*

*A mes amies d'enfance : **Ouahiba**, ma binôme **Ouissam**.*

A tous ceux qui j'ai rencontré à l'Université, avec qui j'ai passé des moments inoubliables, spécialement qui m'ont soutenu.



Zineb

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Systématique de l'espèce <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	02
II	Les différentes catégories de polyphénols de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	05
III	Des exemples d'interactions de formes liposomales avec les polyphénols.	12
IV	Matériels et produits chimiques utilisés.	13
V	Pourcentages d'inhibition de taux de peroxydation lipidique en présence des extraits de feuilles et de l'écorce de <i>F. angustifolia</i> Vahl. ainsi que la rutine au bout de 7 ^{ème} jour d'incubation.	31

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Photographie originale de l'arbre de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl .	03
02	Structure d'un liposome.	09
03	Photographies originales des feuilles (A) et des écorces (B) de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	14
04	Photographie de l'obtention de la poudre des écorces (A) et des feuilles (B) de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	15
05	Procédure expérimentale de dosage des phénols totaux dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de <i>F.angustifolia</i> Vahl .	16
06	Procédure expérimentale de dosage des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl .	17
07	Procédure expérimentale de dosage des tannins dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl.	18
08	Procédure expérimentale de l'interaction des extraits phénoliques avec l'acide linoléique via l'inhibition de la peroxydation lipidique.	19
09	Taux d'extraction des composés phénoliques des feuilles et des écorces de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	20
10	Les teneurs en phénols totaux (A), flavonoïdes (B) et tannins (C) dans les extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de <i>F. angustifolia</i> Vahl.	22
11	Résultat des interactions de la rutine (50 et 100µg/ml) et l'acide linoléique.	24

12	Résultats d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique suite à ses interactions avec l'extrait de feuilles de <i>F.angustifolia</i> Vahl. à (25,50,75,100) µg/ml.	25
13	Résultat d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique suite à ces interactions avec l'extrait de l'écorce de <i>F.angustifolia</i> Vahl. à (25,50,75,100) µg/ml.	26
14	Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl. à celles de la rutine (100µg/ml).	27
15	Effet de la peroxydation de l'acide linoléique à une concentration de 100 µg/ml de différents extraits de feuilles et des écorces de <i>F. angustifolia</i> Vahl. et la rutine.	28
16	Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl. à celles de la rutine (50µg/ml).	29
17	Effet de la peroxydation de l'acide linoléique à une concentration de 50 µg/ml de différents extraits de feuilles et des écorces de <i>F. angustifolia</i> Vahl. et la rutine.	30

- ✚ **Q.** : Quercétine
- ✚ **A.T.** : Acide Tannique
- ✚ **A.G.** : Acide gallique
- ✚ **U.A.** : Unité d'absorbance
- ✚ **Eq.A.G.** : Equivalent d'acide gallique
- ✚ **Eq.A.T.** : Equivalent d'acide tannique
- ✚ **Eq.Q.** : Equivalent de Quercétine
- ✚ **rpm** : Tour par minute
- ✚ **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- ✚ **Cat.** : Catéchine
- ✚ **Cat. G.** :Catéchine gallate
- ✚ **E.C.** : Epicatéchine
- ✚ **E.C.G.** :Epicatéchine gallate
- ✚ **E.G.C.G.** :Epigallocatechine gallate
- ✚ **G.C.G.** :Gallocatechine gallate
- ✚ **P.G.G.** :1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -Dglucopyranose
- ✚ **pH** : Potentiel d'hydrogène
- ✚ **PC** : Phosphatidylcholine.

Sommaire

- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Liste des abréviations

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

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	02
I.1.1. Classification.....	02
I.1.2. Description botanique	03
I.1.3. Intérêts biologiques et pharmacologiques de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.....	03
I.2. Composés phénoliques et leurs propriétés physiques chimiques	04
I.3. Interactions entre les composés phénoliques et les lipides	06
I.3.1. Rappel sur les lipides	06
I.3.2. Rôles biologiques des lipides.....	07
I.3.3. Membranes lipidiques modèles en expérimentation.....	08
I.3.4. Peroxydation lipidique	09
I.4. Mécanismes des interactions entre les composés phénoliques et les entités lipidiques..	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	13
II.1.1. Equipements, verreries et produits chimiques	13
II.1.2. Matériel végétal	14
II.2. Méthodes	14
II.2.1. Extraction éthanolique à partir des écorces et des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.....	14
II.2.1.1. Préparation de la poudre végétale (écorces et feuilles)	14
II.2.1.2. Extraction des composés phénoliques des écorces et des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.....	15
II.2.2. Dosage des composés phénoliques des extraits de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	16

II.2.2.1. Dosage des phénols totaux	16
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes	16
II.2.2.3. Dosage des tannins	17
II.3.3 Interaction des extraits phénoliques avec l'acide linoléique via l'inhibition de sa peroxydation	18
II.3.4 Analyse statistique	19
 Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Taux d'extraction	20
III.2. Teneurs en composés phénoliques	22
III.3. Résultats des interactions des composés phénoliques et l'acide linoléiques.....	23
III.3.1.Résultats des interactions rutine-acide linoléique	24
III.3.2.Résultats des interactions extrait de feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl. avec l'acide linoléique	25
III.3.3.Résultats des interactions extrait de l'écorce de <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl. avec l'acide linoléique	26
III.3.4.Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl. à celles de la rutine (100µg/ml)	27
III.3.5.Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de <i>F. angustifolia</i> Vahl. à celles de la rutine (50µg/ml)	29
Conclusion et perspectives.....	34
<i>Références bibliographiques</i>	35
<i>Annexes</i>	

Le corps humain produit des espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui sont des particules très réactives considérées comme de dangereux produits du métabolisme. Elles induisent l'oxydation de molécules biologiques dont les sucres, les lipides, les protéines les acides aminés libres et les acides nucléiques, conduisant à de nombreuses maladies tels que les maladies cardiovasculaires, les pathologies inflammatoires, la dégénérescence du système immunitaire, l'accélération du processus de vieillissement, et le cancer. La peroxydation lipidique recouvre la dégradation des lipides, plus particulièrement les lipides membranaires tels que : le cholestérol, les phospholipides et les acides gras insaturés (**Fuchs, 1991**). Cette oxydation provoque la perte de la fluidité membranaire et de la perméabilité cellulaire, ce qui provoque la mort cellulaire.

Pour traiter ces pathologies, les traitements actuels à base des molécules synthétisées par voie chimique présentent des effets secondaires sur la santé humaine, il est donc capital de trouver de nouvelles molécules efficaces afin de prévenir et guérir ces pathologies. Pour supplier à cela la recherche scientifique est de plus en plus orientée vers l'investigation des produits naturels, tels que les plantes, dont les vertus thérapeutiques sont souvent liées à leurs métabolites secondaires, incluant les composés phénoliques.

Ces composés phénoliques englobent des substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation successive (**Park et al., 2001**), par l'influence de la structure de ces composés phénoliques et leur interactions avec différentes biomolécules, particulièrement les lipides, les cibles privilégiée, des oxydants. Il est possible de ralentir ou d'inhiber l'oxydation des glycolipides, les phospholipides et du cholestérol (**Kajiya et al., 2002**).

Cette présente étude s'inscrit dans cette optique de valorisation d'une plante médicinale algérienne, *Fraxinus angustifolia* Vahl. localement très répandue et très utilisée dans le nord algérien, ainsi que le bassin méditerranéen, pour plusieurs propriétés médicinales. Ces dernières ont été attribuées par certaines références bibliographiques à leur richesse en différents principes actifs, parmi eux figurent des composés phénoliques.

Ce présent travail vise à évaluer les effets des interactions, *in vitro*, d'un composé phénolique présent dans cette plante, ainsi que les extraits phénoliques de ses feuilles et ses écorces, sur le processus de la peroxydation d'un acide gras polyinsaturé, l'acide linoléique.

I.1. Généralités sur *Fraxinus angustifolia* Vahl.

Fraxinus angustifolia Vahl. est une espèce de la famille des Oléacées commune, dans les régions humides de tout le Nord algérien. Selon la langue et la région, plusieurs noms vernaculaires sont attribués à *Fraxinus angustifolia*, appelée communément, le frêne à feuilles étroites, *Dardar* en arabe ou bien *Taslent*, *aslen* en kabyle et *Narrow-leaved Ash* en anglais (Rameau et Dumé, 1989).

Le frêne à feuilles étroites tire son origine du nom latin *Fragor*, ou *Fractura* en grec. C'est un arbre à croissance rapide et héliophile, il couvre l'Afrique centrale et l'Europe, l'Ouest de l'Asie, et le Nord africain, incluant le Nord de l'Algérie et du Maroc. Sa distribution est plus inégale et réduite à des populations plus petites et plus isolées sur les sites des zones humides, mais aussi sur des sites secs à des altitudes plus élevés, car il se produit principalement dans les climats doux (Meusel *et al.*, 1978).

I.1.1. Classification

Le genre *Fraxinus* a fait l'objet de plusieurs travaux de taxonomie, basés sur les aspects morphologiques, micro-morphologiques, mais aussi de phylogénie moléculaire. La taxonomie la plus récente de Wallander (2013), situe *Fraxinus angustifolia* dans le rang taxonomique illustré dans le tableau suivant :

Tableau I: Systématique de l'espèce *Fraxinus angustifolia* (Wallander, 2013).

<i>Rang taxonomique</i>	<i>Nomenclature</i>
• Règne	- Végétale
• Sous règne	- Eucaryotes
• Embranchement	- Spermaphytes
• Sous embranchement	- Angiospermes
• Classe	- Dicotylédones
• Sous classe	- Astérides
• Ordre	- Oléales
• Famille	- Oléacées
• Sous famille	- Oléoidées
• Genre	- <i>Fraxinus</i>
• Espèce	- <i>Fraxinus angustifolia</i>

I.1.2. Description botanique

Le genre *Fraxinus* compte plus de 65 espèces dans le monde, de morphologies très diversifiées et influencées par les environnements biogéographiques. *Fraxinus angustifolia* Vahl. est un grand arbre de taille moyenne qui mesure de 15 à 20 m et 1,5 m de diamètre, sa couronne est dense irrégulière et en forme de dôme avec des pousses fissurées (Wallander, 2013).



Figure 1 : Photographie originale de l'arbre de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

Cet arbre méditerranéen, possède des feuilles minces composées disposées en groupes de 7 à 13 imparipennées, de longueur de 3 à 8 cm et de largeur de 1 à 1.5, cm à bordure dentée, ayant une couleur claire en dessous et verte sur la face supérieure, une écorce grisâtre et un fruit qui est une samare à aile allongée contenant une seule graine ovale. Cette samare fait 3 à 4 cm de long, aplatis et elle munit en été. Cette espèce contient des fleurs avec inflorescence de 10 à 30 fleurs hermaphrodites. Cependant quelques inflorescences avec des fleurs purement mâles peuvent apparaître et sont pollinisées par le vent. Elles sont de couleur marron sans pétales ni sépales regroupées en panicules (Bobinac *et al.*, 2010).

I.1.3. Intérêts biologiques et pharmacologiques de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

La famille des Oléacées est l'une des principales familles contenant des espèces ayant des propriétés médicinales. *Fraxinus angustifolia* Vahl. est une plante très exploitée que ce soit au niveau médical ou industriel. En médecine traditionnelle, les utilisations de cette plante sont très variées, les feuilles sont utilisées comme remède anti-rhumatismal, anti-arthrite, anti-goutte, fébrifuge et analgésique, hypotensif et antiseptique, hypocholestérolémiant, contre les hémorroïdes, elles sont aussi efficaces contre les diarrhées et les parasites intestinaux (Goodmann et Hobbs, 1988). L'écorce est utilisée contre l'hémorragie, la lithiase et la fièvre

intermittente. Elle est utilisée aussi pour traiter les pathologies du système digestif et les problèmes du système nerveux (**Fakchich et Elachouri, 2014**).

Les percées des connaissances chimiques, physiques et physiologiques ont permis la mise en évidence des principes actifs des végétaux et les possibilités de leurs extractions, permettant de confirmer leurs activités biologiques. *Fraxinus angustifolia* Vahl. a révélé plusieurs activités telles que anti-inflammatoire, antioxydante (**Atmani et al., 2009**), mais aussi anti-enzymatique (**Berboucha et al., 2010**), qui ont été principalement liées à ces contenus en métabolites secondaires de nature phénolique.

I.2. Composés phénoliques et leurs propriétés physico-chimiques

Les composés phénoliques constituent un groupe complexe de substances, dont l'élément structural fondamental, est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction éther, ester ou hétéroside. Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux, ordinairement engendrés en réponse aux stress environnementaux, pour fournir une protection contre les agents pathogènes et les prédateurs et déterminer leurs qualités sensorielle et nutritionnelle (**Balasundram et al., 2005**).

Plusieurs composés phénoliques sont retrouvés chez l'espèce *Fraxinus angustifolia* Vahl. comme les coumarines, les secoiridoides, les lignanes, les flavonoïdes et les tannins (**Tableau II**).

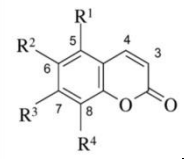
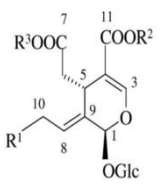
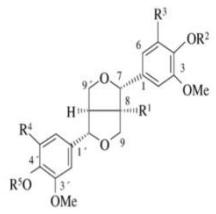
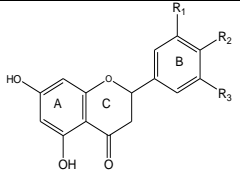
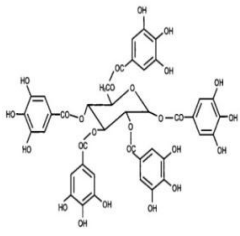
Les coumarines sont des dérivés des acides hydroxycinnamiques. Largement distribuées dans tout le règne végétal. Elles peuvent être présentes dans le fruit, les fleurs, les racines, les feuilles et les graines (**Croteau et al., 2000**).

Les secoiridoides chez *Fraxinus* sont habituellement produits comme glycosides, puis se trouvent sous forme d'ester, l'endroit habituel d'estérification étant en C-7 et en C-11, tandis que d'autres contiennent deux groupements ester phénéthoxy lié à C-7 et dans certains cas les liaisons d'ester par l'intermédiaire du groupement OH phénolique, ou d'un résidu de sucre (**Kostova et Iossifova, 2007**).

Les lignanes sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols. Ces mêmes unités de base servent aussi aux végétaux pour synthétiser un long polymère ramifié, les lignanes se trouvent sous forme glucoside, ce sont essentiellement de type tetrahydrofurofuran (**Kostova et Iossifova, 2007**).

Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure de base commune en C6-C3-C6 dans laquelle deux cycles benzéniques (cycle A et B) sont reliés par un hétérocycle oxygéné en C3 (cycle C) (Ribereau-Gayon, 1968).

Tableau II: Les différentes catégories de polyphénols de *Fraxinus angustifolia* (Peronny, 2005 ; Kostova et Iossifova, 2007).

Catégories	Structures	Exemples
Coumarines		-Esculetine, Esculin -Cichoriin, scopolétine -Isoscopoletin -Fraxetine, - Fraxine -Fraxinol
Secoiridoïdes		-Oléoside 7-méthylester -Oleuropeine -Ligstroside -Angustifolioside A/B -Fraxicarboside A/B/C -Ligstral -Oleoside 7, 11-diméthylester -Oleobutyle -Ligstrobutyl -Secoiridoïde GI3, GI5
Lignanes		-Pinoresinol 4 O-βglucopyranoside -8-hydroxypinoresinol 4 O-β-glucopyranoside -Fraxiresinol -8-O -β-Dglucopyranoside -Pinoresinol
Flavonoïdes		-Kaempferol - Quercétine -Rutine -Astragalin -Nicotiflorin
Tannins		-Tannins hydrolysables

Les tannins, de part leur première définition physico-chimique donnée par Bate Smith, il s'agit de composés phénoliques solubles dans l'eau, possédant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da, ayant une capacité à faire précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres

protéines. Ces tannins sont localisés dans les feuilles, l'écorce et les fruits de nombreuses plantes, incluant les espèces de genre *Fraxinus* (Bate Smith, 1954).

✚ Propriétés physico-chimiques des composés phénoliques

La polarisation des phénols leur permet de développer de fortes interactions moléculaires de dispersion avec d'autres composés polarisables, ce phénomène résulte du couplage entre les fluctuations électroniques de deux molécules voisines, ainsi en solution aqueuse, l'interaction du noyau benzénique apolaire du phénol avec une autre entité polarisable telle qu'un second cycle aromatique est favorisée par l'effet hydrophobe (Nkhili, 2009).

Les phénols possèdent des activités pharmacologiques et biochimiques dues à leur pouvoir de se lier aux protéines, en plus de leur capacité de les précipiter, ces polyphénols sont aussi capables d'inhiber l'activité de divers enzymes. Ils interagissent également avec les lipides, en les protégeant de l'oxydation (Atrooz, 2007). En effet, les phénols sont des donneurs de la liaison hydrogène en raison du caractère acide du proton du groupe OH, mais aussi des accepteurs de la liaison hydrogène (Nkhili, 2009).

La taille du polyphénol, soit le degré de sa polymérisation pour les tanins condensés, est importante. L'augmentation de leur poids moléculaire favorise la complexation avec les protéines. Plus il y a de OH plus l'affinité est importante (Simon, 2003).

I.3. Interactions entre les composés phénoliques et les lipides

I.3.1. Rappel sur les lipides

Les lipides constituent une classe complexe hétérogène de métabolites, définis comme étant insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Auparavant, les lipides étaient le plus souvent définis comme dérivés des acides gras, ces derniers sont des acides carboxyliques R-COOH, dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable, qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras). Les lipides résultent de la condensation d'acides gras avec des alcools (liaison ester) ou avec des amines (liaison amide) (Etournaud, 2007).

Les lipides proviennent de sources végétales comme les fruits oléagineux (olive, palmier à huile) et les graines (tournesol, colza), mais aussi de sources animales telles que les graisses de dépôts (saindoux, suifs), graisse de lait (ruminants) et la graisse de la faune-aquatique (poissons, mammifères marins) (Etournaud, 2007).

I.3.2. Rôles biologiques des lipides

Les lipides naturels jouent de nombreux rôles dans le monde vivant : réserves intracellulaires d'énergie, précurseurs d'activité biologique (hormones stéroïdes...) et matériaux de structure (membranes biologiques...). (En effet, presque la moitié de la masse de la membrane plasmique sont des lipides, différenciés selon leur groupe polaire, leur longueur de chaîne et leur degré d'insaturation. Malgré que la composition de la membrane est différente selon le type de cellule, mais les phospholipides (glycérophospholipides et sphingolipides) et les stérols restent le plus souvent les lipides les plus abondants de la membrane plasmique (Leterrier, 1989).

-Les phospholipides sont composés d'un glycérol, de deux acides gras à longues chaînes (14 à 24 carbones), d'un phosphate et d'un alcool primaire phosphorylé avec une chaîne possédant une fonction amine. Ils s'auto-organisent en un double feuillet, possédant une tête polaire hydrophile dirigée vers le milieu aqueux, et une queue constituée de deux chaînes hydrocarbonées hydrophobes, pointant à l'intérieure de la membrane.

Les glycérophospholipides possèdent sur leur tête polaire un squelette glycérol, un groupement acide phosphorique chargé négativement et un groupe supplémentaire qui confère au lipide son identité. Et deux chaînes hydrocarbonées. Les chaînes peuvent contenir des doubles liaisons, c'est-à-dire des insaturations. Chaque double liaison provoque la perte d'un degré de liberté, ce qui change la géométrie de la molécule et donc *a priori* le type d'agrégat qu'elle peut former. Les glycérophospholipides les plus abondants dans la membrane plasmique sont les phosphatidyléthanolamines (PE), les phosphatidyl serines (PS), les phosphatidyl inositols (PI), les phosphatidylcholines (PC) et l'acide phosphatidique (PA) (Alberts, 2002).

Les sphingolipides (SL) possèdent une base à longue chaîne qui peut être insaturée (sphingosine) ou saturée (dihydrosphingosine) liée à un acide gras par une liaison amide. Quand ils possèdent des chaînes saturées (ou *trans* – insaturées), elles leur permettent de former des cylindres plus hauts et plus étroits que ceux de la PC et de se compacter plus à longueur de chaîne identique. Le sphingolipide le plus abondant dans les membranes cellulaires est la sphingomyéline (SM) (Dimitra, 2012).

-Les stérols sont des lipides non lyotropes extrêmement hydrophobes et d'important constituants de la membrane cellulaire. Dans les cellules mammifères le stérol et le cholestérol sont majoritaires. Le cholestérol est un dérivé d'un alcool cyclique appelé stérol. Il possède une

structure de stéroïde comptant 4 cycles rigides et une courte chaîne hydrocarbonée ramifiée, il s'agit du deuxième lipide le plus abondant de la membrane plasmique, il participe nettement à la fluidité membranaire (**Boesze-Battaglia et Schimmel, 1997**).

I.3.3. Membranes lipidiques modèles en expérimentation

Afin d'étudier les différents phénomènes complexes qui impliquent la membrane biologique, il est nécessaire d'avoir la possibilité de simplifier, de modéliser et de modifier la composition et/ou l'environnement. Cela est possible à l'aide des membranes modèles. Une membrane modèle est une bicouche lipidique artificielle, dont on peut contrôler la composition et l'environnement. Il existe plusieurs types de membranes modèles avec des avantages et des inconvénients spécifiques de chacune. La membrane modèle appropriée est choisie en fonction de la propriété, du phénomène ou de l'interaction qui est étudiée, ainsi que selon les limitations de la technique d'étude envisagée. Un des modèles largement utilisés est le liposome (**Chan et Boxer, 2007**).

Les liposomes (**Figure 3**) ont été découverts par Alec Bangham et ses collègues dans les années 1960. Le terme liposome dérive de deux mots d'origine grecque, *lipos* qui signifie gras et *soma* qui signifie corps. Les liposomes sont des vésicules sphériques composées d'une ou plusieurs bicouches phospholipidiques entourant des compartiments aqueux. Leur taille varie d'une vingtaine de nanomètres à quelques micromètres. Ils sont utilisés comme système de délivrance de substances actives. Ils peuvent encapsuler à la fois des substances hydrophiles dans le compartiment aqueux, lipophiles dans la membrane et amphiphiles à l'interface eau-lipide (**Laouini et al., 2012**).

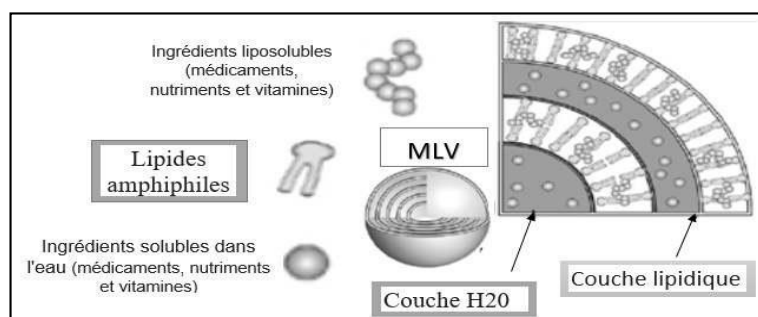


Figure 3 : Structure d'un liposome selon **Keller (2001)**.

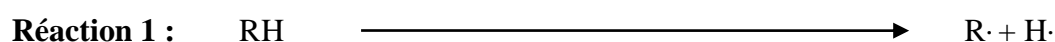
Les liposomes sont constitués généralement d'un ou de plusieurs types de phospholipides et très souvent le cholestérol, ainsi que d'autres constituants, tels que les chaînes de polyéthylène glycol (PEG) (Keller, 2001).

I.3.4. Peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides est causée par un excès des espèces réactives de l'oxygène (EROs), y compris les radicaux libres, naturellement produites par le corps humain pendant les métabolismes normaux du dioxygène (Halliwell, 2009). La peroxydation des lipides est une réaction auto-catalytique qui, correspond à une fixation d'oxygène sur des molécules insaturées. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison.

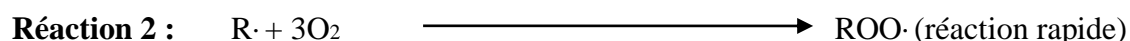
▪ L'initiation

Au cours de l'initiation, un radical libre se produit par élimination d'un hydrogène d'une liaison d'un acide ou d'un résidu d'acide gras insaturé selon la **Réaction 1**, mais dans un premier temps il faut qu'un atome d'hydrogène soit enlevé sur la chaîne des doubles liaisons. L'oxygène (ou plutôt les EROs) n'est pas le seul responsable de cette réaction initiant la peroxydation. Différents mécanismes réactionnels sont également impliqués, comme une élévation de la température, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces réactives de l'oxygène, ou encore des traces de métaux (Gill et tuteja, 2010).



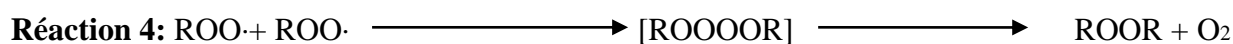
▪ Propagation :

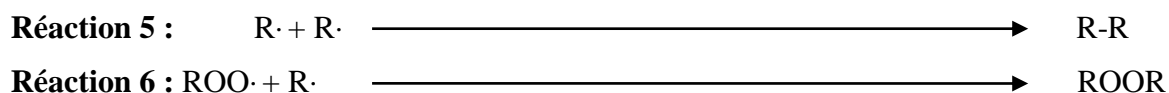
Les radicaux libres alkyles (R·), formés lors de l'initiation, fixent très rapidement l'oxygène moléculaire à l'état normal et forment des radicaux libres peroxydés (ROO·) instables **Réaction 2** qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturé pour former des peroxydes **Réaction 3** (Gill et tuteja, 2010).



▪ Terminaison :

Au cours des réactions de terminaison, les radicaux formés peuvent interagir entre eux pour former un produit qui n'est pas un radical libre **Réactions 4, 5 et 6** (Gill et tuteja, 2010).





L'oxydation des lipides, en particulier des résidus d'acides gras polyinsaturés, conduit à la formation de produits primaires : peroxydes, radicaux libres, diènes conjugués, très instables et rapidement décomposés en produits secondaires (aldéhydes, alcools, cétones), ce qui pourrait à long terme, participer au développement de pathologies dégénératives, telles que des désordres intestinaux chroniques, ou encore divers cancers (**Poisson et Narce, 2003**).

Pour combattre les EROs, le métabolisme humain a développé des mécanismes de système de défense enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase, catalase) et des composés endogènes antioxydants (le glutathion, coenzyme Q, vitamine E...). Cependant, lorsque ce dernier devient inefficace, le stress oxydant se produit c'est-à-dire un déséquilibre entre les antioxydants et les EROs. L'une des façons de contrer l'oxydation des lipides et ses effets délétères seraient de consommer des antioxydants exogènes (**Poisson et Narce, 2003**).

I.4. Mécanismes des interactions entre les composés phénoliques et les entités lipidiques

Les interactions de polyphénols avec la bicouche lipidique comprennent : la partition des composés les plus apolaires dans la bicouche lipidique de la membrane, la formation des liaisons hydrogènes entre le polyphénol le plus hydrophile et les groupements de tête polaire du lipide et à l'interface de la membrane et le comportement du cholestérol, le composant commun de la bicouche lipidique situé dans cette dernière par son groupe hydroxyle disponible pour la liaison hydrogène avec la solution aqueuse environnante.

Les flavonoïdes présentent un effet antioxydant protecteur dans les milieux aqueux a également montré un effet antioxydant protecteur sur les lipides, cet effet était dû soit au positionnement particulier du polyphénols à la surface des liposomes soit la partition de ces molécules dans le compartiment lipidique (**Rice-Evans et al., 1996**).

La lipophilie des flavonoïdes et leur capacité à interagir avec les membranes biologiques sont des facteurs importants de leur activité pharmacologique, similaires aux polyphénols, de nombreux flavonoïdes contient un certain nombre de groupe hydroxyle qui confèrent une certaine polarité et de faibles propriétés acides aux molécules. Il a été démontré expérimentalement qu'il ya une corrélation inverse entre le nombre de groupe d'hydroxyle et la lipophile des flavonoïdes (**Van Dijk et al., 2000**).

L'implication des liaisons hydrogènes dans ces interactions a été suggérée par plusieurs auteurs. Ces liaisons se feraient principalement entre les fonctions hydroxyles des tannins et le groupement phosphate dans le cas des tannins localisés à la surface de la membrane (CG, EGC, ECG, GCG) et de la fonction carbonyle dans le cas des tannins s'ancrant légèrement dans la membrane (C, EC, EGCG) (**Sirk et al., 2008**).

Sirk et al. (2008) montrent que dans le cas des tannins galloylés, les liaisons hydrogène se forment avec les fonctions hydroxyles du groupement galloyle et du cycle pyrogalloyle. A l'inverse, dans le cas des tannins non galloylés, à base de catéchine ou d'épicatéchine, les liaisons hydrogènes se formeraient principalement avec le cycle phloroglucinol. Ainsi, à l'exception notable d'ECG, les tannins galloylés formeraient généralement plus de liaisons hydrogènes que les tannins non galloylés. Outre la présence de liaison hydrogène **Uekusa et al. (2011)** suggèrent, notamment dans le cas des lipides présentant une tête choline, la présence d'interactions de type cation $-\pi$ entre l'amine quaternaire chargée positivement du groupement choline du lipide et les cycles aromatiques des tannins.

Les conséquences de ces interactions peuvent influencer à la fois l'encapsulation, l'efficacité et le taux de libération de polyphénols. En ce qui concerne le stockage, l'encapsulation de polyphénols prend heureusement avantage des propriétés antioxydantes de polyphénols, qui peuvent être très bénéfiques pour le manque de la stabilité de liposome en raison de l'oxydation et l'agrégation des lipides insaturés et améliorent leur stabilité au stockage.

Atrooz a montré que les polyphénols peuvent réduire l'oxydation des lipides et de l'agrégation et améliore leur stabilité au stockage. Par conséquent, l'encapsulation de polyphénols dans les liposomes peut stabiliser le polyphénol lui-même (**Atrooz, 2007**).

Tableau III : Exemples d'interactions de formes liposomales avec les polyphénols. (Nathalie *et al.*,2013)

Polyphénols	Formulation	% (p/p) 1	Effet de la formulation 2
Fisetin	DOPC/DOPC/DOPA- PEG ₂₀₀₀ /Fis8/1,3 /0,4/0,3 hydratation du film + extrusion, MLV	18	biodisponibilité accrue et l'efficacité antitumorale
Quercétine	PE/Chol/DPC/QC7/1/1/1 hydratation du film+ sonication	10	effet antioxydant de la formulation <i>in vivo</i>
Quercétine	Lécithine/Chol/PEG 4000 hydratation du film + lyodratation, SUV	30	une solution accrue, la biodisponibilité accrue et l'efficacité antitumorale <i>in vivo</i>
Resveratrol	DPPC/DSPE PEG2000/Chol 1,85/0,15/1 film Hydratation + extrusion	0,1 - 5	solution améliorée et la stabilité chimique
Resveratrol	P90G/DCP/Chol + sonication extrusion	1,5	Une efficacité prolongée et une meilleure protection contre les UV B
Silymarine	Lécithine/Chol/amine stéarylique/Tween20 9/1/1/0,5 hydratation du film		Augmentation de la stabilité, la biodisponibilité et la protection du foie
Silymarine	Mannitol, phospholipides proliposomes	20	Biodisponibilité orale améliorée

PEG : Polyéthylène glycol, DOPC : Dioleoly-phosphatidylcholine, DPPC : Dipalmitoyl-phosphatidylcholine, SEV : Small unimellar vesicle, DOPA-PEG : Dioctadecylcarbomoylnethoxyacetyl -acetic acide (methoxy)-polyéthylène glycol, PEC : Egg phosphatidylcholine P90G : Phospholipon 90G, PSPE-PEG : Disteroyl-phosphotielylethanolaminopolyéthylène glycol, Chol : Cholestérol, MLV: Multilamellar Vesicle, 1: Percent of polyphenol/lipids, 2: Effects as compared to the free drug, P/P : Poids/Poids.

L'interaction avec la bicouche lipidique dépend du pH, qui détermine les charges électrostatiques des flavonoïdes et des molécules lipidiques. Selon une règle générale un pH inférieur entraîne une déprotonation inférieure des groupements polaires et donc une pénétration plus profonde des flavonoïdes dans la bicouche lipidique bien que les plus grands flavonoïdes révèlent une certaine lipophilie. En effet, il a été montré que les membranes chargées négativement diminuent l'affinité entre tannins et lipides, à l'inverse des membranes chargées positivement. L'affinité entre les tannins et les modèles membranaires serait augmentée par la présence de sels ou de peptides dans le milieu, qui on s'associant avec les tannins formeraient un complexe plus hydrophobe qui faciliterait l'interaction avec le modèle membranaire (Uekusa *et al.*, 2008) a indiqué que l'incorporation de polyphénols dans la membrane biologique dépend aussi étroitement de leurs structures chimique.

Le but de notre travail consiste à étudier les interactions entre les composés phénoliques des extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *F.angustifolia* Vahl. via l'inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique.

II.1. Matériel

II.1.1. Equipements, verreries et produits chimiques

Plusieurs produits chimiques, équipements et verreries ont été utilisés pour réaliser ce travail, le tableau suivant les regroupe.

Tableau IV : Matériel et produits chimiques utilisés.

Equipements et verreries	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> ✚ Etuve (ECOCELL). ✚ Broyeur(KIKA). ✚ Tamiseur électrique (RETSCH 63µm). ✚ Centrifugeuse (SIGMA). ✚ Rotavapeur (HEIDOLPH). ✚ Hotte. ✚ Gants. ✚ Balance analytique (RADWAG). ✚ Agitateurs électromagnétiques (VELP). ✚ Vortex (VELP). ✚ pH-mètre (HANNA). ✚ Spectrophotomètre (SHIMADZU). ✚ Micropipettes(GLASSCO) (05µL-100µl, 100µl- 1000µl). ✚ Bechers. ✚ Tubes à essais. ✚ Ballons à fonds ronds. ✚ Barreaux magnétiques. ✚ Erlenmeyers. ✚ Tubes à hémolyse. ✚ Ballons à fonds plats. ✚ Ependorffs (1,5 _ 2 ml). ✚ Eprouvettes. ✚ Entonnoirs. ✚ Tubes de microbiologie. 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Méthanol absolu. ✚ Ethanol absolu (99,5% ; 99,99%). ✚ Folin Ciocalteux (1N). ✚ Eau distillée. ✚ Quercétine (C₁₅H₁₀O₇). ✚ Rutine(C₂₇H₃₀O₁₆). ✚ Acide Tannique (C₇₆H₅₂O₄₆). ✚ Acide gallique (C₇H₆O₅). ✚ Chlorure d'aluminium (AlCl₃). ✚ Acétate de Sodium (C₂H₃NaO₂). ✚ Carbonate de sodium (NaCO₃). ✚ Di-hydrogène Phosphate de Potassium (KH₂PO₄). ✚ Hydrogénophosphate de potassium (K₂PO₄). ✚ Acide Acétique (CH₃COOH). ✚ Chlorure de sodium (NaCl). ✚ Chlorures ferriques (FeCl₃). ✚ Chlorures de fer (FeCl₂). ✚ Thiocyanate d'ammonium (TCA) (NH₄SCN). ✚ Sodium Dodecyl sulfate (SDS). ✚ Triéthanolamine (TEA). ✚ Albumine du sérum bovin (BSA). ✚ Hydroxyde de sodium (NaOH). ✚ (chlorure d'hydrogène (HCl). ✚ Acide linoléique (C₁₈H₃₂O₂). ✚ Les réactifs sont majoritairement de marque (SIGMA). ✚ Les solvants et les acides sont de marque (BIOCHEM, PROLAB). ✚ L'eau distillée a été préparée en utilisant un distillateur (GFL 2104) au sein du laboratoire de biochimie appliqué.

II.1.2. Matériel végétal

II.1. 2 .1. Collecte de l'écorce et des feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

L'écorce et les feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl. utilisées dans cette étude ont été récoltées en juillet 2017, dans la forêt d'Akfadou, région de Chemini située à 70 Km d' Ouest de la ville de Bejaia, une région à climat subhumide afin de mener une étude sur ses extraits.



(A)



(B)

Figure 3 : Photographie originale des feuilles (A) et des écorces (B) de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction éthanolique à partir des écorces et des feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

II.2.1.1. Préparation de la poudre végétale (écorces et feuilles).

L'écorce et les feuilles collectées ont été séchées dans un endroit ombragé et aéré à une température ambiante. Afin d'éliminer toute humidité, les feuilles et les écorces sèches de *Fraxinus angustifolia* Vahl. ont été portées dans une étuve à 37C° pendant 12 heures, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène, qui a été tamisée à travers un tamiseur électrique dont le diamètre est $<63\mu\text{m}$. La poudre fine obtenue a été conservée dans des récipients et stockés à l'abri de la lumière.

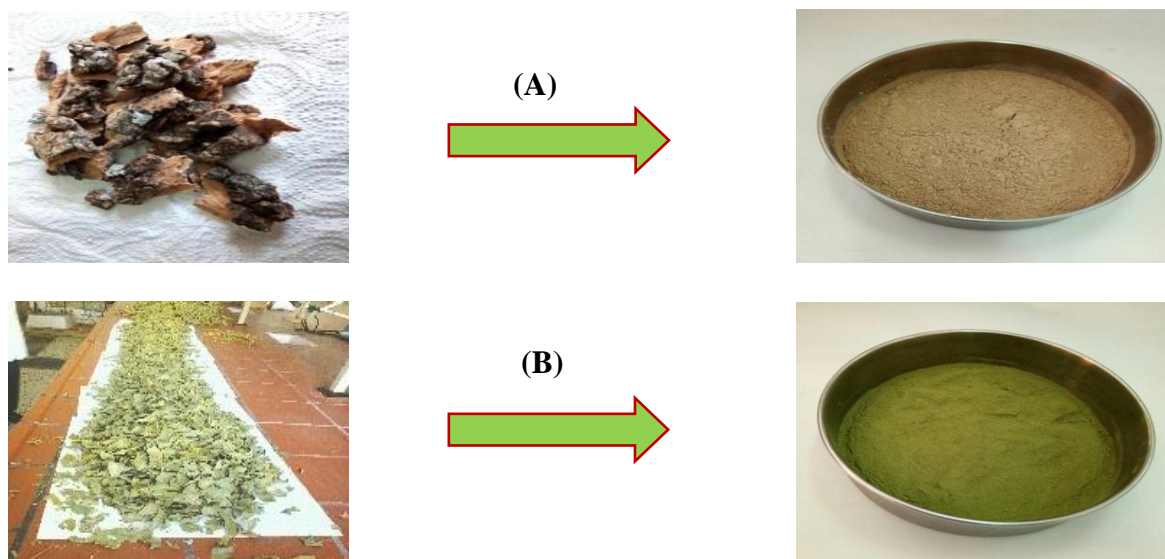


Figure 4 : Photographie originale de la préparation de poudres des écorces (A) et des feuilles (B) de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

II.2.1.2. Extraction des composés phénoliques des écorces et des feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

L'extraction éthanolique, visant principalement les composés phénoliques des écorces et des feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl., a été effectuée par l'épuisement d'un échantillon de 100g de la poudre fine ($< 63\mu\text{m}$) des écorces et des feuilles suite à une macération dans 400ml d'éthanol (99,99%) pendant 24h sous agitation, à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'air. Après une décantation pendant 12h, le surnageant a été récupéré et une deuxième extraction identique a été effectuée sur le culot. Les surnageants obtenus ont été centrifugés 15min à 2500 rpm pour se débarrasser de toute trace de poudre, les extraits éthanoliques des écorces et des feuilles ont été séchés au rotavapeur, permettant l'obtention des extraits brut éthanoliques secs.

Les extraits éthanoliques secs des feuilles et des écorces ont été pesés après la stabilisation du poids sec pour le calcul des rendements d'extraction :

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

✚ **P₁** : Poids du ballon avec extrait (g) après évaporation totale du solvant.

✚ **P₀** : Poids du ballon vide (g).

✚ **E** : Poids de la poudre (g).

II.2.2. Dosages des composés phénoliques des extraits de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

Ayant visé l'extraction des composés phénoliques de *F.angustifolia* Vahl., une investigation phytochimique de ces composés via des dosages colorimétriques a été menée.

II.2.2.1. Dosage des phénols totaux

Le protocole utilisé pour le dosage des phénols totaux est celui de **Kahkonen et al. (1999)**, basé sur le réactif de Folin Ciocalteu, constitué de polyhétérocycles qui seront réduits lors d'oxydation des phénols, ceci se traduit par la coloration bleue dont l'absorbance correspondante est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits testés. Expérimentalement, les phénols totaux des deux extraits éthanoliques (feuilles et écorces) ont été quantifiés, selon la procédure décrite dans la **figure (5)** suivante :

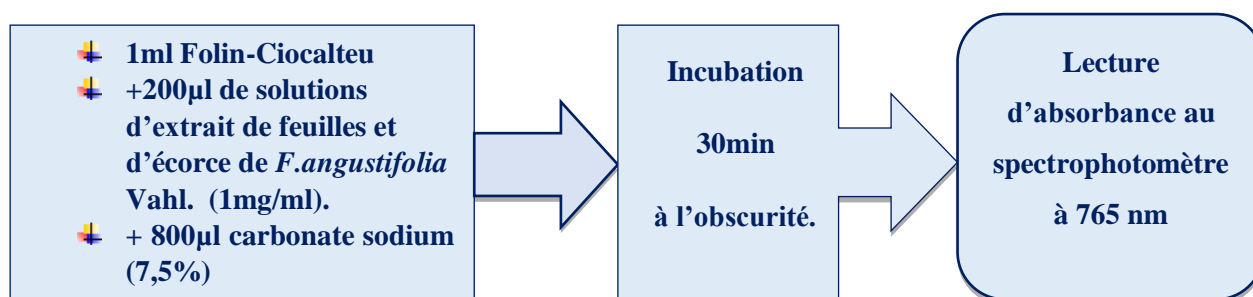


Figure 5 : Procédure expérimentale de dosage des phénols totaux dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de *F. angustifolia* Vahl.

Les tests ont été répétés trois fois contre un blanc, ou la solution d'extrait a été remplacée par du méthanol pour l'extrait éthanolique de l'écorce et des feuilles. Une courbe d'étalonnage (**Annexe 1**) a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme phénol de référence à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (**mg Eq.A.G. /g d'extrait**).

II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes a été estimée par la méthode de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par **Maksimovic et al. (2005)**, basé sur la formation d'un complexe de coloration jaunâtre très stable entre les chlorures d'aluminium ($AlCl_3$) et les groupements hydroxyles OH des flavonoïdes. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'extrait. Expérimentalement, les teneurs en flavonoïdes des deux

extraits éthanoliques de feuilles et des écorces ont été quantifiées comme récapitulé dans la **figure (6)** suivante :

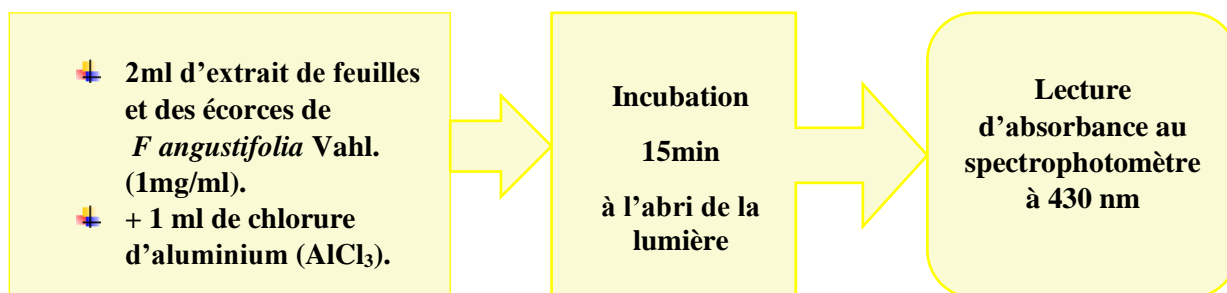


Figure 6 : Procédure expérimentale de dosage des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de *F. angustifolia* Vahl.

Les teneurs des flavonoïdes dans les deux extraits ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (**Annexe 2**) établie dans les mêmes conditions expérimentales par différentes concentrations d'un flavonoïde de référence, la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (**mg Eq. Q. /g d'extrait**).

II.2 .2.3. Dosage des tannins

L'estimation quantitative des tannins contenus dans les extraits éthanoliques des feuilles et des écorces a été réalisée par la méthode de **Hagerman et Bulter (1978)**. Le principe de cette méthode consiste à faire précipiter l'albumine du sérum de bovin (BSA) par les tannins présents dans l'extrait. La teneur du précipité en complexe tannins-protéines a été déterminée par spectrophotométrie, après hydrolyse alcaline (SDS/TEA) et réaction de l'hydrolysate avec les chlorures ferriques, qui favorisent l'apparition d'une couleur violette. Expérimentalement, les taux des tannins présents dans les deux extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *F. angustifolia* Vahl. ont été quantifiés par la procédure décrite dans la **figure (7)** suivante :

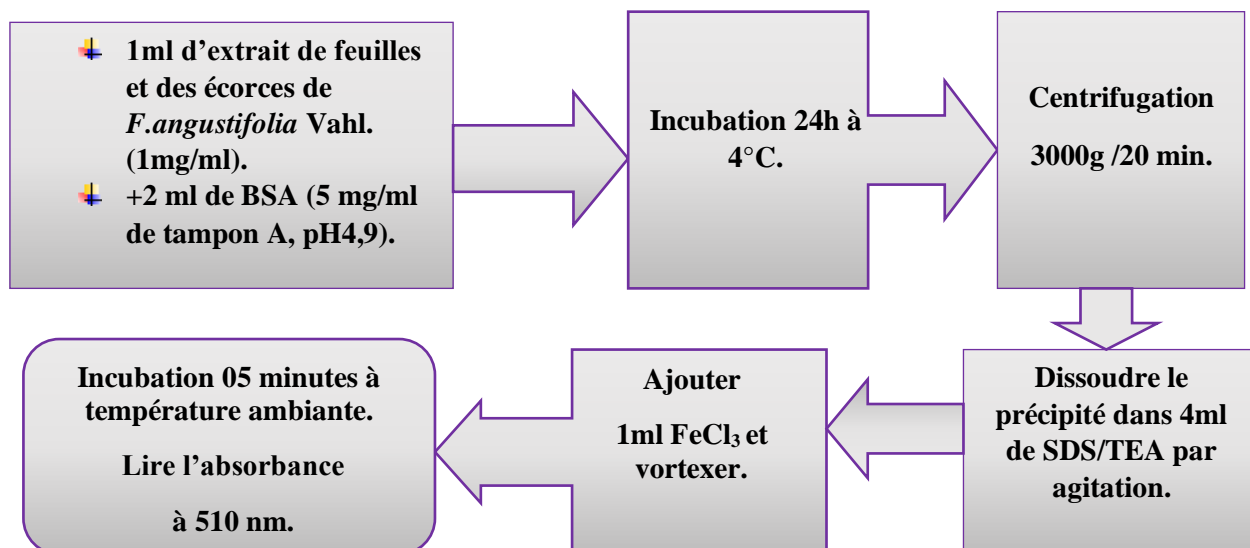


Figure 7 : Procédure expérimentale de dosage des tannins dans les extraits éthanoliques de l'écorce et des feuilles de *F.angustifolia* Vahl .

La courbe d'étalonnage (**Annexe 3**) a été réalisée en utilisant l'acide tannique comme référence. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide tannique par gramme de l'extrait sec (**mg Eq.A.T./g d'extrait**) .

II.3. Interaction des extraits phénoliques avec l'acide linoléique via l'inhibition de sa peroxydation

L'évaluation du potentiel antioxydant des extraits de feuilles et d'écorce de *F.angustifolia* Vahl a été déterminée selon **Osawa et Namiki (1981)**, avec quelques modifications. Ceci peut nous permettre de prédire les interactions des composés contenus dans les extraits de feuilles et des écorces avec l'acide linoléique et les comparer aux résultats obtenus pour ses interactions avec le standard phénolique utilisé, la rutine.

Le principe de cette méthode chlorométrique a été déterminé par l'évaluation du taux de peroxydes présents dans le milieu réactionnel par l'utilisation du FeCl_2 et du thiocyanate d'ammonium. Lors de l'oxydation de l'acide linoléique il ya formation du peroxyde qui assure à son tour l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} , ce dernier se lie avec le TCA formant ainsi un complexe ayant un maximum d'absorbance à 500 nm.

Ces tests réalisés en présence des extraits de feuilles et des écorces de *F.angustifolia* Vahl, peuvent modifier par leurs interactions avec l'acide linoléique, le taux de ces peroxydes formés, ceci à différentes concentrations la démarche expérimentale est récapitulée dans la **figure (8)**

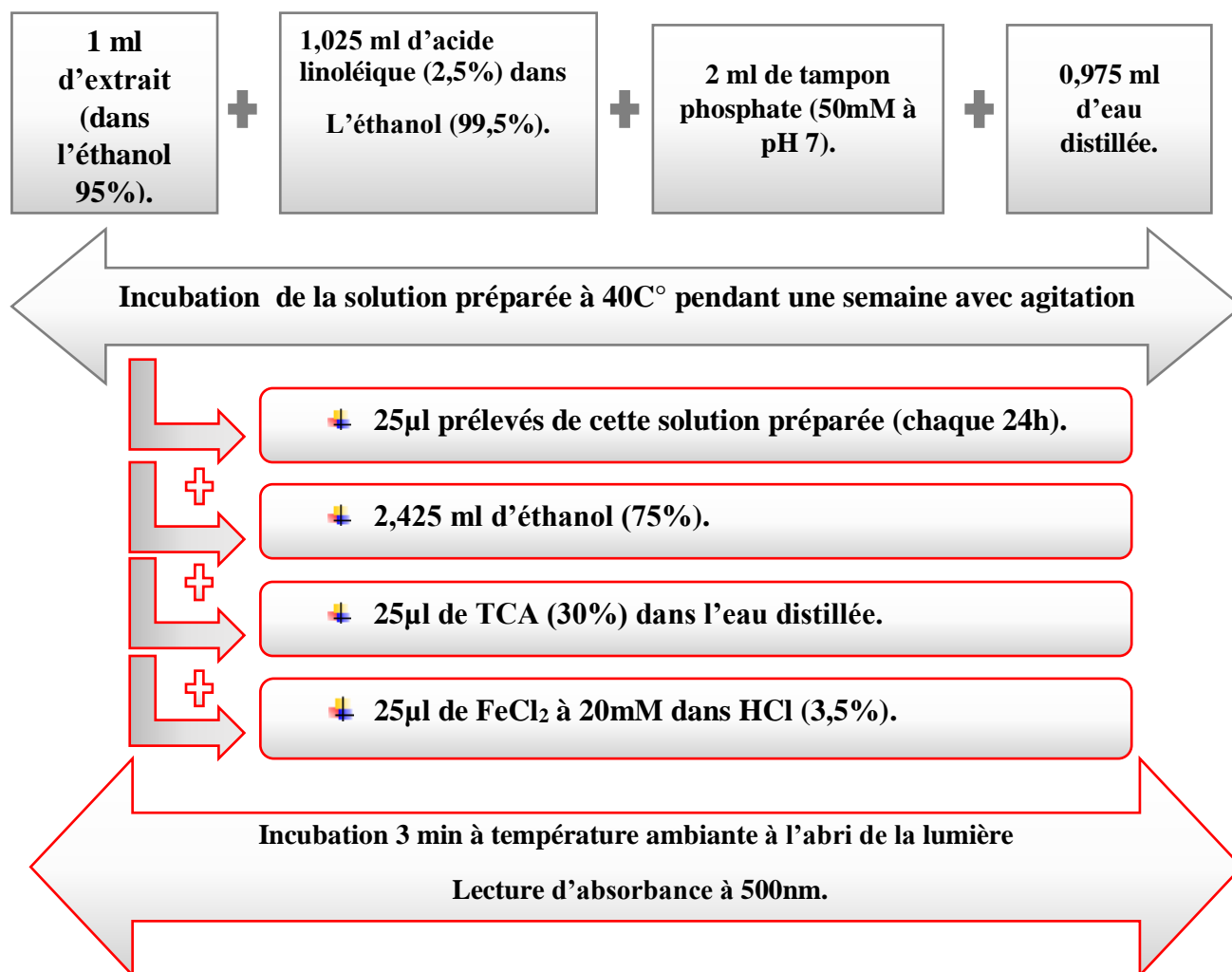


Figure 8 : Procédure expérimentale de l'interaction des extraits phénoliques avec l'acide linoléique via l'inhibition de sa peroxydation.

II.4. Analyse statistique

Les résultats des tests ont été exprimés en moyennes \pm S.D. (n=3). L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel Graph PadPrism 5.03. pour Windows (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA). Les différents tests, en présence ou absence d'extrait ou de standard routine ont été comparés par l'analyse de la variance (*one way ANOVA*) via le *post-test* de comparaison multiple Dunnett. Les résultats ont été considérés significatifs par les comparaisons ($p < 0,05$) des tests d'activité des extraits de feuilles et d'écorce de *Fraxinus angustifolia* au standard phénolique (rutine à 50µg et 100µg/ml) et au contrôle positif de peroxydation maximale en absence des substances phénoliques.

III. Résultats et discussion

III.1. Taux d'extraction

La présente étude a été consacrée à l'extraction des composés phénoliques de *Fraxinus angustifolia* Vahl. en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction en vue d'étudier leurs interactions avec l'acide linoléique. Les rendements d'extraction des échantillons étudiés ont été déterminés, les résultats obtenus sont présentés dans la **figure (9)** suivante :

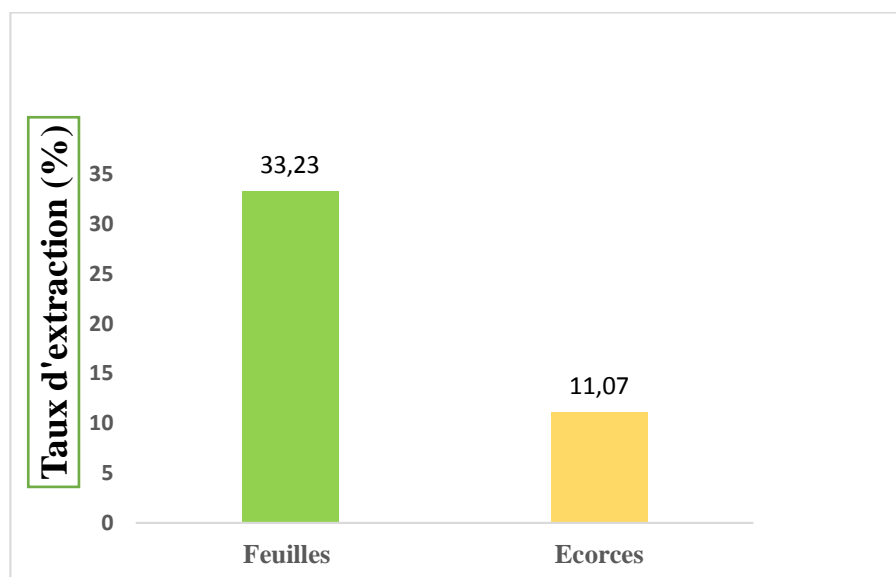


Figure 9 : Taux d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

Les résultats obtenus montrent une différence dans les taux d'extraction obtenus selon l'échantillon. Le meilleur rendement a été enregistré chez les feuilles avec 33,23 %, contre un taux de 11,07 % chez les écorces.

Selon **Escribano (2003)**, les facteurs qui influencent l'efficacité de l'extraction sont le type de solvant utilisé, la température, le nombre d'extractions, le volume d'un solvant et la dimension des particules. Les fines particules permettent aux composés phénoliques d'être transférés plus facilement, cela s'explique par le fait que le solvant diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules pour extraire les molécules des polyphénols. Néanmoins de plus fines particules ne sont pas utilisées afin d'éviter le phénomène de colmatage de ces dernières **Virginie et al. (2015)**. De même la période de la récolte, l'origine et le facteur d'environnement influençant la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante et le stade de maturation de cette dernière affecte significativement les taux des extractions **Tabart et al. (2007)**.

Une étude réalisée par **Berboucha et al. (2010)** a été faite sur l'extraction des composés phénoliques de feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* Vahl., récoltées de la forêt de Tizi Neftah d'Amizour de Bejaia, pour la préparation de la poudre, ils ont utilisé une poudre <65 µm avec la procédure d'extraction est celle de **Chiang et al. (1993)** où la poudre qui a été macérée dans l'éthanol (1 / 4 : P / V) pendant 48 h. Les résultats obtenus montrent une différence dans les taux d'extraction obtenus selon l'échantillon. Le meilleur rendement a été enregistré chez les feuilles avec un taux d'extraction de 12, 73 %, contre un taux de 3,84 % chez les écorces.

Une autre étude réalisée par **Atmani et al. (2009)** a été faite sur l'extraction des composés phénoliques de feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl. à (un diamètre <63 µg) la procédure d'extraction est réalisée aussi, selon **Chiang et al. (1993)** où la poudre a été macérée dans l'éthanol (1 / 4 : P / V) pendant 24h. Le taux d'extraction a été calculé par rapport à la poudre initiale, il varie en fonction du solvant et la procédure utilisée, le pourcentage d'extraction obtenu est de 19,45 % pour l'extrait éthanolique de feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl.

On peut constater d'après nos résultats et les résultats de différentes études réalisées sur l'extraction éthanolique des composés phénoliques de feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* Vahl. que le meilleur rendement d'extraction est celui des feuilles. On constate aussi que le rendement d'extraction de feuilles réalisé dans notre étude est supérieur par rapport aux deux autres études probablement lié à la différence dans les temps de macération, ainsi que la différence de la région de la récolte, et pas conséquent aux conditions climatiques. Le choix de la durée d'extraction est un autre paramètre principal dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques minutes à 24 heures **Lapornik et al. (2005)**. Le temps pendant lequel le solvant et le matériel végétal sont mis en contact peut influencer la libération progressive de solutés à partir de la matrice végétale vers le solvant, et donc cela influence l'efficacité de l'extraction par contre, un temps de contact prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction en favorisant l'oxydation des composés phénoliques **Santos-Buelga et al. (2012)**, notamment quand le volume du solvant est réduit, qui est donc saturé rapidement en métabolites.

III.2. Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en, phénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits éthanoliques des feuilles et des écorces de *F. angustifolia* Vahl respectivement sont représentées dans la **figure (10)** suivante :

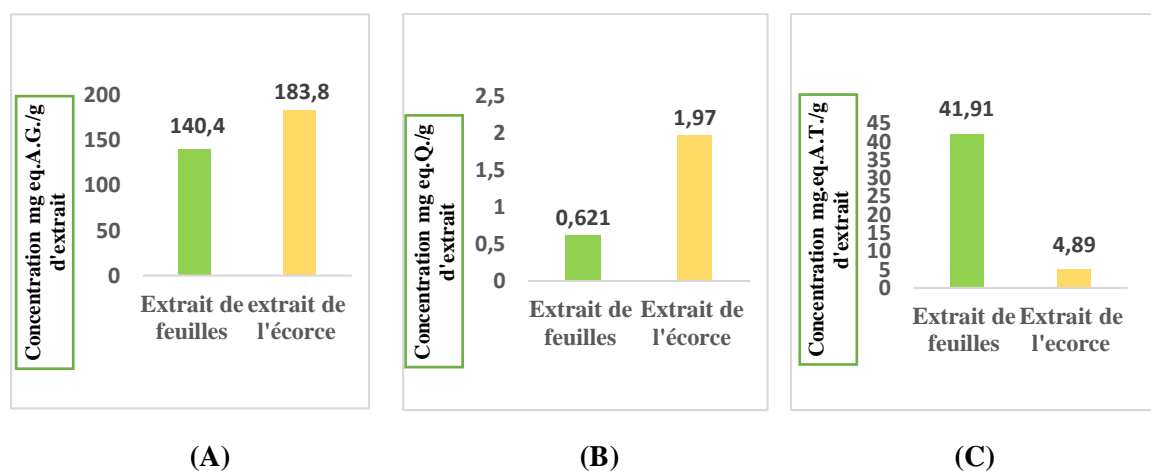


Figure 10: Les teneurs en phénols totaux (A), flavonoïdes (B) et tannins (C) dans les extraits éthanoliques de feuilles et des écorces de *F. angustifolia* Vahl. les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart type. **ext:** extrait sec. **mg.Eq.A.G./g d'ext. :** milligramme équivalents acide gallique par gramme d'extrait sec. **mg.Eq.Q./g d'ext. :** milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec. **mg.Eq.A.T./g d'ext. :** milligramme équivalents acide tannique par gramme d'extrait sec.

Concernant les teneurs des phénols totaux (A), après l'addition de la solution de carbonate de sodium et du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue a été obtenue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration en composés phénoliques dans l'extrait. La coloration par l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu dosent simultanément tous les biomolécules à fonction phénolique. Selon les résultats obtenus, la teneur moyenne en polyphénols totaux des feuilles est de 140,44 mg E.A.G./g d'extrait, elle est inférieure à celle des écorces 183,85 mg Eq.A.G./g d'extrait même avec un rendement d'extraction inférieur aux feuilles, ceci indique que les extraits des écorces contiennent de plus fortes teneurs en phénols totaux.

Le dosage des flavonoïdes (B) basé sur le complexe jaunâtre formé après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), dont l'intensité varie en fonction de la teneur de l'extrait en flavonoïdes, est une traduction pour le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électron (Ribereau-Gayon, 1968).

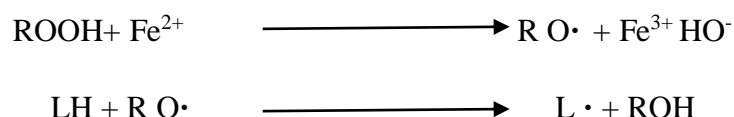
Bahorun et al. (1996) suggèrent que la quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant. Cependant, la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon. Selon les résultats obtenus, la teneur moyenne en flavonoïdes des feuilles est de 0,62 mg Eq.Q./g d'extrait, elle est inférieure à celle des écorces 1,97 mg Eq.Q./g d'extrait.

Les teneurs en tannins (C) ont été déterminées par la méthode basée sur la capacité des tannins à former des complexes insolubles avec les protéines. La quantité des tannins fixés sur la BSA est mesurée par spectrophotométrie à 510 nm après la formation d'un chélate d'ion ferrique-tannin dans une solution alcaline, contenant le SDS, le TEA, en plus des chlorures ferriques. Selon les résultats obtenus, la teneur moyenne en tannins des feuilles est de 41,91 mg Eq. A.T./g d'extrait, elle est supérieure à celle des écorces 4,89 mg Eq.A.T./g d'extrait.

En comparant aux résultats trouvés par **Berboucha et al. (2010)**, les résultats sont comme suite : la teneur en phénols totaux est de 96,11 mg Eq AG/g pour les feuilles et 142,37 mg Eq. A.G./g pour les écorces, celle des flavonoïdes est de 20,78 mg Eq.Q./g pour les feuilles et 6,56 mg Eq.Q./g pour les écorces et pour les tannins c'est 160,67 mg Eq.A.T./g pour les feuilles et 157,93 mg Eq.A.T./g pour les écorces. On constate une différence avec nos résultats cela dû probablement à la région de la récolte et ces conditions climatiques.

III.3. Résultats des interactions des composés phénoliques et l'acide linoléique

Le Fe^{2+} est le responsable de l'amorçage de l'oxydation de l'acide linoléique. Il enclenche l'oxydation par coupure homolytique de traces d'hydroperoxyde lipidique contaminant le système lipidique, ces hydroperoxydes seront notés ROOH, selon la réaction suivante :



La capacité antioxydante a été déterminée par la mesure de l'absorbance d'un complexe coloré par la réaction entre le peroxyde qui est formé à base de la peroxydation de l'acide linoléique et le chlorure ferreux qui forme des ions ferriques Fe^{3+} , ces dernières réagissent avec le TCA et produisent le thiocyanate ferrique qui donne une couleur rouge **Gülçin et al. (2014)**.

III.3.1. Résultats des interactions rutine-acide linoléique

Le suivi des interactions polyphénols-lipides a été réalisé par la mesure de l'inhibition de la peroxydation lipidique. Les résultats sont illustrés dans la **figure 11**.

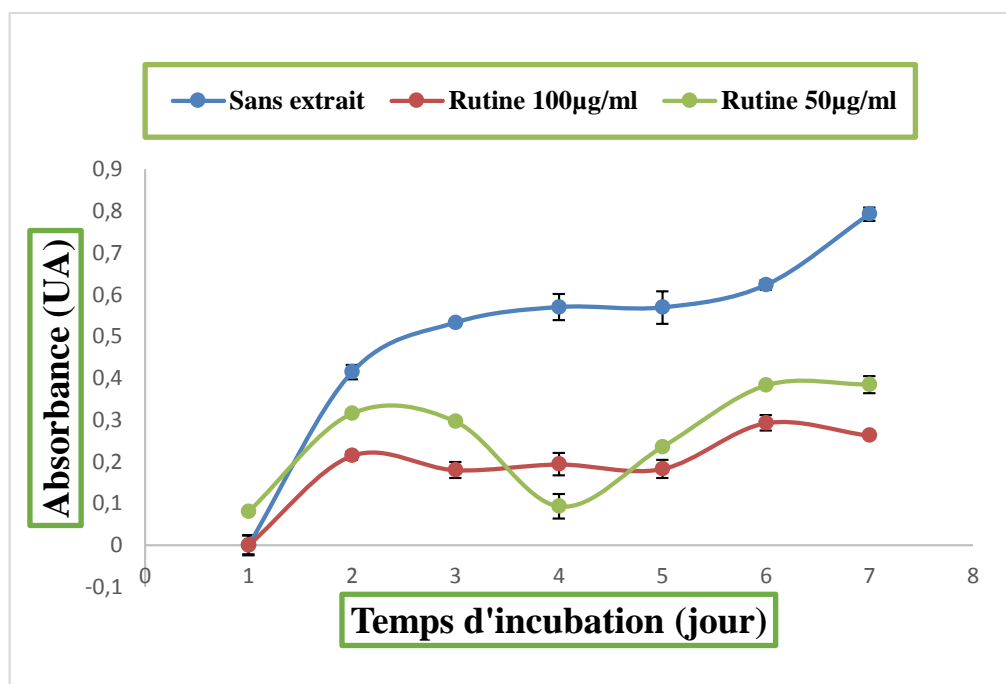
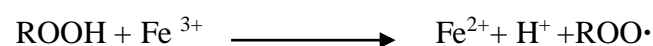
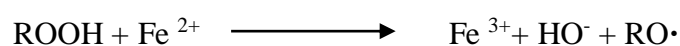


Figure 11 : Résultat des interactions de la rutine (50 et 100 µg/ml) et l'acide linoléique.

Dans cette étude on remarque clairement en absence d'extrait une augmentation significative de la peroxydation de l'acide linoléique, cette dernière est provoquée par le FeCl_2 , qui a été ensuite réduite par l'utilisation de la rutine à différentes concentrations (50,100 µg/ml). La rutine est un inhibiteur de la peroxydation lipidique initiée par les ions de métaux de transition. Des travaux sur la complexation métallique de la rutine ont rapporté qu'elle est capable de complexer les ions métalliques via deux sites de complexation: le groupement 5-hydroxy -4-carbonyle et le groupement *ortho*-dihydroxybenzène (catéchol) par les liaisons d'hydrogène. En revanche, le complexe rutine- Fe^{2+} conduit à des produits d'oxydation de la rutine surtout en présence d'un excès de Fe^{2+} permettant l'activation d' O_2 . L'addition de H_2O_2 accélère l'oxydation de la rutine du fait de la contribution de la réaction de Fenton (**Malešev et Kuntić, 2007**), cela explique l'augmentation de la peroxydation de la rutine 50 µg/ml au bout de 5ème jour.



Le R est un H = Lipide.

III.3.2. Résultats des interactions d'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl. avec l'acide linoléique

Une étude des interactions entre les extraits de feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl. et l'acide linoléique ainsi que le potentiel antioxydant en fonction des concentrations a été réalisée à (25,50,75,100 µg/ml). Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 12**.

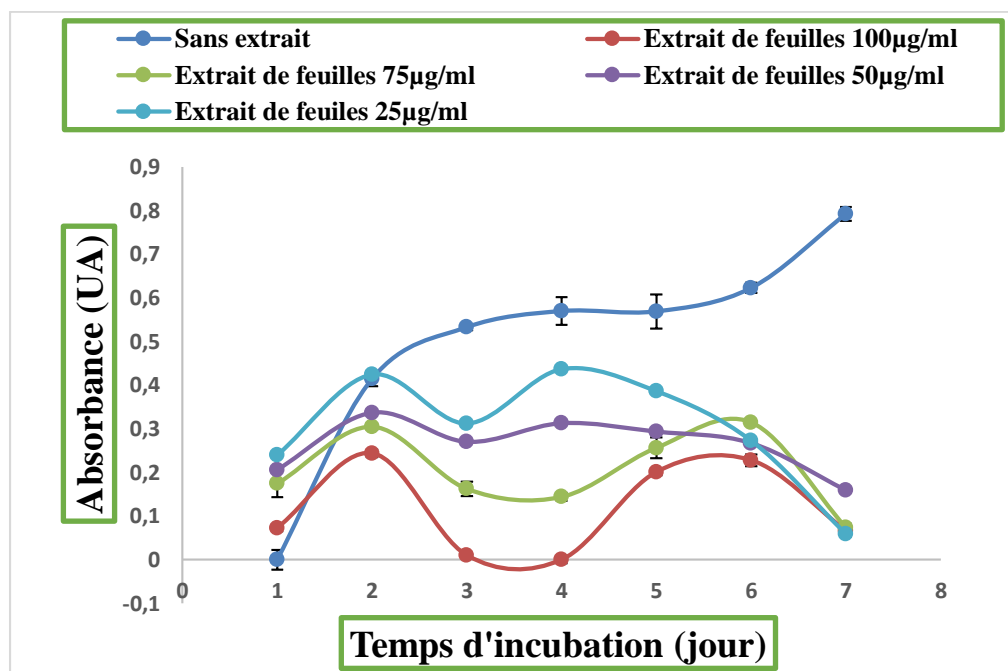


Figure 12: Résultats d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique suite à ses interactions avec l'extrait de feuilles de *F. angustifolia* Vahl. (25,50,75,100 µg/ml).

On constate sur la figure 12 que dès le 2^{ème} jour il ya une augmentation de la peroxydation des lipides pour les différentes concentrations des extraits des feuilles (25,50 75,100 µg/ml) ainsi que le test positif (sans extrait), cela est dû à l'oxydation des lipides. C'est au bout de 3^{ème} jour qu'on remarque clairement une diminution de celle-ci en présence de toutes les concentrations des extraits de feuilles par rapport au test positif (sans extrait), ce qui indique l'inhibition de la peroxydation et de façon dose dépendante remarquable, avec une meilleure inhibition obtenue à une concentration de 100 µg/ml. Le mécanisme qui induit l'inhibition serait due à l'interaction des métabolites contenus dans les extraits avec les métaux de transition qui jouent un rôle important dans les propriétés antioxydantes des polyphénols. En effet, une voie majeure de production des EROs consiste en la réduction du dioxygène par Fe²⁺ avec la formation de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène et en la production de radicaux oxyde par coupure réductrice d'hydroperoxydes par ces mêmes ions (réaction de Fenton), la formation des complexes métalliques stables et inertes, bloquant l'ion

métallique sous un état redox donné, constitue un mécanisme potentiel d'action antioxydante. (Dangles, 2006).

Au bout de 5^{ème} jour on remarque une augmentation de la peroxydation lipidique en présence de l'extrait des feuilles (75,100 µg/ml), cela est dû au fer impliqué dans de nombreux phénomènes de transport (dioxygène) et de transfert d'électron. En général, il pourrait exister sous forme libre (faiblement complexée), à l'état de trace et participer alors au stress oxydant, par production des radicaux oxygénés toxiques (Harborne, 1980). Les composés phénoliques contenus dans les extraits de feuilles de *Fraxinus angustifolia* Vahl. présenteraient un pouvoir d'inhibition de ces interactions, limitant ainsi cette peroxydation de l'acide linoléique.

III.3.3. Résultats des interactions extrait de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* Vahl. avec l'acide linoléique :

L'étude des interactions entre les extraits d'écorce de *Fraxinus angustifolia* Vahl. et l'acide linoléique a été réalisée également sur l'extrait d'écorce à différentes concentrations (25,50,75,100 µg/ml), afin de déterminer la concentration qui permet une meilleure inhibition de la peroxydation lipidique des extraits éthanoliques. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 13**.

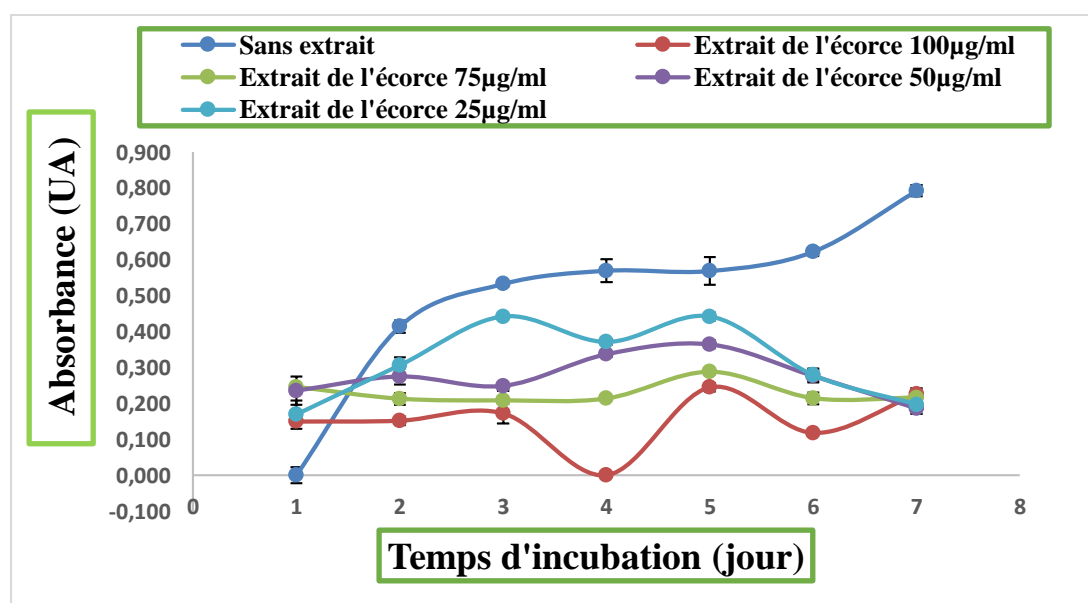


Figure 13 : Résultats d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique suite à ses interactions avec l'extrait des écorces de *F.angustifolia* Vahl. (25,50,75,100 µg/ml).

La figure 13 montre que dès le 2^{ème} jour la peroxydation des lipides pour les quatre concentrations des extraits (25,50,75,100 µg/ml) est déjà inférieure à celle du test positif (sans extrait). Au 4^{ème} jour, on constate une diminution plus importante cela est dû à l'inhibition de la progression de la peroxydation jusqu'à 100 % pour la concentration de 100 µg/ml. Par contre, on remarque pour le 5^{ème} jour une augmentation de la peroxydation lipidique en présence de toutes les concentrations, cela signifie que certains polyphénols particulièrement réducteurs peuvent manifester une activité prooxydante en entrant dans des cycles redox qui génèrent des EROs. En effet, ils sont capables de réduire Fe³⁺ en Fe²⁺, et ainsi d'enclencher la réaction de Fenton avec formation du radical hydroxyle (Aruoma *et al.*, 1993). Le peroxyde d'hydrogène nécessaire à la réaction est produit par autoxydation des ions de basse valence. Ces effets pro-oxydants, sont dépendants de la présence d'ions du fer libres (Nkhili, 2009). Enfin, notant qu'au bout du 7^{ème} jour on arrive presque au même pourcentage d'inhibition pour les quatre concentrations.

III.3.4. Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de *F. angustifolia* Vahl. à celles de la rutine (100µg/ml)

Une analyse comparative entre les extraits de feuilles et de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* Vahl. et le standard (rutine) à une concentration de 100 µg/ml avec le test positif a été établi. Les résultats sont représentés sur la **figure 14**.

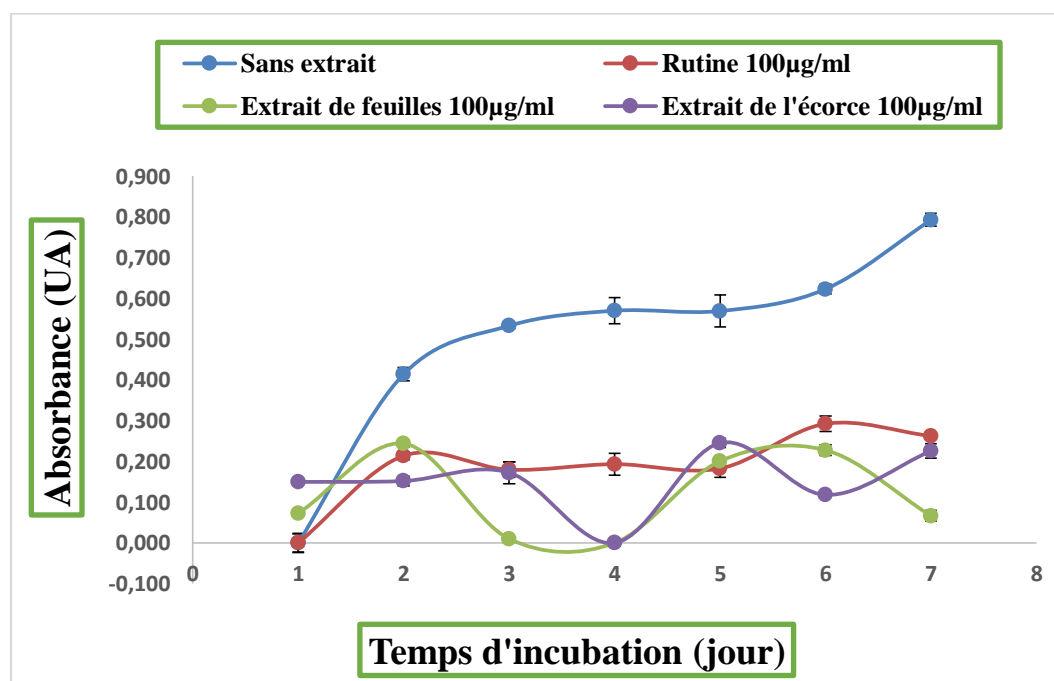


Figure 14 : Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique de l'extrait des écorces et de feuilles de *F. angustifolia* Vahl. à celles de la rutine à la même concentration (100µg/ml).

Sur cette figure, nous avons une lecture d'une forte inhibition de la peroxydation lipidique, voire une inhibition totale par les extraits des feuilles et des écorces. Ceci est suivi par une augmentation de cette dernière, cela peut être expliqué par un déclenchement d'un autre processus résultant de l'oxydation des phénols eux-mêmes, à cette température (40C°) pendant 7 jours (Nkhili, 2009).

L'analyse statistique de cette inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique par l'extrait des feuilles et des écorces ainsi que la rutine comparée au test sans extrait est rapporté dans l'histogramme de la figure 15.

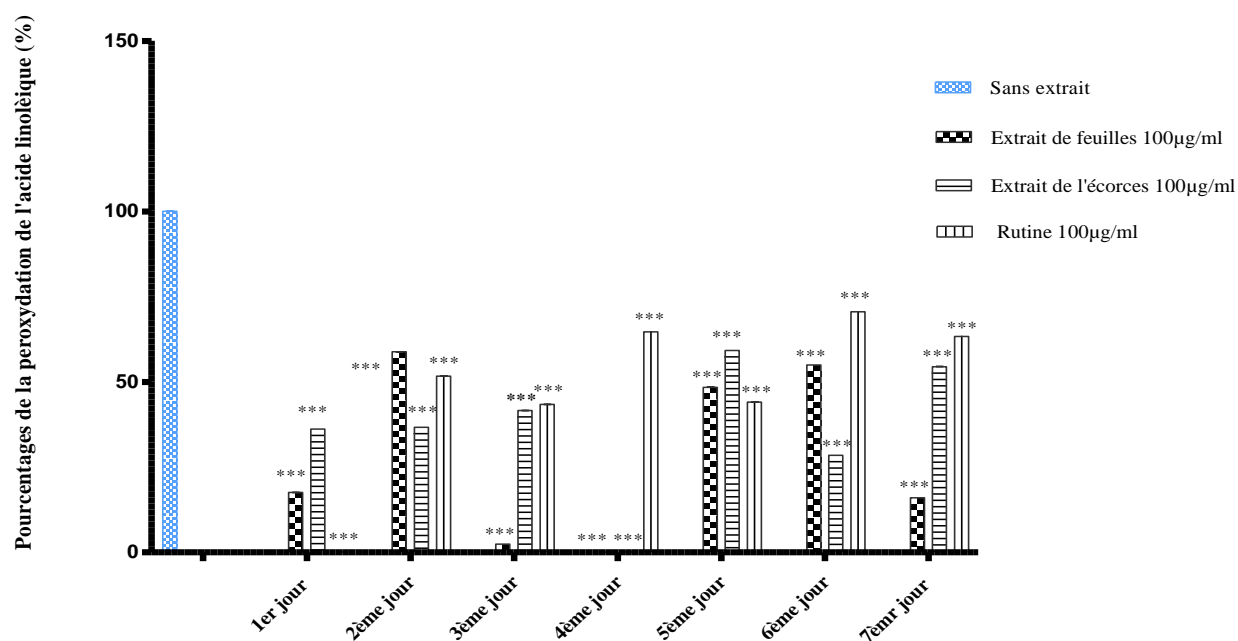


Figure 15: Effet de la peroxydation de l'acide linoléique à une concentration de 100 µg/ml de différents extraits. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm S.D. (n=3). *** P<0,05 indique une différence significative par rapport au contrôle positif (sans extrait), par un test *one way* ANOVA avec le *post test* Dunnett du logiciel Graphpad Prism 5. 3.

Les extraits étudiés et la rutine ont exercé un effet inhibiteur de la peroxydation lipidique statistiquement significatif (***) P<0,05 par rapport au contrôle positif (sans extrait). Cette capacité de limiter la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres est reliée non seulement aux caractéristiques structurales des agents antioxydants, mais aussi à leurs capacités d'interagir avec la bicouche lipidique ou de pénétrer dans cette dernière. Il a été montré que la structure et la lipophilie des polyphénols sont les facteurs importants dont découle leur propriété antioxydante, probablement affectant la profondeur de l'incorporation de ces composés dans la phase lipidique de la membrane (Djeridane *et al.*, 2010).

On constate aussi que tous les échantillons ont montré une activité inhibitrice, cela indique un bon pouvoir protecteur contre la peroxydation lipidique par ceux-ci et la présence des composés bioactifs dans les différents extraits responsables de cet effet. Il est largement rapporté dans la bibliographie que lors de la peroxydation lipidique, les antioxydants peuvent céder des protons ou des électrons aux différents radicaux lipidiques, mettant fin à la réaction en chaîne (Ré *et al.*, 2005).

III.3.5. Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits des écorces et de feuilles de *F. angustifolia* Vahl. à celles de la rutine (50 µg/ml)

Une étude comparative entre les extraits de feuilles et des écorces de *Fraxinus angustifolia* Vahl. et le standard (la rutine) à une concentration de 50 µg/ml avec le test positif a été aussi menée et les résultats sont exprimés dans la **Figure 16**.

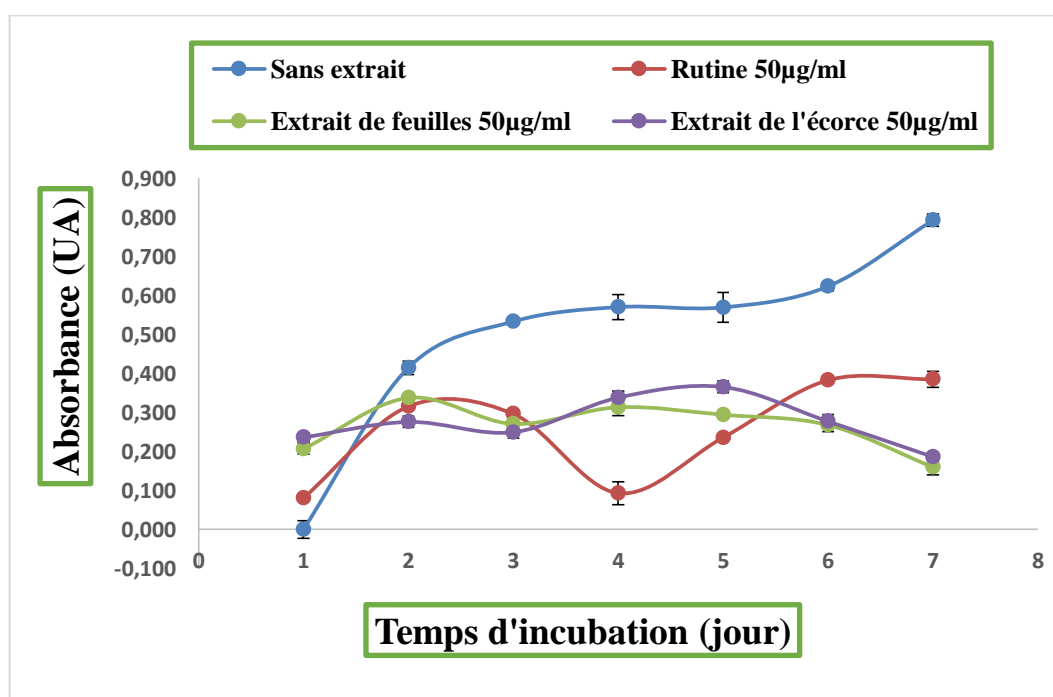


Figure 16 : Comparaison des inhibitions de la peroxydation de l'acide linoléique de l'extrait des écorces et de feuilles de *F. angustifolia* Vahl. à celles de la rutine (50µg/ml).

Il est à noter clairement que même à une moindre concentration de (50 µg/ml), les résultats montrent qu'il y a une forte inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique qui serait due au piégeage des radicaux libres hydroperoxydes issus de sa peroxydation par la rutine, mais aussi remarquablement aux mêmes concentrations (50 µg/ml) par les extraits de feuilles et des écorces de *F. angustifolia* Vahl. Aux 6^{ème} et 7^{ème} jours, on remarque que les extraits de feuilles et des écorces à 50 µg/ml montrent des effets d'inhibition dépassant l'effet

de la rutine, cela suggérerait que le complexe de polyphénols contenu dans ces extraits a exercé un effet inhibiteur résultant de différents métabolites agissant en synergie comparé à l'activité du standard (rutine) pur seul.

L'analyse statistique de cette inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique par les extraits des feuilles et des écorces à 50 µg/ml, ainsi que la rutine comparée au test sans extrait est rapportée dans l'histogramme de la **figure 17**.

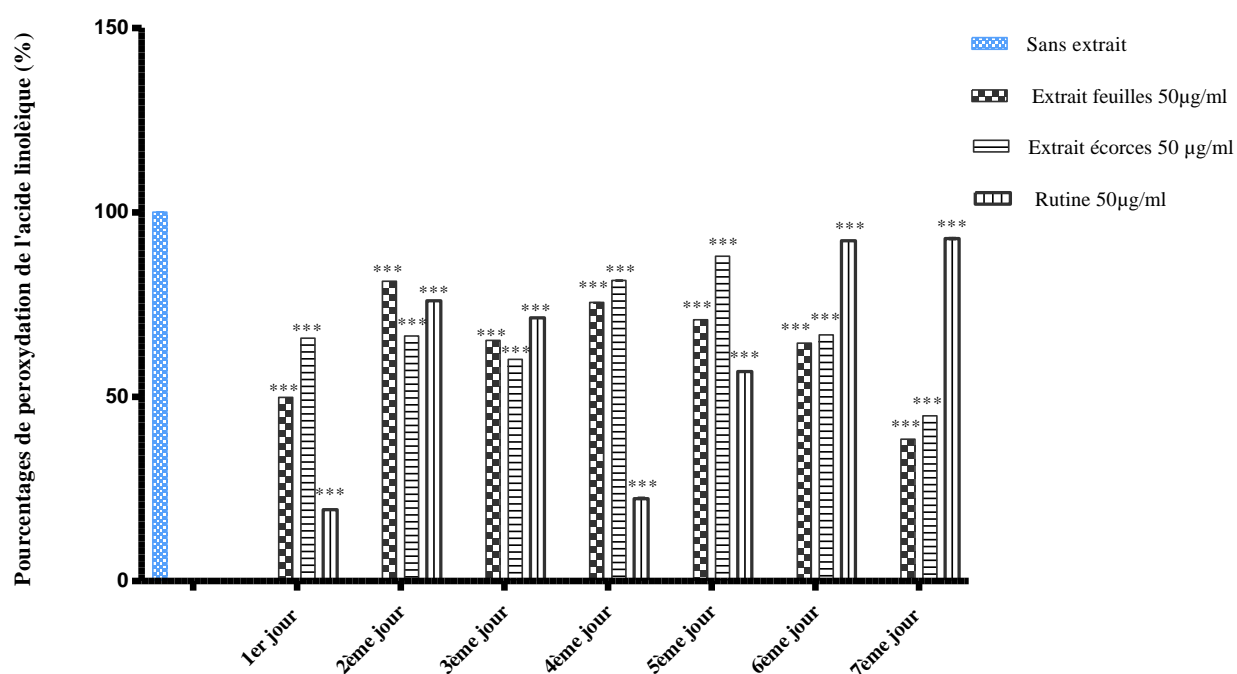


Figure 17 : Effet de la peroxydation de l'acide linoléique à une concentration de 50 µg/ml de différents extraits. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm S.D. (n=3). *** P<0,05 indique une différence significative par rapport au contrôle positif (sans extrait), par un test *one way* ANOVA avec le *post test* Dunnett du logiciel Graphpad Prism 5. 3.

A 50 µg/ml on constate toujours une inhibition significative (***) P<0,05) par les extraits de feuilles et des écorces, mais moindre par rapport à celles exhibées par les concentrations de 100 µg/ml des extraits des deux matrices végétales. Cette même constatation est aussi à retenir pour le flavonoïde pur, la rutine.

Les inhibitions au bout du 7^{ème} (fin de l'expérience) pour une comparaison directe des effets des deux extraits de feuilles et des écorces de *F. angustifolia* Vahl., avec celui de la rutine sont exprimées en pourcentage (%) dans le **tableau V**.

Tableau V : Pourcentages d'inhibition de taux de peroxydation lipidique en présence des extraits des feuilles et de l'écorce de *F. angustifolia* Vahl. ainsi que la rutine au bout du 7^{ème} jour d'incubation.

Extraits	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	Pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (%)
• Rutine	100	36,68
	50	7,16
• Ecorces	100	45,53
	50	55,18
• Feuilles	100	83,99
	50	61,54

D'après le **tableau V**, on peut constater effectivement que la meilleure concentration d'inhibitrice est celle de 100 $\mu\text{g/ml}$ pour les feuilles et 50 $\mu\text{g/ml}$ pour les écorces, avec un fort effet inhibiteur chez les feuilles.

L'inhibition de la peroxydation est due à la présence des molécules phytochimiques qui peuvent rompre la chaîne réactionnelle de l'oxydation lipidique au niveau de l'étape d'initiation, avec la formation d'un radical libre relativement stable qui ne peut initier ou propager d'autres processus d'oxydation. Le potentiel élevé des composés antioxydants à scavenger les radicaux libres peut être expliqué par leurs richesses en groupements OH phénoliques (**Debbache et al., 2014**).

La diminution ou l'augmentation de l'activité inhibitrice des différents extraits peut être expliquée par la concentration des composés phénoliques dans l'extrait et plus particulièrement l'influence de la diversité structurale sur cette activité, par ailleurs les propriétés physico-chimiques des composés phénoliques sont des facteurs déterminants de leurs interactions, en effet des études réalisées sur l'action des composés donneurs d'hydrogène, tel que les polyphénols, sur la peroxydation des lipides ont conclu qu'elle dépend de la structure moléculaire du composé lui-même (**Soobrattee et al., 2005**).

Plusieurs travaux ont établi des relations entre la structure chimique des flavonoïdes (Fl) et leur capacité à piéger les radicaux libres (**Nkhili, 2009**). La capacité antioxydante de ces

substances phénoliques dépend non seulement du potentiel redox du couple FI- O \cdot /FI-OOH, mais aussi de la réactivité du radical FI- O \cdot .

D'autre part, il a été conclu que l'activité antioxydante des acides phénoliques est variable et dépendante des structures de ces derniers (**Farkas et al., 2004**). Les acides cinnamiques ont une activité antiradicalaire supérieure à celle des acides benzoïques et les acides caféïque et *p*-coumarique sont respectivement plus actifs que les acides protocatéchiques, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque. D'autre part, les acides benzoïques sont moins actifs que leurs homologues phénols, ce qui tend démontrer le rôle négatif du COOH directement fixé sur le noyau benzénique. L'addition d'un second OH sur le cycle aromatique augmente fortement l'activité antioxydante des acides phénoliques et un troisième OH sur le cycle renforce également le caractère antioxydant (ex: acide gallique) (**Berset, 2006**).

Le rôle du groupement 3-OH sur le cycle C et de la double liaison C2=C3 ; la glycosylation du groupement 3-OH de la quercétine (cas de la rutine) réduit l'activité antioxydante, Ceci démontre l'importance du groupe 3-OH adjacent à la double liaison C2=C3.

Parmi les espèces d'ions métalliques, les ions Fe²⁺ sont les prooxydants les plus puissants à cause de leur réactivité élevée (**Gulcim et al., 2010**). Ils catalysent la décomposition des hydroperoxydes en radicaux alkoxy et peroxy, amplifiant la peroxydation des lipides. La chélation des ions métalliques mène à bloquer la réaction de type Fenton génératrice de radicaux OH, de plus les extraits ou les composés phénoliques ayant l'activité de chélation sont censés empêcher la peroxydation lipidique en stabilisant les métaux de transition (**Wu et Ng, 2008**).

Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH, mais aussi des accepteurs de liaison H. En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur. Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H et d'en recevoir une seulement. Notons que ces liaisons H se renforcent mutuellement (coopérativité). Par exemple, en donnant une liaison H, le phénol allonge sa liaison OH. Cet état de pré dissociation accentue la densité électronique sur le centre O et donc son caractère accepteur de liaison H (**Nkhili, 2009**).

La complexation métallique des polyphénols et leur activité antioxydante ne vont pas nécessairement de pair. Il a été montré que la complexation métallique peut induire une activité pro-oxydante (production d'EROs) sous certaines conditions. **Bai et al. (2004)** ont

stipulé qu'heureusement, ce phénomène est défavorable d'un point de vue thermodynamique, car la réduction mono-électronique du dioxygène requiert des réducteurs forts ($O^2 + 1e^- \rightarrow O^{2-}$) une réaction chimique qui autorise la combinaison des radicaux organiques avec l' O_2 , mais interdit l'oxygénation directe des molécules organiques, dont les électrons sont appariés. Cependant les ions de métaux de transition, particulièrement Fe^{3+} , contaminant par exemple les sels utilisés dans la préparation de solutions tampons, peuvent catalyser efficacement l'autoxydation avec production de peroxyde d'hydrogène, voire de superoxyde. Ainsi, l'autoxydation de la quercétine en milieu faiblement basique s'accompagne de la consommation d' O_2 et de la formation du radical HO.

De plus, l'oxydation lipidique et son inhibition par des antioxydants dépendent fortement du milieu : polarité, température, nature de substrat, milieu solide, milieu liquide homogène ou émulsionné. C'est la raison pour laquelle de nombreux résultats publiés apparaissent divergents, particulièrement, dans les classements différents de l'ordre d'efficacité des antioxydants. Les nombreux travaux de la littérature mettent en œuvre des méthodologies diverses, selon le processus modélisé : oxydation des huiles et émulsions alimentaires riches en AGPI oxydation dans le tractus digestif, oxydation des LDLs et des phospholipides membranaires (**Fagali et al. 2008**).

Dans l'évaluation des antioxydants pour leur capacité à inhiber la peroxydation lipidique initiée par les ions des métaux de transition, il est clair que le classement des antioxydants dépend de nombreux facteurs selon le système considéré : pouvoir réducteur de l'antioxydant vis-à-vis des ions métalliques (transfert d'électrons) et des radicaux oxygénés (transfert d'électrons et/ou d'atomes H), sensibilité de l'antioxydant à l'autoxydation, stabilité des complexes métalliques de l'antioxydant et compétition avec d'autres agents complexant présents dans le milieu, partition de l'antioxydant entre phase aqueuse et phase lipidique. Si la capture des (EROs) est effectivement un mécanisme d'action antioxydant, la réaction éventuelle des phénols avec le dioxygène de l'air (autoxydation) est une cause potentielle d'instabilité et de toxicité par production des EROs (**Lotito et Frei, 2006**).

Les résultats obtenus suggèrent que les composés phénoliques peuvent être très bénéfique pour le manque de la stabilité des membranes biologique ils peuvent réduire aussi l'oxydation et l'agrégation des lipides et améliore leur stabilité c'est pour cela il est conseillé de consommer les plantes qui sont riches en composés phénoliques.

Les extraits éthanoliques de feuilles et les écorces de *Fraxinus angustifolia* Vahl., provenant de la forêt d'Akfadou (Béjaia), ont fait l'objet de la présente étude. Différentes analyses sont appliquées, à savoir le dosage des phénols totaux, flavonoïdes et tannins et l'évaluation de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique.

Le rendement de l'extraction des polyphénols à partir des feuilles et des écorces se diffère entre les deux matrices de la même plante, il est de 33,23% pour les feuilles et de 11,07% pour les écorces. L'analyse quantitative des polyphénols par la méthode spectrophotométrique a montré que les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins sont différents également entre les feuilles et les écorces. L'extrait éthanolique des écorces s'avère le plus riche en phénols totaux et flavonoïdes tandis que les tannins se trouvent en plus grande quantité chez les feuilles.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort également que l'extrait des feuilles ont exhibé un fort pouvoir inhibiteur de la peroxydation de l'acide linoléique par rapport à l'extrait des écorces, ce qui permet de déduire une probable corrélation entre non pas la quantité mais surtout la qualité des polyphénols contenus dans les extraits éthanoliques de *Fraxinus angustifolia* Vahl., ce qui est déterminant pour les interactions de ces métabolites dans le milieu réactionnel avec l'acide linoléique.

Il serait intéressant de pousser et approfondir ce travail par :

- Analyser ces interactions sur d'autres entités lipidiques telles que les membranes artificielles.
- Réaliser des tests de chélation des métaux tels que le cuivre.
- Réaliser des études sur d'autres types d'extraits tels que les décoctions.
- Il est intéressant de procéder à une séparation par des méthodes plus avancées telles que l'HPLC, afin de tester des composés plus purs de *Fraxinus angustifolia* Vahl. concernant ces interactions.

-(A)-

- Alberts, B JA., Johnson, A., Lewis ., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002).** Molecular Biology of the Cell. In: *Garland Science*. New York: 4 ed.
- Aruoma, O. I., Murcia, A., Butler, J., & Halliwell, B. (1993).** Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1880-1885.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2):303-309.
- Atrooz, O.M. (2007).** The incorporation effects of methanolic extracts of some plant seeds on the stability of phosphatidylcholine liposomes. *Pakistan. Journal. of Biological. Sciences ., 10 :1643–1648.*

-(B)-

- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11):1086-1089.
- Bai, Y., Song, F., Chen, M., Xing, J., Liu, Z., & Liu, S. (2004).** Characterization of the rutin-metal complex by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical sciences*, 20(8): 1147-1151.
- Balasundram, N., Sundram, K., et Samman, S. (2005).** Phenolics compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 94: 135-142.
- Bangham, AD., Standish, MM., Watkins, JC. (1965).** Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology*, 13 : 238-252.
- Bate-Smith, E.C.(1954).** Leuco-anthocyanins.1.Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. *Biochemical Journal*. 58(1) : 122.
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani , D., Atmani, D., Benboubetra, M. (2010).** Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal Of Medicinal Food*, 13 (4) :1–9.
- Bobinac. M., Andrašev. S., ŠijačićNikolić. M. (2010).** Elements of growth and structure of narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia* Vahl) annual seedlings in the nursery on fluvisol. *Periodicum biologorum. Periodicum Biologorum*. 112(3): 341-351.
- Boesze-Battaglia, K., Schimmel, R. (1997).** Cell membrane lipid composition and distribution: implications for cell function and lessons learned from photoreceptors and platelets. *The Journal of experimental biology*, 200 (Pt 23):2927-2936.
- Berset, C. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, *Lavoisier*, 29-50.

-(C)-

- Chan, YH., Boxer, SG. (2007).** Model membrane systems and their applications. Current opinion. In: *chemical biology*, 11(6):581-587.

Chiang, HC., Chang, Ws., lee, Yj., Lu fj. (1993). Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticancer Research*, 63(13) : 2165-2170.

Croteau, R., Kutchan, T M., et Lewis, N G.(2000). Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry et Molecular Biology of Plants*. P 1250-1318.

-(D)-

Dangles, O. (2006). Propriétés chimiques des polyphénols. Les polyphénols en agroalimentaire . Paris: Lavoisier, 29-54.

Debbache, N., Atmani, D., Atmani, D.(2014).Chemecal analysis and biological activités of *Populus nigra*, flower buds as source of propolis in Algeria. *Industrial corps and product* : (53) 85-92.

Dimitra, M. (2012). *pérmiabilisation photocontrolée de la membrane biologique étude en système modèle et en cellules*. En vue l'obtention du diplôme de grade docteur , filière biophysique ,université marie curie, p.182 .

Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., Stocker., P. (2010) Isolation and characterization of a new steroidderivative as a power fulantioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidantcapacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2599-2606.

- (E)-

Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C., 2003. Polyphenol extraction from foods. Methods in polyphenols analysis 1-16.

Etournaud, A . (2007). Chimie des denrées alimentaires/Lipides .p17.

- (F)-

Fagali, N., & Catalá, A. (2008). Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. *Biophysical Chemistry*, 137(1), 56-62.

Fakchich, J., Elachouri,M.(2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(1) : 76-87.

Farkas, O., Jakus, J., Héberger, K. (2004). Quantitative structure–antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. *Molecules*, 9(12) : 1079-1088

Fuchs J., Schurer N.(1991). Lipid peroxidation in dermatopathology, In :Membrane lipid oxidation. New York. CRC Press, C. Vigo-Pelfrey (ed.) 3: 165-189.

-(G)-

Gill, S. S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12) : 909-930.

Goodmann, S.M., Hobbs, J.J. (1988). The ethnobotany of the Egyptianeasterndesert. A comparison of common plant usage between two culturally distinct Bedouin groups. *Journal of Ethnopharmacology*, 23:73-89.

Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., & Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica L.*). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3) : 205-215.

-(H)-

Hagermen, A.E., Butler, L.J. (1978). Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 26:809-812.

Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free radical Biology and Medicine*, 46(5) : 531-542.

Harborne, J.B. 1980. Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series, vol 8, 329-402.

-(K)-

Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 : 3954-3962.

Kajiya, K., Kumazawa, S., and Nakayama, T. (2002). Effects of external factors on the interaction of tea catechins with lipid bilayers. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 66 : 2330-2335.

Keller, B. C. (2001). Liposomes in nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 12(1): 25-31.

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

-(L)-

Laouini, A., Jaafar-Maalej, C., Limayem-Blouza, I., Sfar, S., Charcosset, C., Fessi, H., (2012). Preparation, characterization and applications of liposomes: State of the art. *Journal of Colloid Science and Biotechnology* 1 : 147-168.

Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal Of food Engineering*, 71(2) : 214-222.

Leterrier F, Gary-Bobo,(1989). Cl. Biologie Membranaire. Paris, France.

Lotito, S. B., & Frei, B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(12), 1727-1746.

-(M)-

Mafart, P., Béliard, E. (1992). Food industry engineering. Volume II. Separation techniques. Technique et documentation-Lavoisier.

Maksimovic, Z., Malencic, D., Kovacevic, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresource Technology*, 96 : 873-877.

Malešev, D., Kuntić, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10) : 921-939

Meusel, H., Jager, E., Rauschert, S., Weinert, E. (1978) Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora (Gustav Fischer Verlag Jena).

- (N)-

Nathalie Mignet, Johanne seguin and Guy G. Chabot. (2013). Bioavailability of polyphénols Liposomes: A Challenge A head. *Pharmaceutics* 5030457,5 : 457-471.

Nkhili, E. Z. (2009). *Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant* (Doctoral dissertation, Thèse Doctorat. Université Cadi Ayyad. Faculté Des Sciences Semlalia Marrakech).

-(O)-

Osawa,T., And Namiki.(1981). A novel type of antioxydant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agricultural Biological Chemistry* ,45(3) :735-739.

-(P)-

Park P. J., Jung W. K., Nam K.S., Shahidi F. and Kim S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*, 78 (6) : 651-656.

Peronny S. 2005. *La perception gustative et la consommation de tannins chez le -MAKI (Lemur catta).* Thèse de Doctorat, Mesium national d'histoire naturelle: 22-37.

Poisson, J.P., & Narce, M. (2003). Corps gras alimentaires : aspects chimiques, biochimiques et nutritionnels. In: *Lipides et corps gras alimentaires*, pp. 1-50. Lavoisier, Tec & Doc, Paris.

-(R)-

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

Ré, D.B., Nieoullon, A., Kerkerian., Le Goff, L and Had. A. (2005). Stress oxydatif cerebral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate implications sur la survie neuronale, *Annales française d'anesthésie et de réanimation*, (24) : 502-509.

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed DUNOD. P 173 - 201.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxydant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7) : 933-956.

-(S)-

Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., & Gonzalez-Paramas, A. M. (2012). Extraction and isolation of phenolic compounds. In *Natural products isolation* (pp. 427-464). Humana Press.

Simon C. (2003). *Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux.* Thèse doctorat. Ecole Doctorale des Sciences Chimiques, Université de Bordeaux. 219.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon. R, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxydant therapeutic agents: mechanisms and actions. *Mutation Research*, 579: 200-213.

Sirk, T. W., Brown, E. F., Sum, A. K., and Friedman, M. (2008). Molecular dynamics study on the biophysical interactions of seven green tea catechins with lipid bilayers of cell membranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 : 7750-7758.

-(T)-

Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommès, J. (2007). Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, 105(3) : 1268-1275.

-(U)-

Uekusa, Y., Takeshita, Y., Ishii, T., Nakayama, T. (2008). Partition coefficients of polyphenols for phosphatidylcholine investigated by HPLC with an immobilized artificial membrane column. *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry*, 72 : 3289–3292.

Uekusa, Y., Kamihira-Ishijima, M., Sugimoto, O., Ishii, T., Kumazawa, S., Nakamura, K., Tanji, K., Naito, A., and Nakayama, T. (2011) Interaction of epicatechin gallate with phospholipid membranes as revealed by solid-state NMR spectroscopy. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1808, 1654-1660.

-(V)-

Van Dijk, C., Driessen, A.J., Recourt, K. (2000). The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles, *Biochemical. Pharmacology*. 60 : 1593–1600.

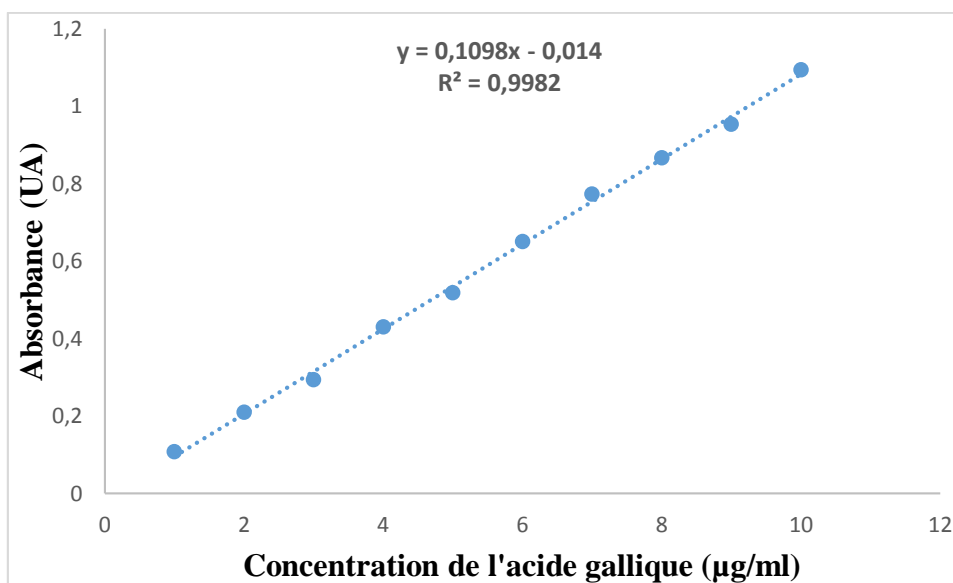
Virginie, G., Espérance, M. S., Guévara, N., Reine, B. A. G., Pascal, A. D., & Dominique, S. C. (2015). Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin [Chemical study and evaluation of granulometry influence on the natural polyphenols kinetic extraction from *Pterocarpus erinaceus* acclimated in Benin]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12(2) : 325.

-(w)-

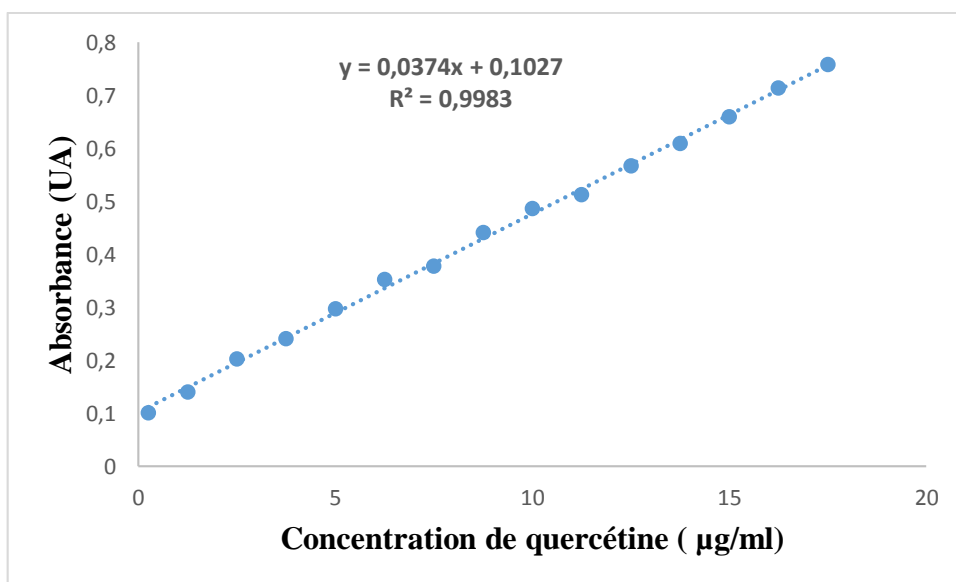
Wallander, E. (2008). Systematics of Fraxinus (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant Systematics Evolution*, 273 : 25–49.

Wallander, E. (2013). Systematics and floral evolution in Fraxinus (Oleaceae) Belgische Dendrologie Belge, 2012 : 38.

Wu, S.J., Ng, L.T. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT-Food Science Technology*, 41: 323-330.



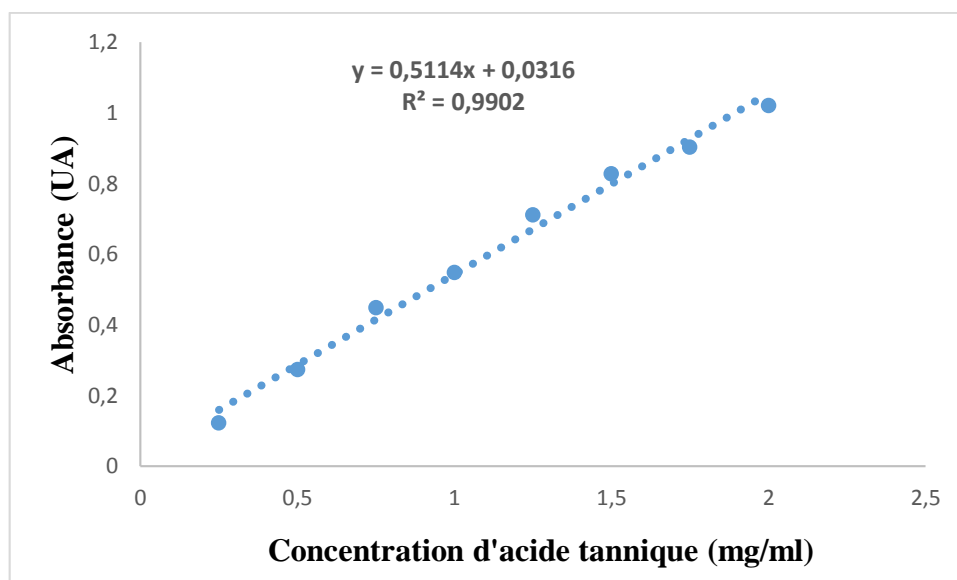
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

✚ Préparation des solutions :

- **Réactif $AlCl_3$** : 133mg d' $AlCl_3$ + 400mg d'acétate de sodium dans 100ml d'eau distillée.



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tannins.

✚ **Préparation des solutions :**

- **Tampon A** : 0,2 M d'acide acétique (CH_3COOH) avec 0,17 M de chlorure de sodium (NaCl), ajuster à pH 4,9 avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH).
- **Solution de BSA** : La BSA est dissoute dans le tampon A à une concentration de 5mg/ml.
- **FeCl_3** : 0,270 g dans HCl (0,01 M), ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée.
- **SDS /TEA** : pour un litre : 50 ml Triethanolamine (TEA) +10g de SDS puis compléter à 1 litre par l'eau distillée.

Résumé :

Fraxinus angustifolia Vahl. est un arbre appartenant à la famille des Oléacées. Les vertus thérapeutiques de leurs composants sont multiples comme l'effet antioxydant et anti-inflammatoire.

L'objectif de cette étude est la mise en valeur de la composition phénolique des feuilles et des écorces de *F.angustifolia* Vahl. et d'étudier l'interaction de ces composés avec les lipides. Les résultats des travaux effectués montrent que le rendement de l'extraction éthanolique est de 33,23 % pour les feuilles contre 11,07 % pour les écorces. L'estimation quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins est de 140,44 mg.Eq.A.G./g pour l'extrait de feuilles et de 183,85 mg.Eq.A.G./g d'extrait pour les écorces, 0,621 mg.Eq.Q./g d'extrait pour les feuilles et 1,97 mg.Eq.Q./g d'extrait dans les écorces. 41,91 mg.Eq.A.T. /g d'extrait dans les feuilles et 4,89 Eq.mg.A.T/mg d'extrait pour les écorces respectivement.

L'interaction entre les composés phénoliques et les lipides a été déterminée par l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de feuilles et des écorces de *F.angustifolia*Vahl. via l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique. On note que l'extrait éthanolique des feuilles présente un fort effet inhibiteur de cette peroxydation avec un taux d'inhibition de 83,99 % à (100 µg/ml) contre 55,18% à (50µg/ml) pour les écorces. Ces résultats appuient fortement l'usage traditionnel de cette plante, particulièrement ses feuilles, qui seraient une source intéressante d'antioxydants naturels.

Mots clés : *Fraxinus angustifolia* Vahl., Composés phénoliques, Lipides, Interactions.

Abstract :

Fraxinus angustifolia Vahl. is a tree belonging to the Oleaceae family. The therapeutic virtues of their components are multiple as the antioxidant and anti-inflammatory effect.

The aim of this study is to investigate the phenolic composition of the leaves and bark of *F.angustifolia* Vahl. and to study the interaction of these compounds with lipids. The results of the work carried out show that the yield of the ethanolic extraction is 33,23% for the leaves against 11,07% for the barks. The quantitative estimation of the total phenols, flavonoids and tannins is 140,44. mg.Eq.AG/g for leaf extract and 183.85 mg.Eq.AG/g extract for barks. 0.621 mg.Eq.Q./g extract for the leaves and 1.97 mg.Eq.Q. / g extract in bark. 41.91 mg.Eq.A.T. / g of extract in the leaves and 4.89 Eq.mg.AT / mg of extract for the barks respectively.

The interaction between phenolic compounds and lipids was determined by the antioxidant activity of ethanolic leaf extracts and barks of *F. angustifolia* Vahl. via the inhibition of the peroxidation of linoleic acid, it is noted that the ethanolic extract of the leaves has a strong inhibitory effect of this peroxidation with an inhibition rate of 83.99% at (100µg/ml) against 55,18% at (50µg/ml) for barks. These results strongly support the traditional use of this plant, particularly its leaves, which would be an interesting source of natural antioxidants.

Key words: *Fraxinus angustifolia*Vahl, Phenolic Compounds, Lipids, Interactions.

ملخص :

Fraxinus angustifolia Vahl. هي شجرة تابعة لعائلة Oleaceae. لمكوناتها فضائل علاجية متعددة مثل تأثير مضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات.

الهدف من هذه الدراسة هو تعزيز التركيب الفينولي للأوراق ولحاء *F.angustifolia* Vahl. ودراسة تفاعل هذه المركبات مع الدهون. تظهر نتائج العمل المنجز أن إنتاج محصول الإيثانول هو 33.23% للأوراق مقابل 11.07% للحاء. التقدير الكمي Polyphenols totaux ، Flavonoides ، Tannins هو 140.44 mg.Eq.A.G./g لمستخلص الأوراق ومستخلص 183.85 mg.Eq.A.G./g للحاء ، استخراج 0.621 mg.Eq.Q./g للأوراق و 1.97 mg.Eq.Q./g مستخرج في اللحاء. 41.91 mg.Eq.A.T / mg مستخلص في الأوراق و 4.89 Eq.mg.A.T / mg من مستخلص اللحاء على التوالي. تم تحديد التفاعل بين المركبات الفينولية والدهون من خلال النشاط المضاد للأكسدة من مستخلصات أوراق الإيثانول و لحاء *F.angustifolia* Vahl. عن طريق تثبيط بيروكسيد الحمض اللينولييك. ويلاحظ أن المستخلص الإيثانولي للأوراق له تأثير مثبط قوي لهذا البيروكسيد مع معدل تثبيط قدره 83.99% عند (100 µg/ml) مقابل 55,18% عند (50 µg/ml). هذه النتائج تدعم بقوة الاستخدام التقليدي لهذا النبات ، ولا سيما أوراقها ، والتي ستكون مصدرا للاهتمام من مضادات الأكسدة الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: *Fraxinus angustifolia* Vahl.، المركبات الفينولية ، الدهون ، التفاعلات.