

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre : 45/DS/2023

N° de série : 08/CH/2023

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences

Spécialité : Chimie

Option : Chimie Organique

Par

M^{me} KEMEL Meriem

Thème

Valorisation de plantes sahariennes : étude de *Hammada articulata* (Amaranthaceae), évaluation biologique et activité anticorrosive

Soutenue le 8 juillet 2023, devant le jury :

ZAMA Djamila	Professeure	Université Frères Mentouri Constantine 1	Présidente
BENAYACHE Fadila	Professeure	Université Frères Mentouri Constantine 1	Directrice de thèse Rapporteuse
KHELILI Smail	Professeur	Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel	Examineur
BELGHOSI Mebrouk	Professeur	Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel	Examineur
BOUBEKRI Nassima	MCA	Université Frères Mentouri Constantine 1	Examinatrice
HARROUCHE Kamel	MCA	Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel	Examineur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon dieu Allah qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

*Je souhaite remercier en premier lieu ma directrice de thèse, Madame la Professeure **BENAYACHE Fadila** pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et dirigé ce travail de recherche. Merci «madame», pour votre gentillesse, vos conseils, votre rigueur scientifique, pour votre aide précieuse lors de la rédaction de cette thèse*

*J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur **BENAYACHE Samir** pour avoir mis à ma disposition une plante saharienne endémiques et aussi pour la réalisation de l'analyse de l'huile essentielle.*

*Mes vifs remerciements vont à Madame **ZAMA Djamilia** Professeure à l'université de Constantine 1, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.*

Je tiens particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et en être les examinateurs de cette thèse :

*Je tiens à grandement remercier Monsieur **BELGHOSI Mebrouk**, Professeur à l'université de Jijel, d'avoir accepté de juger ce travail et de participer à ce jury de thèse*

*J'adresse également mes remerciements à Monsieur le Professeur **Khelili Smail**, de l'université Mohammad Seddik Benyahia (Jijel) d'avoir accepté de juger ce travail.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Madame **BOUBEKRI Nassima**, Maître de conférences à l'université des frères Mentouri, Constantine 1, pour avoir accepté de faire partie du jury.*

*Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **HARROUCHE Kamel**, Maître de conférences à l'université Mohamed Seddik Ben Yahia de jijel, en acceptant de juger ce travail.*



Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que Je dédie cette thèse

- ✓ À Mon très cher père, Merci pour tout ce que tu fais pour moi,
- ✓ À ma très chère maman, pour son soutien infatigable, sa patience admirable, Que Dieu le tout puissant te préserve.
- ✓ À mon mari, Merci pour ton soutien et votre patience
- ✓ À mes petites filles ; Tasnime & Alaa, Que Dieu vous préserve
- ✓ À mes sœurs ; Hadjer & Aicha
- ✓ À mes frères ; Adel & Tarek
- ✓ À tous mes collègues avec lesquels j'ai partagé une très bonne ambiance de travail et je garderai un bon souvenir, en particulièrement : Asma LAHOUEL et Akila CHIBANI qui m'ont soutenu dans les moments difficiles que j'ai affronté pour passer cette période.

Merci beaucoup



SOMMAIRE

<i>Introduction générale</i>	1
Chapitre 1 : Généralités et données bibliographiques	
1.1 Généralités sur les plantes médicinales	4
1.1.1 La famille Amaranthaceae (Amaranthacées).....	4
1.1.2 Description botanique de l'espèce <i>Hammada articulata</i>	5
1.1.3 Position systématique de la plante <i>Hammada articulata</i>	7
1.1.4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Hammada</i>	7
1.1.5 Les investigations phytochimiques sur l'espèce sélectionnée dans le cadre de ce travail.....	8
1.1.6 Métabolites secondaires.....	9
1.1.6.1 Les composés phénoliques.....	9
1.1.6.1.1 Les acides phénoliques.....	10
1.1.6.1.2 Les flavonoïdes.....	11
1.1.6.1.3 Les tanins.....	18
1.1.6.1.4 Les stilbènes.....	18
1.1.6.1.5 Propriétés physicochimiques et biologiques des composés phénoliques.....	19
1.1.6.2 Les coumarines.....	23
1.1.6.3 Les alcaloïdes.....	24
1.1.6.4 Les terpénoïdes.....	25
1.1.6.4.1 Les monoterpènes.....	26
1.1.6.4.2 Les diterpènes.....	27
1.1.6.4.3 Les sesquiterpènes.....	27
1.2 Généralités sur les huiles essentielles	28
1.2.1 Définition.....	28
1.2.2 Activités biologiques des huiles essentielles.....	28
1.2.3 Procédés d'obtention des huiles essentielles.....	29
1.2.3.1 Extraction par hydro-distillation.....	29
1.2.3.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	29
1.2.3.3 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.....	30

1.2.3.4 La micro-extraction en phase solide.....	30
1.2.4 Composition chimique des huiles essentielles.....	31
1.3 Généralités sur l'utilisation des inhibiteurs de corrosion.....	31
1.3.1 Définition d'un inhibiteur	33
1.3.2 Classification des inhibiteurs.....	33
1.3.2.1 Selon la nature des molécules inhibitrices.....	33
1.3.2.2 Selon le mécanisme d'action électrochimique.....	34
1.3.2.3 Selon le mécanisme d'action interfaciale.....	35
1.3.3 Utilisation des substances naturelles comme inhibiteurs de la corrosion	36
1.3.3.1 Inhibiteurs à base d'extraits.....	37
1.3.3.2 Inhibiteurs à base des huiles.....	40
1.4 Méthodes d'étude de la corrosion.....	42
1.4.1 La méthode gravimétrique.....	42
1.4.2 Les méthodes électrochimiques.....	43
1.4.2.1 Suivi du potentiel en circuit ouvert.....	43
1.4.2.2 Courbe de polarisation.....	43
1.4.2.3 La spectroscopie d'impédance électrochimique	45
1.5 Isothermes d'adsorption.....	47
1.5.1 L'adsorption physique (physisorption).....	47
1.5.2 L'adsorption chimique (chimisorption).....	48
1.6 Conclusion.....	50

Chapitre 2 : Extraction, fractionnement et criblage phytochimique

2.1 Introduction.....	51
2.2 Techniques expérimentales.....	51
2.2.1 Critères de choix de notre matériel végétal.....	51
2.2.2 Description botanique.....	52
2.2.3 Présentation de la zone d'étude.....	52
2.2.4 Macération et extraction.....	53
2.2.5 Obtention des huiles essentielles.....	55
2.2.6 Détermination de la composition chimique des HEs par Chromatographie en phase gazeuse.....	55
2.2.7 Screening phytochimique.....	56
2.2.7.1 Mise en évidence des flavonoïdes et flavones.....	56

2.2.7.2 Mise en évidence des alcaloïdes.....	56
2.2.7.3 Mise en évidence des saponines.....	57
2.2.7.4 Mise en évidence des tanins.....	57
2.2.7.5 Mise en évidence des polyphénols.....	57
2.2.7.6 Mise en évidence des terpénoïdes (test de Salkowski).....	57
2.2.7.7 Mise en évidence des diterpènes.....	57
2.2.7.8 Mise en évidence des stéroïdes.....	57
2.2.7.9 Mise en évidence des anthocyanes.....	58
2.2.7.10 Mise en évidence des coumarines.....	58
2.2.7.11 Mise en évidence de l'acide carboxylique.....	58
2.2.7.12 Mise en évidence des quinones.....	58
2.2.8 Dosage des polyphénols totaux.....	59
2.2.9 Dosage des flavonoïdes totaux.....	59
2.2.10 Séparation par chromatographie en phase liquide.....	59
2.2.10.1 Fractionnement de l'extrait chloroforme de <i>H. articulata</i>	60
2.2.10.2 Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle de <i>H. articulata</i>	61
2.2.10.3 Fractionnement de l'extrait <i>n</i> -butanol de <i>H. articulata</i>	62
2.2.11 Analyse des composés phénoliques par HPLC-DAD.....	63
2.3 Résultats et discussion	64
2.3.1 Screening phytochimique.....	64
2.3.2 Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux.....	66
2.3.3 Identification des composés phénoliques par HPLC-DAD.....	67
2.3.3.1 Identification des composés phénoliques dans la fraction F ₂₀ de l'extrait chloroforme.....	69
2.3.3.2 Identification des composés phénoliques dans les fractions F ₁₂ et F ₁₆ de l'extrait acétate d'éthyle.....	70
2.3.3.3 Identification des composés phénoliques dans les fractions F ₁₃ et F ₁₅ de l'extrait <i>n</i> -butanol.....	72
2.3.4 Etude de la composition chimique de l'huile essentielle.....	74
2.4 Conclusion et perspectives	78

Chapitre 3 : Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo

3.1 Introduction	79
3.2 Techniques expérimentales	79
3.2.1 Activités antioxydantes des extraits organiques.....	79

3.2.1.1 Pouvoir antioxydant par le test du DPPH.....	79
3.2.1.2 Pouvoir antioxydant par ABTS.....	80
3.2.1.3 Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	81
3.2.2 Activités biologiques <i>in vivo</i>	82
3.2.2.1 Toxicité aigüe.....	82
3.2.2.2 Activité anti-inflammatoire.....	82
3.2.2.3 Évaluation de l'activité diurétique.....	83
3.2.2.4 Effet hypoglycémique et anti-hyperglycémique des extraits de <i>Hammada articulata</i> chez le rat normoglycémique	84
3.3 Résultats et discussion	85
3.3.1 Activités antioxydantes des extraits.....	85
3.3.1.1 Activité antioxydante au DPPH.....	85
3.3.1.2 Activité antioxydante par ABTS.....	87
3.3.1.3 Activité antioxydante par le test FRAP.....	89
3.3.2 Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>H. articulata</i>	91
3.3.3 Toxicité aigüe	93
3.3.4 Activité anti-inflammatoire des extraits de <i>H. articulata (in vivo)</i>	93
3.3.5 Évaluation de l'activité diurétique (<i>in vivo</i>)	96
3.3.6 Effet hypoglycémique et anti-hyperglycémique des extraits de <i>H. articulata</i> chez le rat normoglycémique et hyperglycémique.....	99
3.3.6.1 Etude de l'effet des extraits sur la glycémie de rats normoglycémiques.....	99
3.3.6.2 Variation de la glycémie chez ayant reçu le glucose	101
3.4 Conclusion et perspectives	104

Chapitre 4 : Etude de l'inhibition des substances naturelles contre la corrosion de l'acier en milieu acide

4.1 Introduction	105
4.2 Conditions expérimentales	105
4.2.1 Etude gravimétrique.....	106
4.2.2 Études électrochimiques.....	106
4.3 Résultats et discussion	109
4.3.1 Utilisation des extraits organiques de l'espèce <i>H. articulata</i> comme des inhibiteurs verts de la corrosion de l'AI 316L.....	109
4.3.1.1 Etude gravimétrique.....	109

4.3.1.2 Etudes électrochimiques	111
4.3.1.2.1 Suivi du potentiel de corrosion au cours du temps.....	111
4.3.1.2.2 Courbes de polarisation potentiodynamique.....	113
4.3.1.2.3 Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	117
4.3.1.3 Isotherme d'adsorption des extraits sur la surface métallique.....	121
4.3.1.3.1 Mécanisme d'inhibition par les molécules présentes dans les extraits organiques de <i>H. articulata</i>	123
4.3.2 Étude de l'efficacité inhibitrice de l'huile essentielle vis-à-vis de la corrosion de l'acier 316L en milieu acide.....	128
4.3.2.1 Etude gravimétrique.....	128
4.3.2.2 Techniques électrochimiques.....	129
4.3.2.2.1 Suivi du potentiel de corrosion au cours du temps.....	129
4.3.2.2.2 Polarisation potentiodynamique.....	130
4.3.2.2.3 Méthode d'impédance électrochimique (EIS).....	132
4.3.2.2.4 Etude comparative.....	134
4.3.2.3 Isotherme d'adsorption de l'huile sur la surface de l'acier.....	135
4.3.2.3.1 Mécanisme d'adsorption.....	136
4.4 Conclusion et perspectives.....	137
<i>Conclusion générale</i>	139
<i>Références bibliographiques</i>	
<i>Résumé</i>	

Liste des tableaux

N°		Page
<i>Chapitre 1</i>		
Tableau 1.1	Quelques métabolites secondaires isolés de la plante <i>Hammada articulata</i>	8
Tableau 1.2	Différentes classes des flavonoïdes	17
Tableau 1.3	Effet des extraits naturels de plantes sur la corrosion des aciers en milieu acide	39
Tableau 1.4	Effet des inhibiteurs verts à base de l'huile sur la corrosion de l'acier en milieu acide	41
<i>Chapitre 2</i>		
Tableau 2.1	Tableau récapitulatif des groupes chimiques, réactions d'identification et méthode de détection	58
Tableau 2.2	Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de <i>H. articulata</i>	60
Tableau 2.3	Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce <i>H. articulata</i>	61
Tableau 2.4	Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait <i>n</i> -butanol de l'espèce <i>H. articulata</i>	62
Tableau 2.5	Rendements des extraits de <i>Hammada articulata</i> par rapport au poids sec de la matière végétale	64
Tableau 2.6	Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de l'espèce <i>Hammada articulata</i>	65
Tableau 2.7	Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits de <i>H. articulata</i>	67
Tableau 2.8	Paramètres analytiques obtenus par HPLC-DAD : temps de rétention, longueur d'onde maximale d'absorption, et les données de linéarité des standards	68
Tableau 2.9	Identification et quantification des composés phénoliques dans la fraction chloroforme F _{C20}	70
Tableau 2.10	Identification et quantification des composés phénoliques dans les fractions F _{A12} et F _{A16} de l'extrait acétate d'éthyle	71
Tableau 2.11	Identification et quantification des composés phénoliques dans les fractions F _{B13} et F _{B15} de l'extrait <i>n</i> -butanol	73
Tableau 2.12	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Hammada articulata</i>	75
<i>Chapitre 3</i>		
Tableau 3.1	Pouvoir réducteur des trois extraits et de l'acide ascorbique	90
Tableau 3.2	Résultats de l'activité antioxydante l'huile essentielle de <i>H. articulata</i>	91
Tableau 3.3	Effet du diclofénac et des extraits de <i>H. articulata</i> sur l'augmentation de l'œdème de la patte de rat induit par la carragénine	93
Tableau 3.4	Activité diurétique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol de <i>H. articulata</i> chez le rat <i>albinos</i>	97

Tableau 3.5	Activité diurétique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol de <i>H. articulata</i> chez le rat <i>albinos</i>	98
Tableau 3.6	Effet des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol sur l'excrétion d'électrolytes chez le rat	99
Tableau 3.7	Evolution de la valeur moyenne de la glycémie chez des rats normoglycémiques après le traitement aux extraits de <i>H. articulata</i>	101
Tableau 3.8	Evolution en fonction du temps de la valeur moyenne de la glycémie chez des rats hyperglycémiques après le traitement aux extraits de <i>H. articulata</i>	103
Chapitre 4		
Tableau 4.1	Composition chimique de l'acier inoxydable 316L en % massique	105
Tableau 4.2	Influence de la concentration de l'inhibiteur sur la vitesse de corrosion (V_{corr}) de l'AI 316L et sur l'efficacité inhibitrice (E_I) après une durée d'immersion de 72 h	110
Tableau 4.3	Paramètres électrochimiques obtenus à partir des courbes de Tafel de l'AI 316L dans HCl 1 M en présence de différentes concentrations des extraits de <i>H. articulata</i>	114
Tableau 4.4	Paramètres d'impédance électrochimique de l'AI 316L immergé dans HCl 1 M sans et avec différentes concentrations des extraits CHCl_3 , AcOEt et <i>n</i> -BuOH	121
Tableau 4.5	Paramètres d'adsorption de l'isotherme de Langmuir pour l'AI 316L dans HCl 1 M contenant les extraits CHCl_3 , AcOEt et <i>n</i> -BuOH à différentes concentrations	123
Tableau 4.6	Influence de la concentration de l'huile sur V_{corr} de l'AI 316L et sur E_I après une durée d'immersion de 72 h	128
Tableau 4.7	Paramètres électrochimiques obtenus à partir des courbes de polarisation de l'acier dans HCl 0,5 M en présence et en absence de différentes concentrations de l'huile	131
Tableau 4.8	Paramètres d'impédance électrochimique de l'AI 316L dans HCl 0,5 M avec sans différentes concentrations de l'huile	132
Tableau 4.9	Valeurs des paramètres issus du modèle d'isotherme d'adsorption de Langmuir pour l'adsorption de l'HE à la surface de l'acier inoxydable dans HCl 0,5 M	136

Liste des Figures

N°		Page
Chapitre 1		
Figure 1.1	Description botanique de l'espèce <i>Hammada articulata</i>	6
Figure 1.2	Exemples de quelques métabolites secondaires isolés de l'espèce <i>Hammada articulata</i>	9
Figure 1.3	Exemples de sous-classes d'acides phénoliques	10
Figure 1.4	Squelette de base des flavonoïdes	11
Figure 1.5	Les différents dérivés des flavonoïdes	12
Figure 1.6	Structures chimiques des flavonols	12
Figure 1.7	Structures chimiques des flavones	13
Figure 1.8	Structures chimiques de quelques flavanones	14
Figure 1.9	Monomères de Flavan-3-ol	15
Figure 1.10	Structures chimiques d'isoflavones	15
Figure 1.11	Structures chimiques de chalcones	16
Figure 1.12	Structures chimiques de quelques anthocyanes	17
Figure 1.13	Les isomères d'un stilbène	19
Figure 1.14	Les bandes d'absorption des flavonoïdes	19
Figure 1.15	Sites proposés pour la chélation des flavonoïdes par les ions métalliques	21
Figure 1.16	Structures chimiques des principales classes de coumarines naturelles	23
Figure 1.17	Représentation schématique de vrais et proto-alcaloïdes	25
Figure 1.18	Unité isoterpénique (à cinq atomes de carbone)	26
Figure 1.19	Structures chimiques de quelques monoterpènes	26
Figure 1.20	Structures chimiques de quelques diterpènes	27
Figure 1.21	Structures chimiques de quelques sesquiterpènes	28
Figure 1.22	Formation des couches barrières (A) cathodiques et (B) anodiques interférant avec les réactions électrochimiques, dans le cas d'une étude en milieu acide	34
Figure 1.23	Diagrammes d'Evans montrant le déplacement du potentiel de corrosion dû à la présence d'un inhibiteur de corrosion (a) anodique, (b) cathodique, (c) mixtes	35

Figure 1.24	Diagramme des courbes de polarisation montrant les régions anodiques et cathodiques et détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel	44
Figure 1.25	Représentation dans le plan de Nyquist de l'impédance électrochimique, dans le cas d'un processus de transfert de charge et le circuit électrique équivalent	45
Chapitre 2		
Figure 2.1	L'espèce <i>Hammada articulata</i>	52
Figure 2.2	Carte géographique représentative de la région de Touggourt	53
Figure 2.3	Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des parties aériennes de l'espèce <i>H. articulata</i>	54
Figure 2.4	Schéma d'extraction et de fractionnement sur colonne—des extraits CHCl ₃ , AcOEt et <i>n</i> -BuOH de <i>H. articulata</i> mettant en évidence les fractions destinées à l'analyse par HPLC-DAD	63
Figure 2.5	Courbes d'étalonnage de l'acide gallique (a) et de la quercétine (b)	66
Figure 2.6	Structures chimiques des composés phénoliques utilisés comme standards	68
Figure 2.7	Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F _{C20} de l'extrait CHCl ₃ enregistré à 310 nm	69
Figure 2.8	Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F _{C20} de l'acétate d'éthyle enregistré à 280 nm	70
Figure 2.9	Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F _{A16} de l'extrait AcOEt enregistré à 280 nm	72
Figure 2.10	Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F _{B13} de l'extrait <i>n</i> -BuOH enregistré à 280 nm	72
Figure 2.11	Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F _{B15} de l'extrait <i>n</i> -BuOH enregistré à 280 nm	73
Figure 2.12	Profil chromatographique de l'HE de <i>Hammada articulata</i> obtenu par CPG/FID	76
Figure 2.13	Réparation des familles de molécules présentes dans l'huile de <i>H. articulata</i>	77
Figure 2.14	Structures chimiques des composés majoritaires présents dans l'huile essentielle de <i>H. articulata</i>	77
Chapitre 3		
Figure 3.1	Réduction par des antioxydants du radical DPPH en DPPHH	79
Figure 3.2	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	80
Figure 3.3	Activité antioxydante par DPPH des différents extraits organiques de la partie aérienne de <i>H. articulata</i>	86
Figure 3.4	Comparaison entre les valeurs de l'EC ₅₀ des extraits de <i>H. articulata</i> évaluée par le test DPPH	87

Figure 3.5	Activité antioxydante par ABTS des différents extraits organiques de <i>H. articulata</i>	88
Figure 3.6	Comparaison entre les valeurs de l'EC ₅₀ des extraits de <i>H. articulata</i> obtenus par le test ABTS	89
Figure 3.7	Réduction du fer ferrique en fer ferreux par les extraits de <i>Hammada articulata</i>	90
Figure 3.8	Profil de l'activité antioxydante de l'HE de <i>H. articulata</i>	92
Figure 3.9	Évolution de l'inflammation de l'œdème plantaire en fonction du temps pour les différents groupes	94
Figure 3.10	Influence des extraits organiques de <i>H. articulata</i> sur l'œdème induite par la carragénine	95
Figure 3.11	Variations de la diurèse en fonction du temps après administration par voie orale de différents extraits à une dose unique de 200 mg/kg	97
Figure 3.12	Effet des extraits organiques de <i>Hammada articulata</i> et de glibenclamide sur la glycémie des rats normoglycémiques	100
Figure 3.13	Évolution en fonction du temps de la glycémie chez des rats hyperglycémiques prétraités avec la glibenclamide et les extraits de <i>H. articulata</i>	102
Chapitre 4		
Figure 4.1	Dispositif de mesure électrochimique	107
Figure 4.2	Cellule électrochimique à trois électrodes comprenant une électrode de référence (a), une contre-électrode (b) et une électrode de travail (c)	108
Figure 4.3	Variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité inhibitrice de l'Al 316L en présence de l'extrait (a) CHCl ₃ , (b) AcOEt, (c) <i>n</i> -BuOH en milieu HCl 1 M	111
Figure 4.4	Suivi du potentiel de corrosion de l'Al 316L dans HCl 1 M avec et sans inhibiteurs	112
Figure 4.5	Courbes de polarisation de l'Al 316L en milieu HCl 1 M contenant les extraits : (a) CHCl ₃ , (b) AcOEt, (c) <i>n</i> -BuOH à différentes concentrations	115
Figure 4.6	Diagramme de Nyquist de l'acier 316L dans HCl 1 M contenant les extraits : (A) CHCl ₃ , (B) AcOEt et (C) <i>n</i> -BuOH à différentes concentrations	118
Figure 4.7	Diagramme de Nyquist expérimental et ajusté pour l'interface de l'Al 316L dans HCl 1M Contenant l'extrait CHCl ₃	119
Figure 4.8	Modèle du circuit équivalent utilisés pour l'acier 316L dans HCl 1 M : (a) en absence de l'inhibiteur (extrait) ; (b) en présence de l'extrait	120
Figure 4.9	Isothermes d'adsorption de Langmuir pour l'acier 316L dans HCl 1 M en présence des extraits : (a) CHCl ₃ , (b) AcOEt et (c) <i>n</i> -BuOH à T=298 K	122
Figure 4.10	Forme protonée de salsolidine en milieu acide	125
Figure 4.11	Forme protonée de la carnégine	126

Figure 4.12	Formes cationique de tryptamine	126
Figure 4.13	Mécanisme d'adsorption de la salsolidine (a) et de tryptamine (b) sur la surface de l'AI 316L dans une solution acide	127
Figure 4.14	Variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité inhibitrice de l'AI 316L en présence de l'huile	129
Figure 4.15	Evolution du potentiel libre en fonction du temps d'immersion pour l'AI 316L	130
Figure 4.16	Courbe de polarisation de l'acier inoxydable dans HCl 0,5 M avec et sans différentes concentrations de l'HE	131
Figure 4.17	Diagrammes de Nyquist de l'acier 316L dans HCl 0,5 M en absence et en présence des différentes concentrations de l'HE <i>H. articulata</i>	133
Figure 4.18	Circuit électrique équivalent utilisé pour interpréter les données SIE	133
Figure 4.19	Comparaison des valeurs de E_I obtenues par les méthodes de perte de masse, de courbes de polarisation et de la SIE	134
Figure 4.20	Courbe de l'isotherme d'adsorption de Langmuir de l'huile pour l'AI 316L	135
Figure 4.21	Schéma du comportement d'adsorption de l'eugénol sur la surface de l'acier inoxydable en milieu acide	137

Abréviations et symboles

Les abréviations ont généralement été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature, elles sont donc souvent issues de la terminologie anglo-saxonne.

ABTS : acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Ac Asc : acide ascorbique

ACN : acétonitrile

AcOEt : acétate d'éthyle

AI : acier inoxydable

AINS : anti-inflammatoire stéroïdien

AG : acide gallique

C_{inh} : concentration d'inhibiteur

CC : chromatographie sur colonne

CCM : chromatographie sur couche mince

CEE : circuit électrique équivalent

C_{dc} : capacité de la double couche électrochimique

CPE : élément de phase constante

CE : contre électrode

CPG/SM : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse

DAD : détecteur à barrette diode

DFT : la théorie de la fonctionnelle de la densité

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

EAG : équivalent d'acide gallique

E_{corr} : potentiel de corrosion

E_I : efficacité inhibitrice

EC₅₀ : concentration efficace pour piéger 50% des radicaux

ECS : électrode de calomel saturée

EDS : spectroscopie à dispersion d'énergie

ET : électrode de travail

ERO : espèce réactive de l'oxygène

EUV : Excrétion urinaire volumétrique

f : fréquence de la perturbation

Fr : fraction

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g : gramme

Glibc : glibenclamide

h : heure

HCTZ : hydrochlorothiazide

HPLC : chromatographie Liquide Haute Performance

HE : huile essentielle

HS-SPME : micro-extraction en phase solide en mode espace de tête

Hz : hertz

I_{corr} : densité de courant de corrosion

I_{inh} : densité de courant de corrosion en présence de l'inhibiteur

IGF : insulin-like growth factor (facteur de croissance 1 ressemblant à l'insuline)

IRS : insulin receptor substrates (substrats des récepteurs de l'insuline)

K_{ads} : constante d'adsorption

l : litre

m : masse

mM : millimol/l

μ M : micromol/l

Me : métal

MEB : microscopie électronique à balayage

Mdt : médicament

mg : milligramme

min : minute

ml : millilitre

ND : non détecté

nm : nanomètre

ns : non significatif

OCP : potentiel de circuit ouvert

PPAR : peroxisome proliferator-activated receptors

p.c : poids corporel

pH : potentiel d'hydrogène

ppm : partie par million
p.o : per os (voie orale)
QE : équivalent quercétine
R : constante des gaz parfaits
Rdt : rendement
RMN : résonance Magnétique Nucléaire
R_p : résistance de polarisation
rpm : rotation par minute
R_{tc} : résistance de transfert de charge
S : surface
SD : standard deviation (Ecart-type)
SiC : carbure de silicium
SIE : spectroscopie d'impédance électrochimique
Sol : solution
STZ-Cd : streptozotocine-cadmium
t: temps
T : température absolue
TCA : acide trichloracétique
UV-Vis : ultraviolet-Visible
V: volume
W_{corr} : vitesse de corrosion en absence de l'inhibiteur
W_{inh} : vitesse de corrosion en présence de l'inhibiteur
Z_{Re} : partie réelle de l'impédance électrochimique
Z_{Im} : partie imaginaire de l'impédance électrochimique
ΔG⁰_{ads} : *enthalpie libre standard d'adsorption*
% : pourcentage
°C : degré Celsius
β_a : pentes de Tafel anodique
β_c : pentes de Tafel cathodique
θ : taux de recouvrement
λ_{max} : longueur d'onde
μg : microgramme
μl : microlitre

Introduction générale

Les plantes médicinales représentent l'une des principales sources pour la découverte des médicaments. Le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres de façon empirique et rapporté dans les littératures antiques et arabes. Ainsi, les remèdes naturels à base de plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal voire l'unique recours pour soigner et lutter contre les maladies (**Leduc *et al.*, 2006**), et en même temps comme matière première pour la médecine moderne (**Jean and Jiri, 1983**). Jusqu'à l'heure actuelle les deux médecines moderne et traditionnelle sont pratiquées, notamment dans les pays en voie de développement (**Karou *et al.*, 2006**).

Le Sahara est le plus vaste écosystème, caractérisé par des conditions climatiques très rudes, peuplé par des animaux et des végétaux bien adaptés à ce contexte, dans différentes zones géomorphologiques (**Ozenda, 1991**). Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore plus ou moins faible. Elles sont adaptées et utilisées par les populations locales pour différentes utilisations médicinales et écologiques (**Slimani *et al.*, 2015**). Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médical. Comparativement aux pays du Maghreb, la flore algérienne est représentée par 3000 espèces et 1000 genres (**Hanifi, 1991**), celle de la Tunisie compte 2103 espèces et 742 genres (**Nabli, 1991**), alors que la flore totale marocaine est représentée par 4200 espèces et sous espèces avec 940 genres et 135 familles (**Ibn Tatou and Fennane, 1991**).

Les plantes sahariennes constituent un réservoir de recherche de nouvelles molécules bioactives prometteuses vu l'utilisation d'un bon nombre d'entre elles en médecine traditionnelle. En effet, étant donné leur écosystème ces plantes sont soumises à un stress oxydatif intense et une insuffisance hydrique (**Haddouchi *et al.*, 2016**). Ces conditions font qu'elles sont susceptibles de développer des mécanismes de défense engendrant l'accumulation de métabolites secondaires particuliers tant du point de vue structurale que du point de vue activité biologique. Plusieurs études physicochimiques concernant l'extraction, la séparation, la purification et la détermination structurale de composés flavoniques, lactones sequiterpéniques, triterpéniques ont été effectuées.

Les métaux tels que l'acier et l'aluminium font partie intégrante de notre vie au regard des nombreux domaines dans lesquels ils interviennent. Ils possèdent d'excellentes propriétés mécaniques, facilement recyclables et d'un coût relativement moins élevé (**Kuznetsov and Redkina, 2022**).

Malheureusement, ils sont peu résistants à des conditions environnementales (humidité, dioxygène, pluies acides...) et aux conditions d'utilisation (contact avec des composés corrosifs). Ces dégâts causés par la corrosion présentent un coût important, même pour les pays riches. Les aciers sont particulièrement vulnérables à la corrosion. A cause du taux d'humidité très élevé en zone tropicale tout au long de l'année, le problème de la corrosion des aciers se pose avec acuité. Il est cependant possible de contrôler ou de ralentir considérablement la corrosion par diverses stratégies. Il s'agit entre autre de la protection cathodique ou anodique ou le revêtement des pièces métalliques par une couche protectrice et l'utilisation des inhibiteurs de corrosion.

La recherche d'inhibiteurs verts ayant la vertu d'être biodégradables a donné lieu à un grand nombre d'études sur le potentiel anticorrosif des plantes. Ceci est particulièrement pertinent car on pense que les inhibiteurs synthétiques sont potentiellement nocifs pour l'environnement. La flore saharienne est riche en composés chimiques possédant des propriétés qui peuvent être exploitées avantageusement comme inhibiteur de corrosion. Ces propriétés sont dues à la présence des hétéroatomes (N, O, S,...) et/ou des électrons π dans leurs structures chimiques et la capacité moléculaire à former une couche continue sur la surface métallique. Il s'agit entre autres des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes... qui jouent divers rôles au cours de la vie de la plante.

Ce travail se propose d'évaluer les propriétés anticorrosives des extraits d'une plante saharienne très répandue en Algérie : *Hammada articulata* (appelée localement Remth) appartenant à la famille des Amaranthacées et à renforcer la connaissance phytochimique et biologique de cette espèce.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de notre plante en métabolites secondaires et à déterminer leurs propriétés biologiques et anticorrosives. Pour cela notre étude englobe trois aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur la séparation et la quantification des composés phénoliques par les techniques chromatographiques. Le deuxième aspect porte sur l'évaluation des activités antioxydante, diurétique, anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiantes des extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH de la plante *Hammada articulata*. Le troisième axe du présent travail consiste à évaluer, par des méthodes électrochimiques, l'efficacité inhibitrice des trois extraits vis-à-vis de la corrosion de l'acier en milieu HCl 1 M et d'examiner aussi l'influence de l'huile essentielle sur la réaction de dissolution du fer en milieu acide.

Le manuscrit de thèse s'articule autour de quatre chapitres :

Le premier chapitre présente une étude bibliographique qui établit l'état des connaissances sur l'espèce *Hammada articulata* en détaillant brièvement leur morphologie, la description du genre et les résultats obtenus sur l'étude phytochimique de ses extraits ainsi que ses métabolites secondaires et leurs propriétés biologiques. Il expose également des notions théoriques sur la corrosion et les inhibiteurs ainsi que les différentes méthodes d'étude électrochimique.

Le second chapitre présentera nos travaux portant sur les études phytochimiques de l'espèce sélectionnée. Elle est basée sur l'extraction des métabolites secondaires en débutant par la macération, le screening phytochimique, puis la séparation et le fractionnement ainsi que l'analyse de son huile essentielle par CPG/SM.

Le troisième chapitre est consacré à l'évaluation de quelques activités biologiques *in vitro* et *in vivo* des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce sélectionnée.

L'étude de l'efficacité de l'huile essentielle et des extraits de *Hammada articulata* pour la protection de l'acier inoxydable 316L contre la corrosion sera rigoureusement effectuée dans le quatrième chapitre.

Enfin une conclusion résumera l'ensemble des travaux réalisés et présentera les perspectives que nous envisagerons de réaliser.

Chapitre 1

Généralités et données bibliographiques

1.1 Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales ont tout le temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines puisqu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir thérapeutique des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. En effet, ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, flavones, flavonols, quinones, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polypeptides (Cowan, 1999).

L'Algérie possède un riche patrimoine de plantes utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies, comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et d'autres pathologies (Ziyyat *et al.*, 1997 ; Eddouks *et al.*, 2002). Plusieurs études ont été réalisées sur les plantes à intérêt médicinal pour évaluer leur richesse en polyphénols et leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antidiabétiques (Djeridane *et al.*, 2006). Malgré les nombreux travaux effectués sur les plantes prélevées en Algérie, il reste encore d'autres plantes non évaluées sur le plan de leur composition chimique et activités biologiques.

La flore algérienne estimée à plusieurs milliers d'espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, est un véritable réservoir de ressources végétales qui résistent aux conditions extrêmes. Elle est caractérisée par sa diversité en raison de son biotope très varié constitué de régions méditerranéennes et sahariennes (Ozenda, 1983 ; White, 1986). Cette richesse floristique est une chance pour les scientifiques évoluant dans le domaine de la recherche de substances naturelles bioactives par le biais de la phytochimie et de la phytothérapie. La composition d'une même espèce peut varier selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte, et la partie de la plante utilisée (White, 1986).

1.1.1 La famille Amaranthaceae (Amaranthacées)

Les Amaranthaceae (anciennement Chénopodiacées) représentent la lignée des espèces de plantes les plus nombreuses puisqu'elles font partie de l'ordre des Caryophyllées, qui comprend environ 175 genres et plus de 2500 espèces différentes. Certaines Amaranthaceae sont utilisées comme plantes médicinales ou légumes dans diverses parties du globe (Mroczek, 2015).

La plupart des Amaranthaceae sont des plantes annuelles et vivaces réparties dans le monde entier en particulier dans le désert dont la croissance est parfaitement adaptée aux sols salés et aux milieux arides (**Villalba et al., 2014**). La plupart des genres de cette famille sont constitués des halophytes et xérophytes à fleurs évoluées bisexuées et régulières, leurs branches souvent articulées avec des feuilles plates ou de forme cylindrique. Ces plantes sont si étroitement liées aux Chénopodiacées, qu'elles sont aujourd'hui réunies dans la même famille. Ce sont des arbustes fortement xéromorphes dans la structure des systèmes des racines profondes et diverses autres fonctionnalités qui réduisent la transpiration des feuilles, ils sont caractérisés par des cuticules épaisses et stomates enfoncés (**Chopra et al., 1960**). Parmi les plantes vivaces existants, on cite quatre genres qui sont particulièrement importants : *Anabasis*, *Salsola*, *Chenopodium* et *Haloxylon* ou *Hammada* (**Migahid et al., 1975 ; Ozenda, 1983**).

1.1.2 Description botanique de l'espèce *Hammada articulata*

Le genre *Hammada* représente l'un des genres les plus cruciaux de la famille des Amaranthaceae qui comprend environ 25 espèces (**Li et al., 2010**). *Hammada articulata* = *Hammada scoparia* (Pomel) = *Haloxylon tamariscifolium* (L.) Pau. = *Haloxylon articulatum* Bonn. et Barr. = *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin, distribuée dans la région méditerranéenne jusqu'à l'Arabie, l'Iran, la Mongolie, la Birmanie et le Sud-Ouest de la Chine (**Jarraya and Damak, 2001 ; Ben Salah et al., 2002 ; El-Shazly and Wink, 2003 ; Mezghani-Jarraya et al., 2009**).

Hammada articulata est un petit arbuste halophyte très ramifié dont la longueur est entre 50-70 cm, son volume est grand, son diamètre varie entre 2 à 3 centimètres, Cette plante pousse surtout dans les zones désertiques et semi-désertiques dans des sols contenant beaucoup de sel, elle résiste aux conditions climatiques (**Li et al., 2010**). C'est un glabre, gris arbuste à souche épaisse et tortueuse, des rameaux articulés, grêles, très nombreux, qui devient généralement plus foncé ou noirâtre une fois séché comme le montre la figure 1.1-a (**Quezel and Santa, 1963**). Les feuilles sont complexes et opposées en arrangement spirale, les racines sont noires, les tiges sont à rameaux grêles et charnus, articulés, dressés et très nombreux (Figure 1.1-b et c), les fleurs sont généralement solitaires à l'aisselle des feuilles longues, possèdent des petites couvertures pentagonales régulières (Figure 1.1-h et c). Les fruits portent des graines horizontale, lenticulaire, de 1,5 mm diamètre, présentant un système mixte à extension horizontale et verticale sur une profondeur de 40 cm à 1,2 m, les graines sont aplaties dans le même plan que les sépales (**Boucherit et al., 2018**).

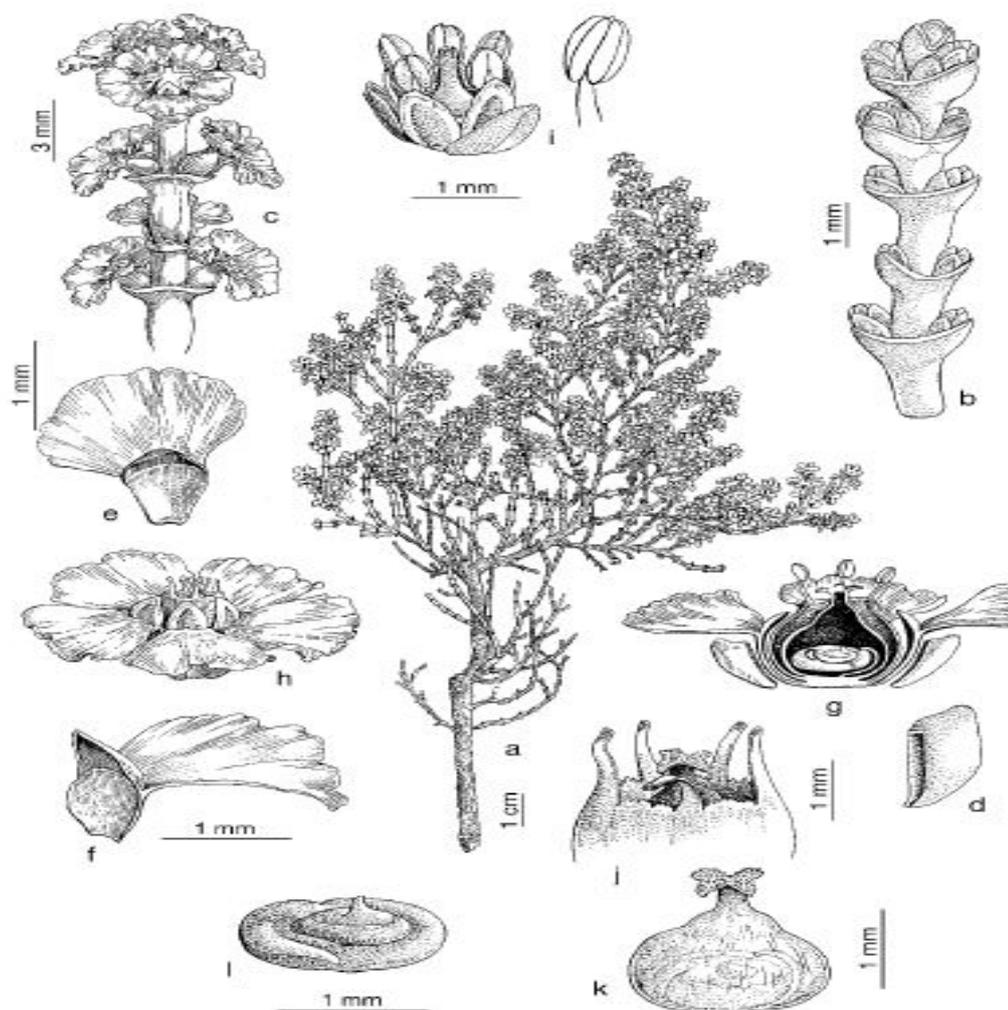


Figure 1.1 : Description botanique de l'espèce *Hammada articulata* (Quezel and Santa, 1963)

(a) branche fructueuse ; (b) jeune branche ; (c) branche fructifère ; (d) bractéole ; (e) pièce périantique ailée en vue frontale ; (f) pièce périantique ailée en vue latérale ; (g) fleur en coupe verticale ; (h) fleur à maturité ; (i) fleur avec bractéole et détail d'une étamine ; (j) disque hypogyne développé, avec les filets ; (k) détail du gynécée ; (l) embryon.

Hammada articulata est une plante très utilisée en médecine traditionnelle, elle est considérée parmi les plantes rares durant l'année (Ozenda, 1983). C'est une plante populaire largement utilisée en décoction, en infusion ou en cataplasme pour traiter diverses maladies. L'infusion de la poudre de la partie aérienne de *H. articulata* est utilisée dans les pays du Maghreb pour ses effets antidiabétique et anti-inflammatoire. De plus, elle a été fréquemment utilisée dans le traitement des troubles oculaires, de l'arthrose, polyarthrite rhumatoïde et les piqures des insectes (Lamchouri *et al.*, 2012 ; Alawhibi *et al.*, 2020).

I.1.3 Position systématique de la plante *Hammada articulata*

Règne	→	Plantae
Sous-règne	→	Tracheobionta
Embranchement	→	Spermatophytes
Sous-embranchement	→	Angiospermes
Division	→	Magnoliophyta
Classe	→	Magnoliopsida
Sous-classe	→	Caryophyllidae
Ordre	→	Caryophyllales
Famille	→	Amaranthaceae
Genre	→	<i>Hammada</i>
Espèce	→	<i>Hammada articulata</i>
Autres nomenclatures	⎵	<i>Hammada scoparia</i> (Pomel) Iljin ; <i>Haloxylon scoparium</i> ; <i>Haloxylon articulatum</i> ; <i>Arthrophytum scoparium</i> ; <i>Salsola articulata</i>
Nom en arabe	→	الرمث Remth

I.1.4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Hammada*

Les investigations antérieures montrent que parmi les activités biologiques reconnues pour le genre *Hammada* (*Haloxylon*), l'activité antioxydante vient en tête du classement. Les composés antioxydants retrouvés dans cette espèce vont jouer un rôle important dans le traitement et la prévention des maladies du stress oxydatif (Tamma *et al.*, 2017 ; Nounah *et al.*, 2019). En outre, les extraits bruts de certaines espèces du genre *Hammada* ont été biologiquement évalués. Par exemple, l'extrait éthanolique de *H. salicornicum* s'est avéré doué d'activités antidiabétique (Alsaadi, 2018 ; Abdelgawad *et al.*, 2022) et anticoagulante chez les animaux de laboratoire (Awaad *et al.*, 2001). L'extrait aqueux de *Hammada articulata* (*scoparia*) a montré une activité anticancéreuse et antiplasmodiale (Sathiyamoorthy *et al.*, 1999) et larvicide (Sathiyamoorthy *et al.*, 1997). En plus, le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle de *Haloxylon schmittiana* et de l'extrait brut de *Hammada scoparia* ont été également étudiés et ont montré des activités antimicrobiennes contre les souches *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Lamchouri *et al.*, 2012). Plus récemment, l'effet protecteur de l'huile essentielle de *Hammada articulata*, contre la néphrotoxicité induite par le nickel chez les rats Wistar a été évaluée (Grele *et al.*, 2021).

I.1.5 Les investigations phytochimiques sur l'espèce sélectionnée dans le cadre de ce travail

Des études phytochimiques sur l'espèce *Hammada articulata* ont abouti à l'isolement de quelques métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, et les composés phénoliques. Les alcaloïdes isolés appartiennent principalement à cinq classes d'alcaloïdes, dont trois isoquinoléines, deux tétrahydroisoquinolines, deux indoles, une isoquinolone et un alcaloïde β -carboline (Tableau 1.1, Figure 1.2).

Tableau 1.1 : Quelques métabolites secondaires isolés de la plante *Hammada articulata*

Métabolites secondaires	Classe chimique	Nom chimique	Références
Alcaloïdes	Isoquinolines	✓ Salsolidine (1) ✓ Isosalsoline (2) ✓ Dehydrosalsolidine (3)	Benkrief <i>et al.</i> , 1990
	Isoquinolone	✓ N-méthylcorydaldine (4)	
	Tétrahydroisoquinolines	✓ Carnéguine (5) ✓ N-méthylisosalsoline (6)	El-Shazly, 2003
	β -carboline	✓ 2-méthyl-1,2,3,4-tétrahydro- β -carboline (7)	Azizuddin <i>et al.</i> , 2013
	Indole	✓ Tryptamine (8) ✓ Dipterine (N-méthyltryptamine)(9)	
Composés phénoliques	Flavonols triglycosides	Isorhamnétine 3- <i>O</i> - β -D-xylopyranosyl-(1''' \rightarrow 3''')- α -L-rhamnopyranosyl-(1''' \rightarrow 6''')- β -D galactopyranoside (10)	Ben Salah <i>et al.</i> , 2002
		Isorhamnétine 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosyl-(1''' \rightarrow 2'')-[α -L-rhamnopyranosyl-(1''' \rightarrow 6'')]- β -D-galactopyranoside (11)	
		Isorhamnétine 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1''' \rightarrow 2'')-[α -L-rhamnopyranosyl-(1''' \rightarrow 6'')]- β -D-galactopyranoside (12)	Azizuddin <i>et al.</i> , 2013
	Flavonol glycoside	✓ Isorhamnétine-3- <i>O</i> -beta-D-robinobioside (13)	Benkrief <i>et al.</i> , 1990
	Flavone	✓ Chrysoériol (14)	Azizuddin <i>et al.</i> , 2013
Phénol	✓ Catéchol (15)	Azizuddin <i>et al.</i> , 2013	

De plus, certains flavonoïdes ont été identifiés de cette espèce comme l'isorhamnétine–xylose–galactose, la quercétine–xylose–rhamnose–galactose et la quercétine–glucose–rhamnose (Bourogaa *et al.*, 2011) (Figure 1.2).

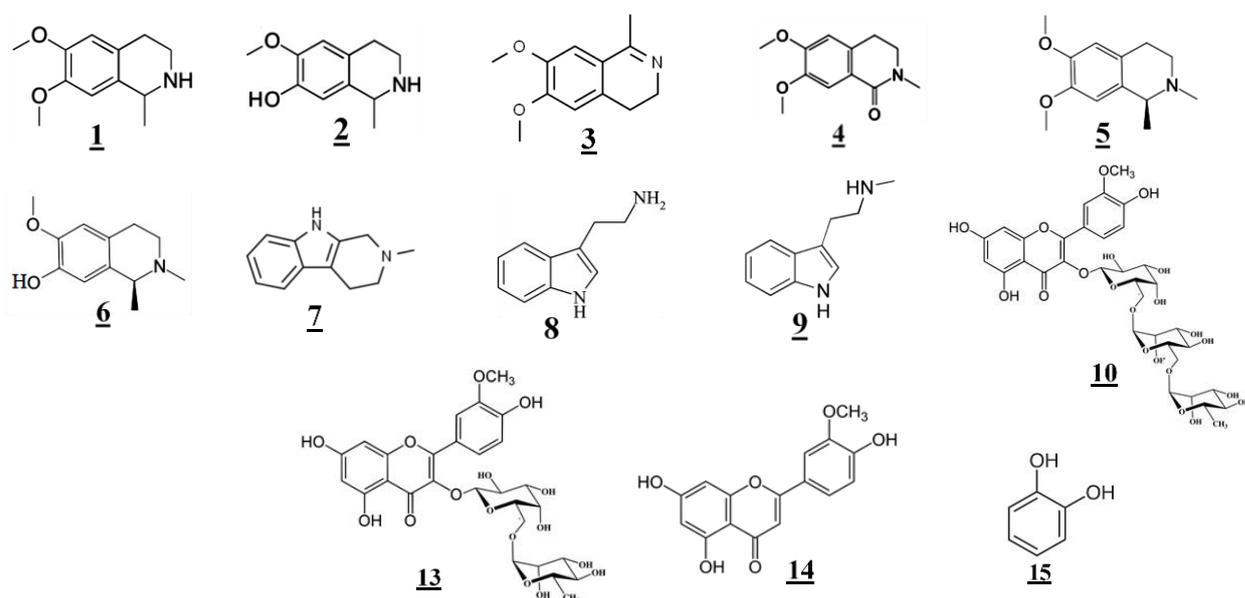


Figure 1.2 : Exemples de quelques métabolites secondaires isolés de l'espèce *Hammada articulata*

1.1.6 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques qui ne sont pas impliquées dans la croissance et le développement d'un organisme. Ces composés constituent un groupe extrêmement diversifié de produits naturels synthétisés par les plantes, les champignons, les bactéries, les algues et les animaux. La plupart des métabolites secondaires, tels que les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes sont classés en fonction de leur origine biosynthétique (Roze *et al.*, 2011). De nombreux métabolites secondaires présents dans les plantes jouent un rôle dans la défense contre les herbivores, les ravageurs et les agents pathogènes. On trouve les terpènes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les stilbènes, les tanins et composés contenant de l'azote tels que les alcaloïdes (Costa *et al.*, 2012).

1.1.6.1 Les composés phénoliques

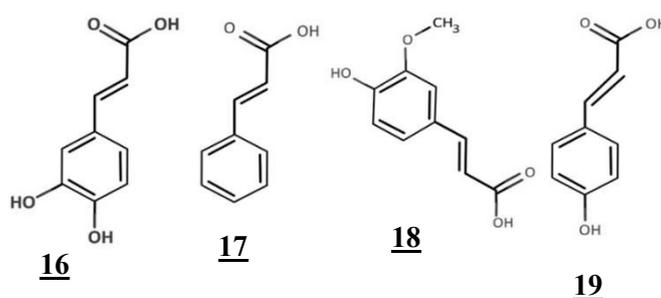
Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal, caractérisées par la présence d'un noyau

benzénique portant plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 2009). Ce sont des molécules issues des métabolismes secondaires et sont présentes dans toutes les parties des végétaux supérieurs (feuilles, tiges, fleurs, pollens, fruits et graines). Ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme comme la croissance ou la production mais ils interviennent dans les mécanismes de défenses de la plante ou encore dans la coloration des fleurs et fruits (Crozier *et al.*, 2006). Ils peuvent être des molécules simples, comme les acides phénoliques, ou des composés hautement polymérisés comme les tanins. Les principales classes de composants phénoliques sont : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les acides phénolique, les tanins et les coumarines.

1.1.6.1.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques non flavonoïdes. Ils comportent au moins une fonction carboxylique et un seul noyau phénolique (Dewick, 2002). Ils sont considérés comme substances phytochimiques dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique basés sur les squelettes C₁-C₆ et C₃-C₆, où les dérivés de l'acide benzoïque sont les acides hydroxybenzoïques, C₆-C₁ ; et les dérivés de l'acide cinnamique sont les acides hydroxycinnamiques, C₆-C₃ (Zuiter, 2014) (Figure 1.3).

Acides hydroxycinnamiques



Acides hydroxybenzoïques

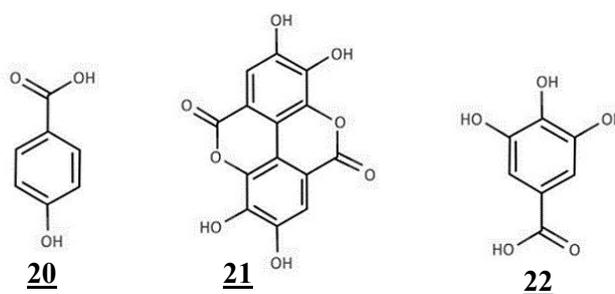


Figure 1.3 : Exemples de sous-classes d'acides phénoliques

Les acides phénoliques sont présents dans les aliments végétaux principalement sous forme liée. Les dérivés des acides cinnamiques sont généralement estérifiés avec des acides quiniques, tartriques ou des dérivés glucidiques. Les esters d'acides hydroxycinnamiques et d'acides quiniques sont appelés acides chlorogéniques, mais les dérivés d'acides benzoïques sont présents naturellement sous forme de glucosides (Zuiter, 2014). Les acides hydroxycinnamiques sont principalement représentés par les acides caféique (16), cinnamique (17), férulique (18) et *p*-coumarique (19), tandis que les acides *p*-hydroxybenzoïque (20), gallique (22) et ellagique (21) sont les formes les plus courantes des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Figure 1.3). De plus, les acides hydroxycinnamiques sont naturellement plus courants que l'acide hydroxybenzoïque. Quelques exemples de sous-classes d'acides phénoliques sont reportés dans la figure 1.3.

1.1.6.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des plantes, qui confèrent à ces organismes une large palette de couleurs qu'ils empruntent (Harborne, 1986 ; Ghedira, 2005). Le squelette de base des flavonoïdes est constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C₃ qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C), soit le système C₆-C₃-C₆ (Macheix *et al.*, 2006) (Figure 1.4).

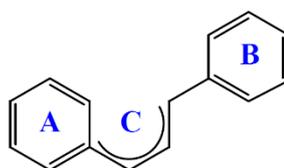


Figure 1.4 : Squelette de base des flavonoïdes

Ces composés existent sous forme libre dites aglycones ou sous forme liée à l'ester ou hétérosides, c'est à-dire liée à des oses et autres substances (Heller and Forkmann, 2017). Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base (Harborne, 1986). En s'appuyant sur la structure du noyau central, qui peut être ouvert ou fermé, les flavonoïdes peuvent être regroupés en neuf groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, auronnes, flavane-3-ols flavane-3,4-diols et anthocyanes. Dans la plante, ils sont très souvent liés avec des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, sous forme de *O*-glycosides, soit à l'état libre on parle alors d'aglycones (Ghedira,

2005). Les différentes classes de ces composés phénoliques, sont représentées dans la Figure 1.5.

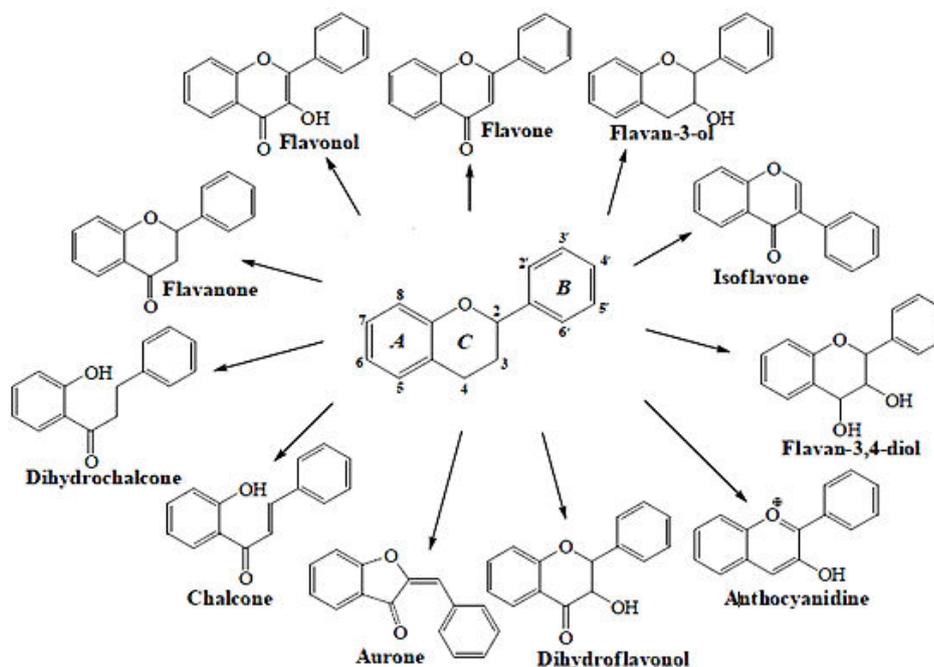
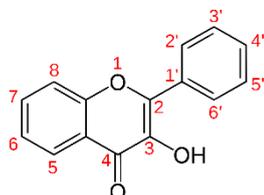


Figure 1.5 : Les différents dérivés des flavonoïdes

➤ **Flavonols**

Les flavonols représentent la classe majeure de la famille des flavonoïdes les plus répandus dans les végétaux. Leur structure est étroitement liée à celle des flavones, ils ne diffèrent que par la présence d'un groupe hydroxyle en position C-3 sur le cycle C (Figure 1.6 et Tableau 1.2).



Flavonoïde	Substitution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Kaempférol	OH		OH		OH	
Myricétine	OH		OH	OH	OH	OH
Quercétine	OH		OH	OH	OH	

Figure 1.6 : Structures chimiques des flavonols

Les flavonols peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les aglycones des flavonols les plus courants sont la quercétine et le kaempférol. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L-rhamnose (Zuiter, 2014). Ce sont des molécules qui ont une activité biologique intéressante comme des effets antioxydants, antimicrobiens, hépatoprotecteurs, anti-inflammatoires et vasodilatateurs, et ils ont été considérés comme des agents anticancéreux potentiels (Crozier *et al.*, 2006). Quelques exemples de flavonols sont reportés dans la figure 1.6.

➤ Flavones

Les flavones sont des composés incolores ou jaunes synthétisés à partir de la naringénine (flavanone) par addition d'une double liaison au cycle C entre C-2 et C-3. De plus, les flavones sont structurellement très similaires aux flavonols et ne diffèrent que par l'absence d'hydroxylation en position C-3 sur le cycle C (Figure 1.7 et Tableau 1.2). Les flavones, dans la plupart des plantes supérieures, sont générées à partir d'intermédiaires flavanones non conjugués par l'action des flavones synthases. Les sources naturelles de flavones sont : le persil, le thym, la camomille, les aubergines cuites et les haricots verts frais. Les flavones existent principalement dans les plantes sous forme de flavone C-glycosides, tandis que les autres flavonoïdes existent sous forme de dérivés O-glycosylés. Cela rend les flavones stables à l'hydrolyse et biologiquement actives. Quelques exemples de flavones sont reportés dans la figure 1.7.

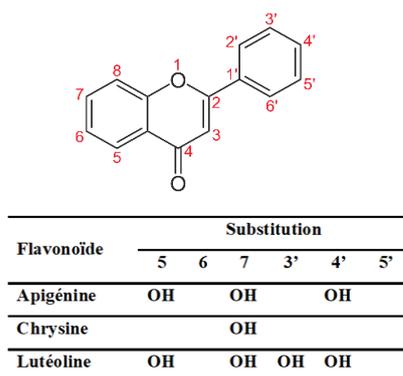


Figure 1.7 : Structures chimiques des flavones

Les flavones existent sous forme d'aglycones ou de glycosides, ces derniers consistent principalement en glycosides de lutéoline et d'apigénine. Les flavones existent naturellement sous forme méthoxylée, et sont de ce fait, les flavonoïdes les plus hydrophobes (Zuiter, 2014).

➤ Flavanones

Les flavanones sont l'une des principales classes de flavonoïdes, avec 350 aglycones et 100 formes glycosylées identifiées (**Khan et al. 2014**). Ces molécules sont caractérisées par l'absence de la double liaison C-2 = C-3, par la présence d'un centre chiral en position C-2 et l'absence de substitution en position C-3 du cycle C (**Barreca et al., 2017**). Elles sont synthétisées à partir des chalcones, sous l'action d'une enzyme : le chalcone isomérase. Elle catalyse la cyclisation stéréospécifique des chalcones en (2S)-flavanones, qui se sont révélées être les substrats exclusifs des réactions aux autres classes de flavonoïdes (**Forkmann, 1999**). Seulement les stéréo-isomères 2S sont biologiquement actifs. Les flavanones englobent un éventail de composés qui sont généralement glycosylés par un disaccharide en position C-7 pour donner des hétérosides de flavanones. Les structures de quelques flavanones simples sont illustrées dans la figure 1.8.

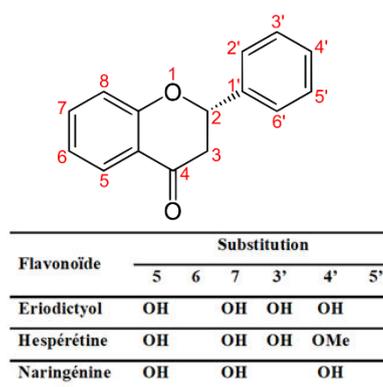


Figure 1.8 : Structures chimiques de quelques flavanones

➤ Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols, souvent appelés catéchines représentent la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés se présentent sous des formes monomères, (+)-catéchine (**23**) et son isomère (-)-épicatéchine (**24**), ainsi que sous des formes oligomères et polymères (**Zuiter, 2014**). Les flavan-3-ols ont un squelette typique C₆-C₃-C₆, mais ils diffèrent de la plupart des flavonoïdes par l'absence de la double liaison entre C-2 et C-3, et aussi le carbonyle C-4 dans le cycle C des flavanols (Figure 1.9), ce qui permet, en plus l'hydroxylation en C-3 (**Kong et al., 2003**). Ces molécules possèdent deux centres chiraux, les carbones C-2 et C-3, donnant lieu à quatre diastéréoisomères possibles. Par ailleurs, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines.

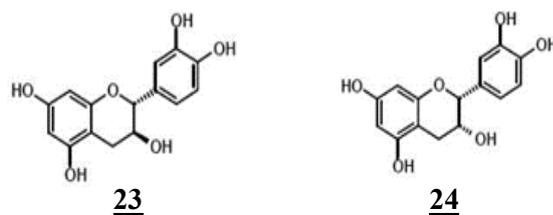


Figure 1.9 : Monomères de Flavan-3-ol : à gauche : la (+)-catéchine ;
à droite : le (-)-épichatéchine

Les catéchines sont les principaux composants présents dans le thé vert, le cacao et l'abricot. Les flavan-3-ols n'existent que sous la forme aglycones, alors que les formes les plus courantes des flavonoïdes sont les dérivés glycosidiques (Zuiter, 2014).

➤ Isoflavones

Les isoflavones sont différentes des autres flavonoïdes par la position du cycle B attaché en position C-3 (en C-2 pour les autres flavonoïdes). Il existe de nombreuses sous-classes d'isoflavonoïdes, classés notamment en fonction du degré d'oxydation et l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires (Zuiter, 2014). Les isoflavones appartiennent à une classe de composés diphenol appelés phytoestrogènes. Les phytoestrogènes sont naturellement présents dans de nombreuses plantes et présentent des similitudes structurelles et fonctionnelles avec l'œstrogène humain, le 17 β -estradiol. La figure 1.10 reporte les structures chimiques de quelques isoflavones.

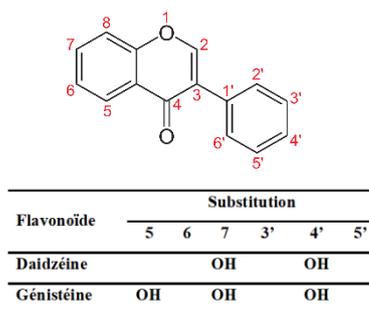


Figure 1.10 : Structures chimiques d'isoflavones

Les isoflavones, en particulier les aglycones sont présentes dans les racines, les rhizomes, le bois, l'écorce et les graines, quelques fois dans les feuilles et les fleurs, elles sont biologiquement très actives. Elles subissent diverses modifications conduisant à la formation d'isoflavones simples telles que les isoflavanones, les isoflavanes et les isoflavanols, ainsi que

de structures plus complexes telles que les roténoïdes, les ptérocarpanes et les coumestanes. Les isoflavones, dont il existe environ 230 types individuels, se trouvent le plus souvent dans les légumineuses, les quantités les plus élevées étant trouvées dans le soja (**Munro, 2003**).

➤ *Chalcones*

Les chalcones (ou 1,3-diaryl-2-propen-1-ones) appartiennent à la famille des flavonoïdes et diffèrent des autres types de flavonoïdes par l'ouverture du cycle C. Chimiquement, ce sont des flavonoïdes à chaîne ouverte dans lesquels les deux cycles aromatiques sont reliés par un système carbonyle α , β -insaturé à trois atomes de carbone. Le squelette chalcone et le système de numérotation sont illustrés dans la figure 1.11.

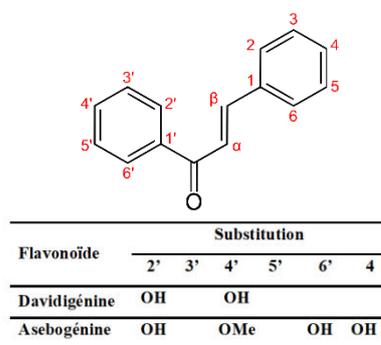


Figure 1.11 : Structures chimiques de chalcones

Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont les plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Plusieurs chalcones pures isolées de différentes plantes ont été approuvées pour des essais cliniques pour le traitement du cancer, des troubles viraux et cardiovasculaires ou ont été incluses comme ingrédients dans des préparations cosmétiques (**Rozmer and Perjési, 2016**).

➤ *Anthocyanes*

Les anthocyanes, ou anthocyanidines, est un mot grec composé de deux parties ; anthos signifiant fleur, et kyanos signifiant bleu, constituent une sous-famille de flavonoïdes particulièrement importante car ce sont les principaux pigments végétaux, les chlorophylles et les caroténoïdes.

Dans une anthocyanane, la partie responsable de la couleur (chromophore) s'appelle l'anthocyanidine et présente une structure de cation 3,5,7,4'-tétrahydroxyflavylium (**Dangles and Deluzarche, 1994**) représentée dans la figure 1.12.

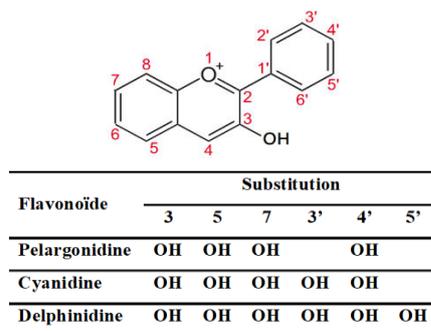


Figure 1.12 : Structures chimiques de quelques anthocyanes

Cette sous-classe de flavonoïdes est probablement le groupe le plus important de pigments végétaux visible à l'œil humain. Les anthocyanidines existent dans les plantes principalement sous des formes glycosidiques, et les principaux composés d'anthocyanidines largement distribués dans les plantes sont la cyanidine, la delphinidine et la pélagonidine.

Le tableau 1.2, reporte quelques données à titre de comparaison avec les autres classes de flavonoïdes.

Tableau 1.2 : Différentes classes des flavonoïdes

Flavonoïdes	3	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'	Référence
Flavonols											
Quercétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	Morel <i>et al.</i> ; 1993 Agrawal, 1989
Kaempférol	OH	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
Flavones											
Apigénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	Aliouche <i>et al.</i> ; 2007 Sahu <i>et al.</i> ; 1998
Diosmétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OMe	H	H	
Flavanones											
Liquiritigénine	H ₂	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H	Deodhar <i>et al.</i> ; 2007 Bystrom <i>et al.</i> ; 2008
Naringénine	H ₂	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
Isoflavones											
Genistéine	-	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	Zhuang <i>et al.</i> ; 2010 Kouki <i>et al.</i> ; 2003
Daidzéine	-	H	H	OH	H	H	H	OH	H	H	
Anthocyanidines											
Cyanidine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	Wang <i>et al.</i> ; 1999 Heim <i>et al.</i> ; 2002
Apigénidine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	

Un total de plus de 500 anthocyanes sont connues en fonction de l'hydroxylation, des schémas de méthylation sur le cycle B et de la glycosylation avec différentes unités de sucre (Kong *et al.*, 2003). Les anthocyanes sont solubles dans l'eau, et la couleur dépend du pH, elle sera rouge dans des conditions acides où elles sont chargées positivement et bleue dans des conditions basiques. Cependant, leur structure chimique est stable dans les solutions acides. Les anthocyanes existent sous différentes formes chimiques : forme aglycone ; pélagonidine, cyanidine, delphinidine, péonidine, malvidine et la pétunidine et la forme glycosylée ; et les dérivés polyhydroxy et polyméthoxy du 2-phénylbenzopyrylium ou des sels flavylium (Zuiter, 2014).

1.1.6.1.3 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques de structure variée, de poids moléculaire élevé, et de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette propriété provient de la création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène (Madhan *et al.*, 2002). Ce sont des oligomères avec de multiples unités de structure avec des groupes phénoliques libres pouvant se complexer avec des protéines, de l'amidon, de la cellulose et des minéraux. Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Hassanpour *et al.*, 2011). Les tanins sont divisés en deux groupes : tanins hydrolysables qui donnent après hydrolyse soit de l'acide gallique, soit de l'acide ellagique et tanins condensés ou catéchiques, constitués de la condensation des dérivés flavane (Cowan, 1999).

1.1.6.1.4 Les stilbènes

Les stilbènes (ou 1,2-diphényléthylène) sont des composés organiques classés comme diaryléthène porteurs de groupements hydroxyyles (Harborne, 1986), ils disposent de deux fragments phényle reliés par un pont éthylène à double liaison centrale (Figure 1.13). Le nom du stilbène est dérivé du mot grec stilbos, qui signifie brillant. Les stilbènes existent sous forme de deux stéréoisomères E et Z (selon l'endroit où les groupes fonctionnels sont attachés les uns aux autres de chaque côté de la double liaison ; Le (E)-stilbène (*trans*-stilbène) n'est pas stériquement encombré, par contre le (Z)-stilbène (*cis*-stilbène) est stériquement encombré et donc moins stable. Ces molécules sont incolores et relativement non réactives et pratiquement insolubles dans l'eau et peuvent se présenter sous forme hétérosidique ou polymérique. La plupart des stilbènes sont présents chez les plantes supérieures, comme le resvératrol, le piceatannol, la pinosylvine, la ptérostilbène, l'astringine, la rhapontigenine, Ils agissent comme des phytoalexines en réponse à des attaques de pathogènes (Zuiter, 2014).

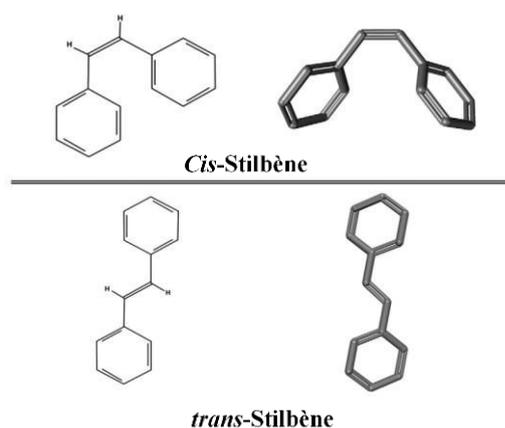


Figure 1.13 : Les isomères d'un stilbène

1.1.6.1.5 Propriétés physicochimiques et biologiques des composés phénoliques

Les flavonoïdes présentent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet proche du visible. L'analyse spectrale est basée sur l'enregistrement d'un spectre de flavonoïde dans le méthanol qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales (**Jurd, 1962**) :

- La bande I, située entre 290 et 385 nm, représentative de l'absorption du groupe cinnamoyle.
- La bande II, située entre 240 et 285 nm, représentative de l'absorption du cycle A (chromophore benzoyle).

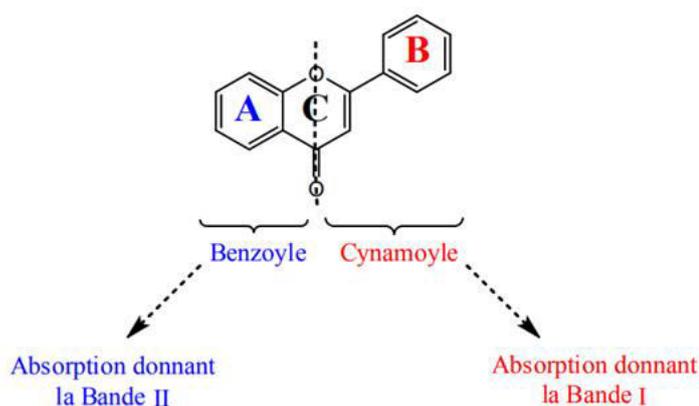


Figure 1.14 : Les bandes d'absorption des flavonoïdes

Cette technique permet la localisation des groupements hydroxyles libres et de les positionner sur le squelette flavonique, par la formation de complexes avec les différents réactifs, qui se traduit par des déplacements des bandes d'absorptions par rapport au spectre de référence (**Harborne, 1986**).

Ces bandes d'absorption peuvent se déplacer par l'influence de différents facteurs comme le solvant, le pH, la position des substituants (OH, O-CH₃, RCO), et les interactions intra et intermoléculaires. En effet, une substitution telle que l'acylation ou la méthylation affecte la position d'absorption des bandes en entraînant un effet hypsochrome. A l'inverse, une augmentation du degré d'hydroxylation entraîne un effet bathochrome (**Jurd, 1962**).

➤ **Activités antioxydantes des polyphénols**

Les propriétés antioxydantes des polyphénols ont longtemps été considérées comme étant le principal phénomène expliquant leurs effets protecteurs (**Macheix et al. 2006**). En particulier, les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leur activité antioxydante, susceptibles de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (OH en C-3) (**Ghedira, 2005**). Ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant grâce à leur structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante et donc une bonne stabilisation de leurs formes radicalaires (**Nagai et al., 2005**).



➤ **Chélation d'ions métalliques**

La plupart des activités biologiques des polyphénols est due à leur pouvoir chélateur et antioxydant (**Milane, 2004**). Certains éléments comme le fer, le cuivre et le zinc sont naturellement présents en petite quantité dans l'organisme, jouant un rôle indispensable dans le transport extra et intracellulaire, dans le système nerveux ou encore dans le fonctionnement du système immunitaire. Par ailleurs, des études antérieures montrent que les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques qui sont alors capables d'inhiber la réaction de Fenton par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Van Acker, 1996**). Certains flavonoïdes sont capables de piéger certains métaux de transition grâce aux doublets non-liants de leurs atomes d'oxygène, plus précisément au niveau de trois sites de chélation (Figure 1.15). Les sites susceptibles de piéger les ions métalliques doivent comporter deux atomes d'oxygènes adjacents (**Milane, 2004**) :

- ✓ Entre le groupe OH en C-5 et le groupe carbonyle en C-4 ;
- ✓ Entre le groupe OH en C-3 et le groupe carbonyle en C-4 ;
- ✓ Entre le groupe OH en C-3' et OH en C-4' du cycle B.

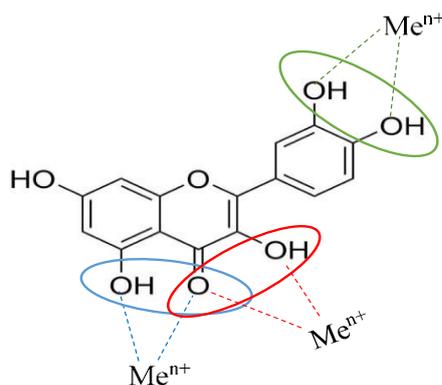


Figure 1.15 : Sites proposés pour la chélation des flavonoïdes par les ions métalliques (Milane, 2004)

Les flavonoïdes n'ont pas tous la même capacité à piéger ces ions métalliques. Par la suite, des études sur l'activité antiradicalaire des flavonoïdes et des acides phénoliques, confirment que la présence d'une structure catéchol sur le cycle B (présence des groupements OH en C-3' et C-4') est un déterminant majeur de l'activité antioxydante qui constitue une cible privilégiée des radicaux libres. Dans une moindre mesure, la double liaison entre C-2 et C-3 du cycle C conjuguée à la fonction carbonyle en position C-4 permet la délocalisation électronique à partir du cycle B (Van Acker, 1996). Des études théoriques par modélisation prouvent que l'activité antioxydante a été attribuée à la fonction hydroxyle en position C-3 des flavonols qui sont donc complètement conjugués, ce qui augmente leur capacité de piégeage des radicaux. Alors que les flavonoïdes sont le plus souvent *O*-glycosylés en position 3. Cela a pour conséquence de bloquer la fonction hydroxyle en 3 et de réduire l'activité antioxydante (Milane, 2004). Les polyphénols ont démontré de nombreuses activités biologiques grâce à leur diversité structurale très importante, citons par exemple les activités anti inflammatoire, antivirale, antidiabétique et anticancéreuse (Karak, 2019).

➤ **Activité anticancéreuse des composés phénoliques**

Les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes potentiellement pertinentes pour le traitement de différentes maladies (Baldim *et al.*, 2017). En tant que molécules antioxydantes, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (Ghedira, 2005). Les acides phénoliques ont des effets antioxydants, chélateur, probiotiques et anti-inflammatoires. Certains d'entre eux suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer (Svobodová *et al.*, 2003).

Ainsi, l'acide gallique empêche la formation du cancer œsophagien chez les rats tandis que l'acide férulique et l'acide caféique limitent la formation du cancer des poumons chez les souris (**Hale, 2008**).

Des études précliniques ont montré que les composés de flavones possèdent une variété d'activités pharmacologiques, y compris les activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses en tant qu'agents chimiopréventifs et chimiothérapeutiques en raison de leur capacité à inhiber l'angiogenèse, induire l'apoptose, prévenir la carcinogenèse dans des modèles animaux, réduire la tumeur croissance *in vivo* et sensibiliser les cellules tumorales aux effets cytotoxiques de certains médicaments anticancéreux (**Kikuchi et al., 2019**).

➤ **Activité antidiabétique des composés phénoliques**

Les flavonoïdes préviennent aussi sur la cataracte diabétique, en agissant par inhibition sur le mécanisme de l'absorption du glucose au niveau intestinal. En effet, l'apigénine, un flavonoïde naturel a eu des effets significatifs sur l'abaissement de la glycémie, la régulation des lipides sanguins et aussi sur la prévention de l'obésité et du diabète (**Panda and Kar, 2007**). L'apigénine pourrait également améliorer la sensibilité à l'insuline périphérique et améliorer la résistance à l'insuline et le métabolisme anormal des lipides (**Scalbert et al, 2005**). La quercétine possède diverses propriétés biologiques, notamment antidiabétiques et peut traverser la barrière hémato-encéphalique (**Ishisaka et al., 2011**).

Une étude a rapporté que la myricétine présente également une activité hypoglycémiant et néphroprotectrice chez les rats et améliore le métabolisme des glucides, ce qui a par la suite amélioré l'utilisation du glucose et la fonction rénale chez les rats induits par STZ-Cd (**Kandasamy and Ashokkumar, 2014**). La puérrarine, un glycoside d'isoflavone pouvait exercer un effet hypoglycémiant en régulant à la hausse l'expression du substrat-1 du récepteur de l'insuline (IRS-1), du facteur de croissance analogue à l'insuline-1 (IGF-1) et du PPAR α (**Bai et al., 2019**).

➤ **Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes**

De nombreuses études ont pu montrer que plusieurs flavonoïdes sont capables d'agir comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Par exemple, la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées (**Ghedira, 2005**).

Certains travaux menés chez l'homme sain suggèrent que le suivi d'un régime riche en anthocyanes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma. Ainsi, l'administration de l'hespéridine par voie sous-cutanée, présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran (Galati *et al.*, 1994).

1.1.6.2 Les coumarines

Les coumarines constituent une grande classe de la famille des benzopyrones qui sont tous constitués d'un cycle benzénique relié à un cycle pyrone. Ce sont des lactones obtenues par cyclisation de l'acide cis-ortho-hydroxycinnamique, à squelette de base C₆-C₃. Les benzopyrones peuvent être subdivisées en benzo- α -pyrones auxquelles appartiennent les coumarines et en benzo- γ -pyrones, dont les flavonoïdes sont les principaux membres (Jain and Joshi, 2012). Plus de 1 300 coumarines ont été identifiées comme métabolites secondaires de plantes, de bactéries et de champignons (Huang *et al.*, 2009). Les coumarines se divisent en trois classes : les coumarines simples, les furanocoumarines et les pyranocoumarines. Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7. Les furanocoumarines sont constituées d'un cycle furane attaché au noyau de la coumarine. Les membres pyranocoumarines sont analogues aux furanocoumarines, mais contiennent un cycle à six chaînons (Jain and Joshi, 2012) (Figure 1.16).

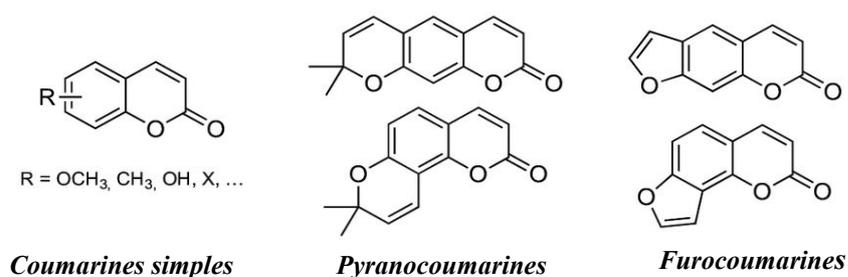


Figure 1.16 : Structures chimiques des principales classes de coumarines naturelles

Dans la nature, la plupart des coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine via l'acide *p*-coumarique, présentes dans les plantes sous forme libre et sous forme de glycosides (Huang *et al.*, 2009). Elles sont hydroxylées en C-7 et douées d'activités biologiques variées. Parmi elles, on peut citer, l'activité anticoagulante, l'activité anticancéreuse, l'activité antibiotique, l'activité analgésique et anti-inflammatoire (Egan *et al.*, 1990).

1.1.6.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques basiques hétérocycliques azotés, dérivés d'acides aminés synthétisés par des organismes vivants, pharmacologiquement actifs à faible dose (**Bruneton, 2009**). Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec plus de 18000 structures isolées (**Casciari *et al.*, 2020**). Les alcaloïdes constituent une grande variété de formules structurales, issues de différentes voies de biosynthèse et présentant diverses activités pharmacologiques caractéristiques du groupe (**Fournet *et al.*, 1993**). Bien qu'il n'existe pas de classification taxonomique standard, les alcaloïdes peuvent généralement être classés en fonction de leur structure chimique, de leur voie biochimique ou de leur origine naturelle (**Casciari *et al.*, 2020**). Du point de vue synthétique, les alcaloïdes peuvent être divisés en trois grandes catégories :

✓ Les vrais alcaloïdes

Ce sont des dérivés basiques d'acides aminés toxiques, et comportent un atome d'azote dans un cycle hétérocyclique. Les structures cycliques alcaloïdes courantes comprennent les pyridines, les pyrroles, les indoles, les pyrrolidines, les isoquinoléines et les pipéridines. Ils disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils peuvent se présenter sous forme de monomères (forme libre) ou ils peuvent former des oligomères (homo ou hétéro-oligomères), soit sous forme de sel (**Filipiak-Szok *et al.*, 2018**).

✓ Les pseudo-alcaloïdes

Ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés, comme par exemple la caféine et la solanidine (**Yinyang *et al.*, 2014**).

✓ Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés à caractère basique soluble dans l'eau, dont l'azote n'est pas inclus mais dans un hétérocycle, comme les alcaloïdes dérivés de la phényléthylamine tels que la mescaline (**Yinyang *et al.*, 2014**).

Les alcaloïdes ont été largement étudiés pour leur activité biologique (par exemple, activité anticancéreuse, antibactérienne, antivirale et dépressive du système nerveux central). Il a été démontré aussi que certains alcaloïdes étaient des agents toxiques contre certains champignons et bactéries. Cependant, leur activité biologique est exceptionnellement apportée par la capacité à former des liaisons hydrogène avec des enzymes, des récepteurs et des protéines grâce à la présence d'un atome d'azote accepteur de protons et d'un ou plusieurs protons donateurs d'atomes d'hydrogène d'amine (**Casciari *et al.*, 2020**).

La figure 1.17, montre une représentation schématique de vrais et proto-alcaloïdes.

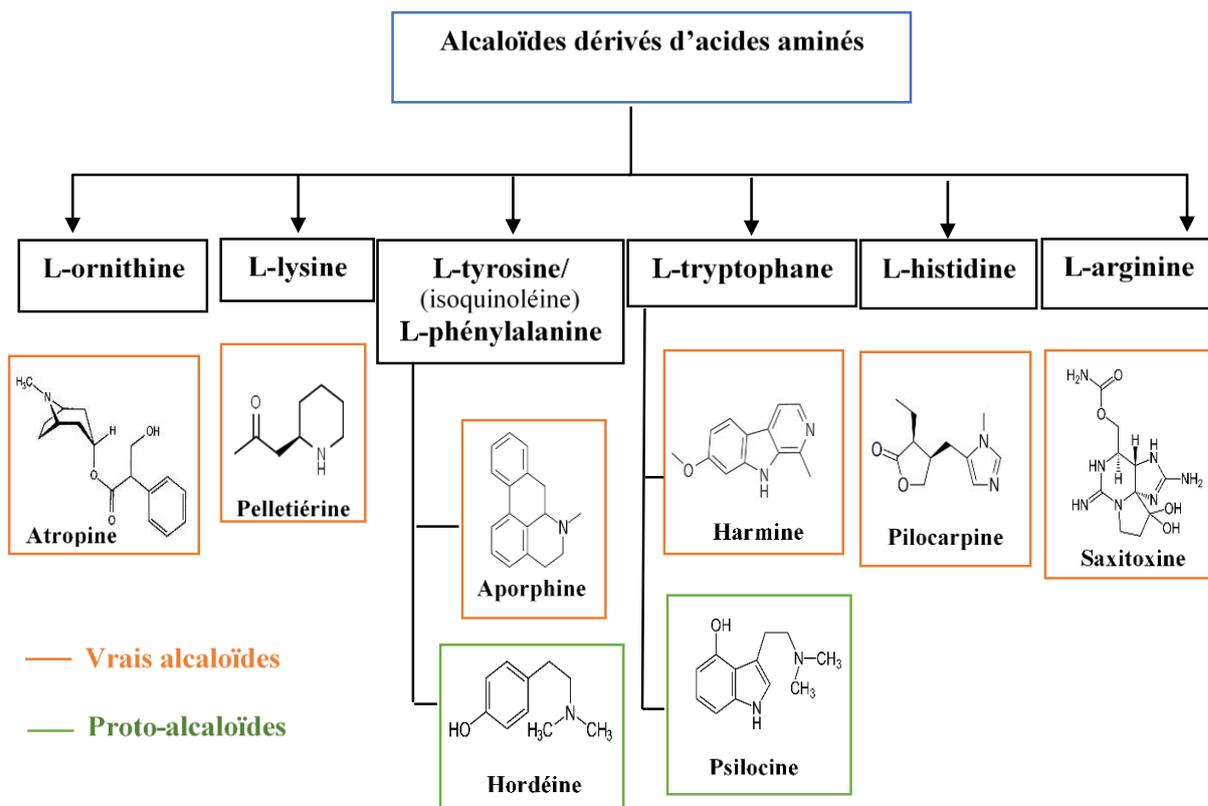


Figure 1.17 : Représentation schématique de vrais et proto-alcaloïdes (Casciaro *et al.*, 2020)

Dans les dernières années, des études ont démontré que les alcaloïdes présentent une activité antimicrobienne contre les souches conventionnellement résistantes aux antibiotiques. De plus, ces substances se sont révélées être des facteurs de résistance importants contre les ravageurs herbivores (Adamski *et al.*, 2020).

1.1.6.4 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes représentent la plus vaste et la plus grande classe de métabolites secondaires, avec des structures diversifiées et nombreuses, conduisant à une grande variété de groupes fonctionnels et comprenant des milliers d'unités d'isoprène (Lorigoïni *et al.*, 2020). Tous les terpénoïdes sont synthétisés par la condensation d'unités d'isoprène (C_5) (Figure 1.18) et sont classés selon le nombre d'unités à cinq carbones présentes dans la structure centrale. Par ailleurs, de nombreuses molécules aromatiques, telles que le menthol, le linalol, le géranol et le caryophyllène sont formées de monoterpènes (C_{10}), à deux unités isoprène, de sesquiterpènes (C_{15}), à trois unités isoprène, de diterpènes (C_{20}) constitués de quatre unités d'isoprène, de

triterpènes (C_{30}) et de tétraterpènes (C_{40}) (Costa *et al*, 2012). Les terpènes de faible poids moléculaire seront abordés dans ce chapitre.

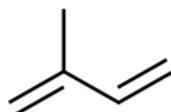


Figure 1.18 : Unité isoprénique (à cinq atomes de carbone)

1.1.6.4.1 Les monoterpènes

Les monoterpènes sont des composés terpénoïdes produits à partir d'unités d'isoprène (2-méthyl-butadiène). Ils comportent dix atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques synthétisés par des monoterpènes synthèses (Figure 1.19).

Les monoterpènes sont des composés présents dans les huiles essentielles extraites de nombreuses plantes, notamment les fruits, les légumes, les épices et les herbes. Ces composés contribuent à la saveur et à l'arôme de la plante d'où ils sont extraits. Des études expérimentales, utilisant des modèles animaux de cancer, ont démontré que certains monoterpènes possèdent des propriétés anti-cancérigènes, agissant à différents niveaux cellulaires et moléculaires (Loza-Tavera, 1999).

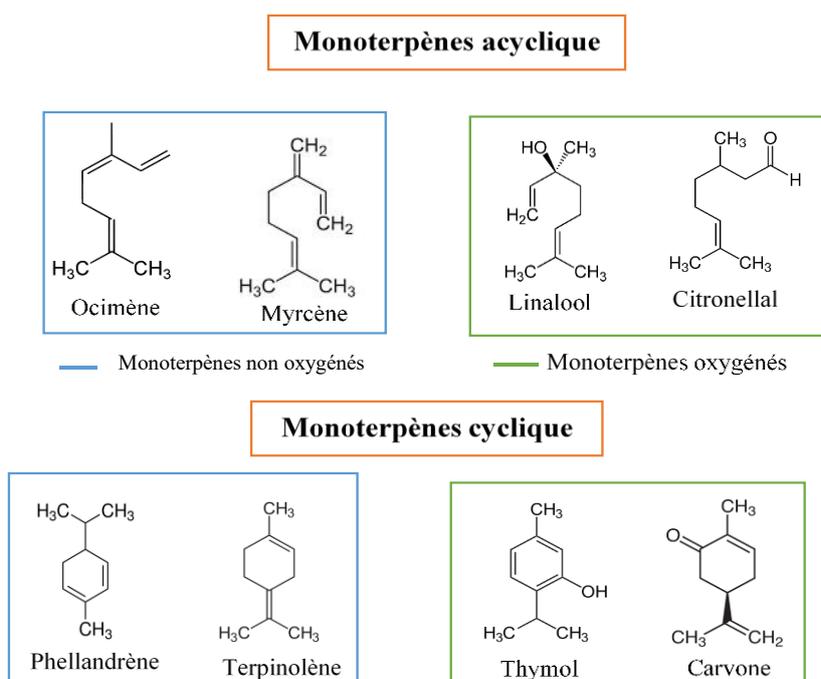


Figure 1.19 : Structures chimiques de quelques monoterpènes

1.1.6.4.2 Les diterpènes

Les composés diterpéniques forment une grande classe de métabolites secondaires isolés des plantes et possèdent un large spectre d'activités biologiques importantes (**De Sousa et al., 2018**). Les diterpènes sont des composés à vingt atomes de carbone ($C_{20}H_{32}$), constitués par quatre unités d'isoprène (C_5H_8) dans leur squelette de base. Les unités isopréniques biochimiquement actives, l'isopentényl diphosphate et le diméthylallyl diphosphate, peuvent être dérivées des voies du mévalonate et du déoxyxylulose phosphate. L'un des diterpènes les plus simples et les plus importants est le phytol (Figure 1.20), une forme réduite du géranyl-géraniol, qui forme la chaîne latérale lipophile des chlorophylles (**De Oliveira et al., 2008**).

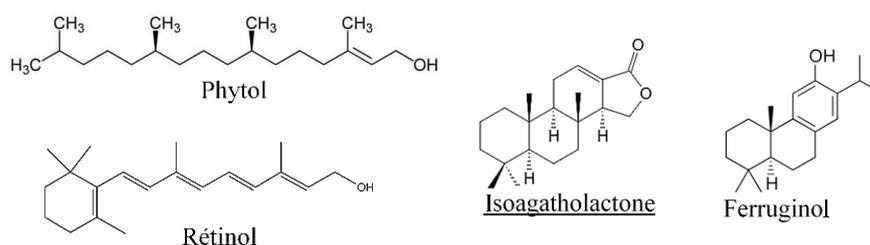


Figure 1.20 : Structures chimiques de quelques diterpènes

Les diterpènes ont été identifiés comme des composés actifs dans plusieurs plantes médicinales présentant des activités biologiques remarquables (**De Sousa et al., 2018**). De nombreuses études ont souligné les diterpénoïdes comme une source prometteuse de nouveaux prototypes pour la découverte et le développement de nouveaux agents thérapeutiques cardiovasculaires (**De Oliveira et al., 2008**).

1.1.6.4.3 Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des terpénoïdes de formule moléculaire $C_{15}H_{24}$ qui se composent de trois unités d'isoprène, et se présentent dans la nature sous forme d'hydrocarbures ou sous des formes oxygénées telles que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides ou les lactones. Comme les monoterpènes, les sesquiterpènes peuvent être cycliques ou contenir des cycles, y compris de nombreuses combinaisons uniques (**Breitmaier, 2006**). Ce sont les constituants principaux des huiles essentielles, qui ont de nombreuses applications en médecine, mais aussi dans les formulations de savons et de parfums. De plus, on les trouve comme composés aromatiques dans les mélanges d'arômes.

Les huiles essentielles ainsi que les mélanges d'arômes ont des compositions très complexes du point de vue chimique. Le plus souvent, les constituants uniques n'apparaissent qu'à l'état de traces. Par conséquent, des techniques chromatographiques efficaces sont nécessaires pour une séparation et une identification ou un isolement optimal des composants individuels (Merfort, 2002). La figure 1.21 reporte les structures chimiques de quelques sesquiterpènes.

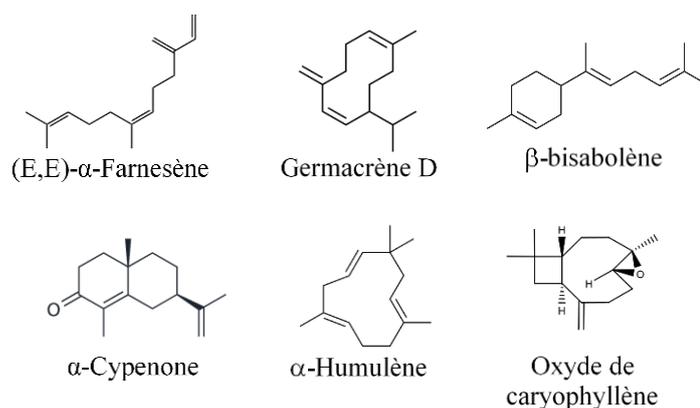


Figure 1.21 : Structures chimiques de quelques sesquiterpènes

1.2 Généralités sur les huiles essentielles

1.2.1 Définition

L'huile essentielle est un mélange liquide hydrophobe, complexe de molécules naturelles volatiles et odorantes, synthétisées par les plantes aromatiques, obtenues soit par hydro-distillation, soit par entraînement à la vapeur d'eau (Budavari *et al.*, 1996). Les huiles essentielles sont largement distribuées dans le règne végétal et uniquement chez les végétaux supérieurs. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Kalemba and Kunicka, 2003). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Stratakos and Koidis, 2016) ou l'extraction au moyen de CO₂ liquide à basse température et sous haute pression (Mira *et al.*, 1996).

1.2.2 Activités biologiques des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle est en relation avec son activité biologique. La diversité des substances chimiques composant l'HE lui confère plusieurs propriétés biologiques. Certaines d'entre elles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancer (Lis-Balchin *et al.*, 1998).

Par ailleurs, plusieurs composants aromatiques ont des propriétés antalgiques, antimicrobiennes, antivirales et insecticides. Par exemple, le menthol de la menthe poivrée calme les douleurs provoquées par un traumatisme et agit sur les maux de tête, alors que le citronellol de la citronnelle a le pouvoir d'agir sur l'inflammation causée par une brûlure ou encore une piqûre d'insecte (**Kim et al., 2003**). Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle et de cannelle ont été décrites (**Burt, 2004**). Des études ont montré que les huiles essentielles de *Chromoleana odorata* et de *Mikania cordata*, donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipoxigénase de soja, modèle de la lipoxigénase humaine impliquée dans les processus de l'inflammation (**Bedi et al., 2004**).

1.2.3 Procédés d'obtention des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, la quantité des huiles essentielles contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre de l'huile. Plusieurs procédés d'obtention des huiles ont été reconnus, mais le choix de la méthode utilisée est en relation avec la nature de l'huile ainsi que son éventuelle utilisation. L'entraînement à la vapeur et l'hydro-distillation de la plante fraîche ou sèche restent les techniques les plus utilisées (**Visht and Chaturvedi, 2012**).

1.2.3.1 Extraction par hydro-distillation

L'hydro-distillation est la technique la plus simple et la plus répandue ; son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau (**Afnor, 1992**). L'ensemble est ensuite porté à ébullition à pression atmosphérique (**Meyer-Warnod, 1984**). Les cellules végétales éclatent et libèrent alors les espèces chimiques odorantes qui sont entraînées par la vapeur d'eau. Les molécules légères présentes dans l'huile avec la vapeur d'eau, forment un mélange azéotropique (**Kumar and Tripathi, 2011**). Le mélange est récupéré dans un récipient après son condensation dans le réfrigérant. L'hydro-distillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi qu'une phase organique constituée par l'huile essentielle. Cependant lorsque les densités de ces deux phases sont proches on peut observer une émulsion (**Gavahian and Farahnaky, 2018**).

1.2.3.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (**Cassel et al., 2009**). A la différence de l'hydro-distillation, cette technique utilise l'entraînement des substances aromatiques par la vapeur d'eau.

La matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau, mais elle est traversée par un courant de vapeur d'eau qui va tirer les substances volatiles hydrophobes (**Benjilali, 2004**). La vapeur détruit la structure des cellules végétales, entraînant les constituants volatils vers un système de refroidissement. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau s'effectue en plaçant les plantes aromatiques dans un appareil de type Kaiser Lang en se servant d'un dispositif d'extraction de type Kaiser Lang modifié. La vapeur, chargée de l'huile essentielle se condense dans le serpentin du réfrigérant avant d'être récupérée dans un récipient. La durée de distillation est généralement longue (**Clevenger, 1928**).

1.2.3.3 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes consiste à placer la matière végétale dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des espèces odorantes de l'huile essentielle. Une fois libérée, l'huile essentielle est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par la matière végétale. La réfrigération ainsi que la récupération des huiles essentielles se font à l'extérieur du four. L'explication de la différence de composition chimique entre les procédés d'extraction par hydrodistillation et par extraction sans solvant assistée par micro-ondes pourrait être due principalement aux phénomènes de solubilité (**Grigonis et al., 2005 ; Cardoso-Ugarte et al., 2013**).

1.2.3.4 La micro-extraction en phase solide

La micro-extraction en phase solide (SPME) est une technique de préparation d'échantillon fiable ne nécessitant pas de solvant qui permet l'extraction des analytes et l'injection de l'échantillon dans le système chromatographique en une seule étape (**Hossain et al., 2020**). Cette technique repose sur la partition des composés d'intérêts (analytes) entre la matrice et une fibre de silice fondue recouverte d'un polymère. Les analytes organiques volatils ou semi-volatils peuvent être isolés en mode : espace de tête (HS-SPME). Dans ce cas, la fibre est située dans l'espace de tête au-dessus de la matrice d'échantillon ; seuls les analytes volatils sont extraits. Par conséquent, l'espace de tête/la micro-extraction en phase solide (HS/SPME) est de plus en plus souvent appliquée comme méthode de préparation de l'échantillon dans l'analyse des composés organiques volatils, y compris les composants de l'HE. C'est une méthode qui est non seulement respectueuse de l'environnement mais permet également d'éviter la plupart des facteurs responsables de la transformation des composants analysés.

Couplée à la spectrométrie de masse (HS/SPME-GC/MS), la SPME est un outil analytique puissant par sa sélectivité et sensibilité (**Dawidowicz *et al.*, 2016**).

1.2.4 Composition et identification des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes issus de plantes. La composition chimique de nombreuses huiles essentielles varie en fonction de différents facteurs, incluant les organes prélevés, la zone géographique et la période de récolte, le stade de développement des plantes (**Gonny *et al.*, 2004**). Dans la plupart des cas, l'huile essentielle comporte un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle principal dans ses propriétés thérapeutiques. Seulement les terpènes volatils de faible poids moléculaire seront rencontrés dans les huiles essentielles. Les composants principaux des huiles essentielles sont les monoterpènes, les sesquiterpènes, les hydrocarbures, les aldéhydes, les phénols, les esters et autres (**Hossain *et al.*, 2020**).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG/FID et CPG/SM) est un outil analytique très puissant pour l'identification des composants des huiles essentielles. Les isomères donnent généralement des spectres de masse très similaires pour les terpènes et encore plus pour les sesquiterpènes. Par conséquent, un facteur d'appariement favorable entre les spectres de masse n'est pas suffisant pour l'identification. Malgré les progrès des méthodes analytiques pour évaluer la composition des huiles essentielles, la chromatographie reste une technologie puissante pour séparer et caractériser des composés d'intérêt spécifiques (**Costa *et al.*, 2012**). Les indices de rétention ont été utilisés, avec la spectrométrie de masse, pour l'identification correcte de la composition des huiles essentielles.

1.3 Généralités sur l'utilisation des inhibiteurs de corrosion

La corrosion est un phénomène naturel de détérioration des propriétés du métal par attaque chimique ou réaction avec son environnement (**Shehata *et al.*, 2018**). Le phénomène de la corrosion des métaux, notamment la corrosion de l'acier, est un problème majeur des industries qui doivent répondre au cahier de charge sur la durée de vie des structures. Les aciers et leurs alliages font partie des matériaux industriels les plus utilisés. Ces matériaux souffrent d'importants dommages dus à la corrosion lorsqu'ils rencontrent des environnements acides (**Mahross *et al.*, 2016**). En effet, les solutions acides ont été utilisées dans des applications industrielles telles que le détartrage, le décapage et l'élimination de la calamine des surfaces métalliques (**Verma *et al.*, 2015 ; Alibakhshi *et al.*, 2018**).

Pendant ce temps, l'effet de la corrosion peut être considéré comme une situation vitale nécessitant une prévention adéquate car elle peut devenir une menace avec des impacts économiques, de conservation des matériaux et de sécurité dans diverses applications d'ingénierie (**Popoola, 2019**).

Les aciers inoxydables sont des alliages couramment utilisés dans différents secteurs d'activité tels que : les équipements de traitement chimique, les échangeurs de chaleur et les industries alimentaires, laitières, la médecine, la chirurgie et les alliages dentaires (**Tang et al., 2006**). L'existence de certains éléments tels que le chrome et le nickel dans la composition de l'acier conduit à l'amélioration de sa résistance à la corrosion. La protection de l'acier contre la corrosion est assurée par la présence de chrome qui, dans un milieu oxydant, forme à la surface d'une couche d'oxyde de chrome, invisible mais protectrice, qui rend le métal passif en l'isolant du milieu environnant (**Garverick, 1994**). Cette résistance à la corrosion croît donc avec la teneur en chrome, mais est sensible aux effets des éléments d'alliages ajoutés à l'acier.

L'acier inoxydable (AI) 316L (« L » pour « low carbone ») est un alliage à base de fer composé majoritairement de chrome et de nickel avec une teneur en carbone inférieure à 300 ppm avec une structure austénitique cubique à faces centrées (**Pillot, 2016**). L'acier inoxydable ne peut pas être considéré résistant à la corrosion dans toutes les conditions d'utilisation. Il est sensible à différentes formes de corrosion telles que les piqûres dans les environnements chlorés. Néanmoins, la couche d'oxyde de chrome peut être endommagée par les traitements thermiques comme le soudage, l'abrasion mécanique, la corrosion galvanique et les acides forts. Ainsi, la majorité des composants internes des réacteurs sont fabriquée en acier inoxydable austénitique (304L ou 316L).

Ces matériaux sont exposés à un milieu oxydant sous irradiation et subissent des contraintes mécaniques (**Zaffora et al., 2021**). Dans ces conditions, ils sont susceptibles de subir un endommagement par corrosion (**Tang et al., 2006**). Par conséquent, trouver des méthodes pour contrôler la vitesse de corrosion est devenu le sujet de la recherche actuelle (**Banerjee et al., 2012**). Parmi les diverses méthodes, l'emploi d'inhibiteurs est l'une des méthodes les plus efficaces pour la protection des métaux contre la corrosion. Différents composés organiques et non organiques ont été étudiés comme inhibiteurs de corrosion pour protéger les métaux. Bien que la plupart des inhibiteurs de corrosion synthétiques soient très efficaces dans les environnements acides, ils sont coûteux et présentent des risques pour l'environnement (**Alibakhshi et al., 2018**).

1.3.1 Définition d'un inhibiteur

« Un inhibiteur de corrosion est une substance chimique qui, ajoutée à faible concentration au milieu corrosif, ralentit ou stoppe le processus de corrosion d'un métal placé au contact de ce milieu » (**Garverick, 1994**). En effet, ces espèces doivent apporter une protection contre la corrosion similaire aux composés à base de chromates tout en respectant les normes environnementales (**Norman, 1965**). Un inhibiteur de corrosion doit en premier lieu réduire la vitesse de corrosion du métal, efficace à faible concentration, compatible avec les normes de non-toxicité, et peu coûteux pour assurer des bénéfices financiers industriels.

1.3.2 Classification des inhibiteurs

Généralement, les inhibiteurs sont classés en fonction de leur domaine d'application, de la nature chimique des molécules (inhibiteur organique, inhibiteur inorganique), de la réaction électrochimique inhibée (inhibiteur cathodique, inhibiteur anodique ou mixte), ou du mécanisme réactionnel mis en jeu (adsorption et/ou formation d'un film) (**Popova et al., 2007**).

1.3.2.1 Selon la nature des molécules inhibitrices

a)- Inhibiteurs minéraux

Les inhibiteurs minéraux sont utilisés en milieux alcalins et neutres et presque rarement en milieux acides. Ces produits se dissocient en solution et ce sont leurs produits de dissociation (anions ou cations) qui assurent les phénomènes d'inhibition. Les chromates, les molybdates, les silicates, les phosphates sont les plus importants inhibiteurs minéraux. Par exemple, les ions chromates ont été identifiés comme les meilleurs inhibiteurs en solution aqueuse. Ceci est dû à sa forte capacité d'adsorption sur le métal pour former un film protecteur (**Muñoz et al., 2006**).

b)- Inhibiteurs organiques

Les inhibiteurs organiques sont couramment utilisés pour réduire l'attaque corrosive des solutions sur les métaux en contact. Leur utilisation est actuellement préférée à celle d'inhibiteurs inorganiques pour des raisons d'écotoxicité.

L'efficacité inhibitrice de ces inhibiteurs organiques est liée à la présence de groupes fonctionnels polaires avec des hétéroatomes (**Pradeep Kumar and Mohana, 2014**). L'utilisation d'inhibiteurs organiques contenant des atomes d'azote, d'oxygène et/ou de soufre, des composés hétérocycliques et des électrons π , sont les plus pratiqués pour la protection contre la corrosion du fer en milieu acide. Ces composés organiques exercent une influence significative sur le degré d'adsorption à la surface métallique.

La fonction polaire est généralement considérée comme le centre réactionnel pour la mise en place du processus d'adsorption (Satapathy *et al.*, 2009). Il a également été rapporté que les composés organiques contenant les fonctions $-OH$, $-COOH$, NH_2 , etc., sont d'excellents inhibiteurs de corrosion, en particulier dans les milieux acides (Zhao *et al.*, 2022).

1.3.2.2 Selon le mécanisme d'action électrochimique

a)- Les inhibiteurs anodiques

Ils agissent au niveau des sites anodiques par formation d'une couche barrière passive sur la surface métallique, en bloquant les sites anodiques (siège de l'oxydation du métal). Les inhibiteurs anodiques diminuent la densité du courant partiel anodique et déplaçant le potentiel de corrosion dans le sens positif. En effet, si le film protecteur est altéré par une rayure ou par une dissolution, ou si la quantité d'inhibiteur est insuffisante pour restaurer le film, la partie exposée se corrode en piqûres profondes (Bénard *et al.*, 1969) (Figure 1.22).

b)- Les inhibiteurs cathodiques

Ces inhibiteurs agissent au niveau des sites cathodiques en diminuant la densité du courant partiel cathodique et ralentissent la réaction cathodique (siège de la réduction du proton H^+ en milieu acide) (Figure 1.22).

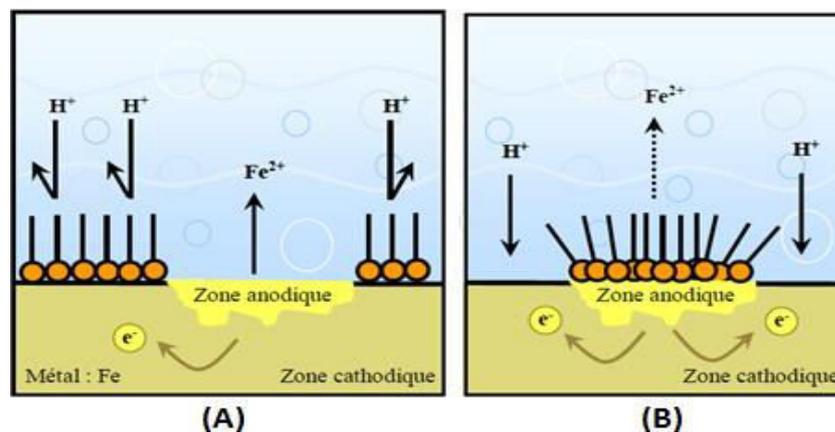


Figure 1.22 : Formation des couches barrières (A) cathodiques et (B) anodiques interférant avec les réactions électrochimiques, dans le cas d'une étude en milieu acide (Schaschl, 1973)

Un inhibiteur cathodique déplace le potentiel de corrosion dans le sens négatif. Ce sont les cations qui peuvent se déplacer vers la surface cathodique pour former des films adhérents et compacts en précipitant sous forme de sels basiques ou d'hydroxydes.

c)- Les inhibiteurs mixtes

Les inhibiteurs mixtes agissent à la fois sur les processus cathodiques et anodique, en diminuant la vitesse de deux réactions partielles. Quelle que soit la réaction électrochimique contrôlant la corrosion, un inhibiteur mixte modifie peu le potentiel de corrosion. La figure 1.23 montre clairement l'influence de ces trois types d'inhibiteurs sur le déplacement de potentiel de corrosion sur les courbes de polarisation.

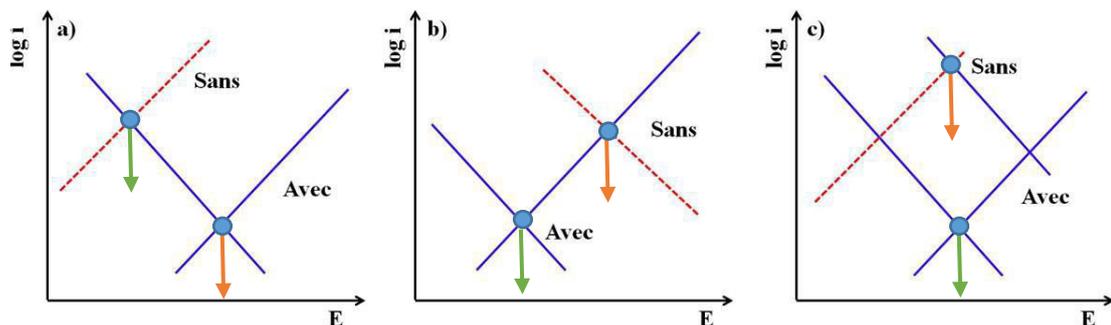


Figure 1.23 : Diagrammes d'Evans montrant le déplacement du potentiel de corrosion dû à la présence d'un inhibiteur de corrosion (a) anodique, (b) cathodique, (c) mixtes

1.3.2.3 Selon le mécanisme d'action interfaciale

On peut distinguer différents types d'inhibiteurs : ceux agissant par adsorption, par passivation ou par précipitation.

a)- Inhibition par passivation

Certains inhibiteurs oxydants provoquent une passivation spontanée du métal en formant des films de passivation entre la surface corrodée et les molécules inhibitrices, et diminuent ainsi la vitesse de corrosion. Dans certains cas, il faut donc maintenir une concentration suffisante d'inhibiteur et maîtriser les conditions hydrodynamiques afin d'obtenir une protection efficace. Les inhibiteurs oxydants les plus puissants comme les chromates et les nitrites sont moins utilisés en raison de leur toxicité. On les remplace fréquemment par des molybdates ou des silicates (**Landolt, 2003**).

b)- Inhibition par précipitation

Certains inhibiteurs agissant par précipitation provoquent la formation de films superficiels constitués de sels minéraux ou de complexes organiques peu solubles.

Ces films réduisent l'accessibilité de l'oxygène à la surface et, en plus, ils bloquent partiellement la dissolution anodique (Zielinski *et al.*, 1995).

c)- Inhibition par adsorption

Généralement les inhibiteurs organiques agissent par adsorption en empêchant l'action du milieu agressif par fixation sur la surface du métal (Hossain *et al.*, 2020). En effet, plusieurs études ont montré que des paramètres structuraux tels que la forme géométrique, la présence d'hétéroatomes (N, O, S, etc.), la longueur de la chaîne carbonée, le type de liaison à travers la molécule, la capacité moléculaire à former une couche continue sur la surface métallique, et la force de liaison formé avec les produits de corrosion et la surface métallique pouvant influencer sur l'efficacité des inhibiteurs organiques.

Les interactions entre l'inhibiteur et la surface métallique peuvent être de type physisorption (formation de liaisons faibles) ou de chimisorption (Satapathy *et al.*, 2009). Ces deux types d'adsorption sont influencés par la nature et la charge du métal, la structure chimique de l'inhibiteur organique et le type d'électrolyte.

1.3.3 Utilisation des substances naturelles comme inhibiteurs de la corrosion

La plupart des inhibiteurs organiques synthétiques sont largement plus toxiques pour l'environnement, ce qui a incité à rechercher des inhibiteurs de corrosion respectueux de l'environnement. De nos jours, l'utilisation des extraits de plantes comme inhibiteur de corrosion dans divers environnements a été un sujet intéressant pour de nombreux chercheurs. Ces substances naturelles sont biodégradables, écologiques et présentent une disponibilité abondante (Bourazmi *et al.*, 2018 ; Fdil *et al.*, 2018).

Les huiles et les extraits obtenus des différentes parties d'une plante sont devenus importants en tant que source de matériaux écologiques, facilement disponibles et renouvelables pour une large gamme de prévention de la corrosion. Leur composition est complexe, puisqu'elle est constituée d'un mélange de molécules qui appartiennent à différentes classes chimiques telles que les terpènes, les composés phénoliques (les tanins et les flavonoïdes) et les composés azotés (les alcaloïdes, les acides aminés non protéiques et les glycosides).

1.3.3.1 Inhibiteurs à base d'extraits

L'utilisation des substances naturelles comme inhibiteurs de corrosion remonte à 1930 lorsque les extraits de plante de la *Chélidoine* et d'autres plantes ont été utilisés comme

inhibiteur de corrosion dans un bain de décapage acide sulfurique. Pendant les années 1970 jusqu'à 1990, différents travaux ont montré l'efficacité inhibitrice des extraits de plantes sur la corrosion des métaux dans des milieux corrosifs.

Ces extraits contiennent une grande variété de composés organiques qui peuvent être facilement adsorbés sur la surface du métal, formant ainsi des films protecteurs. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs extraits de plantes ont été utilisés comme inhibiteur de corrosion pour différents types de métaux en milieu acide chlorhydrique (**Benmessaoud Left et al., 2013**). Toutefois, c'est l'acier qui a retenu le plus l'attention des chercheurs à cause de leur large utilisation dans l'industrie.

Plusieurs auteurs ont porté un très grand intérêt à la corrosion de l'acier doux, **Alibakhshi et al. (2018)** ont étudié l'inhibition de la corrosion de l'acier doux par l'extrait des feuilles de la plante *Glycyrrhiza glabra* en milieu acide chlorhydrique. Les résultats montrent que l'extrait de cette plante agit comme inhibiteur de type mixte et retarde les vitesses de réactions anodiques et cathodiques. L'efficacité maximale d'inhibition de la corrosion est de 88% en présence de 800 ppm d'extrait après 24 h d'immersion.

Ainsi, **Singh et al., (2010b)** ont confirmé que l'utilisation des extraits de fruits de quelques plantes comme inhibiteurs de corrosion de l'acier doux a donné une efficacité inhibitrice de 98,2% pour 300 ppm de l'extrait de *Moringa oleifera*, 96,6% pour 600 ppm de l'extrait de *Piper longum* et 88,1% pour 1200 ppm de l'extrait du *Citrus aurantium* en milieu HCl (1 M).

D'autres inhibiteurs ont prouvé leurs efficacités, notamment ceux utilisés par **Satapathy et al., (2009)** qui ont travaillé avec l'extrait de *Justicia gendarussa*, **Bouammali et al., (2013)** avec l'extrait de *Lavandula dentata* et **Afia et al., (2011)** avec l'extrait de noyaux d'*Argania spinosa*, en milieu HCl (1 M). Le pouvoir inhibiteur de la corrosion de l'acier doux par les feuilles de *Curcuma longa* a été prouvé par **Kairi and Kassim, (2013)** en milieu acide, l'efficacité obtenue était de 79,81% pour 80 ppm d'inhibiteur à 30°C, et que la diminution de cette efficacité est observée également à haute température. Plusieurs auteurs ont porté un très grand intérêt à la corrosion de l'acier au carbone.

Par exemple, **Bourazmi et al., (2018)** ont choisi l'extrait méthanolique des feuilles de *Salvia officinalis* comme inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone en milieu HCl (1 M), les résultats obtenus montrent une efficacité de 87% à 1,8 g/l d'extrait.

De même, l'extrait de *Salvia officinalis* agit comme un inhibiteur mixte sans modifier le mécanisme de réduction de l'hydrogène.

L'étude menée par **Dahmani et al., (2010)** sur l'inhibition de la corrosion de l'acier C38 en milieu HCl (1 M). Il a été montré que l'extrait du poivre noir et le composé pipérine isolé de la même plante, présente une efficacité d'inhibition élevée, soit respectivement 95,8% à 2 g/l et 98,9% à 10^{-3} M à 35°C. D'autres recherches sur la corrosion du même type d'acier ont été réalisées par des inhibiteurs à base d'alcaloïdes.

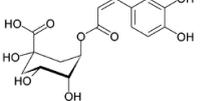
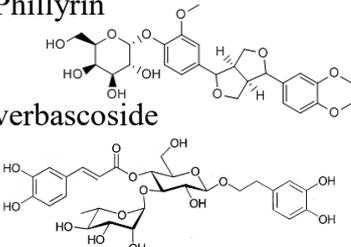
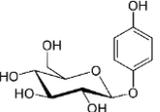
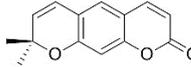
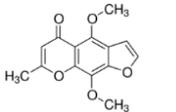
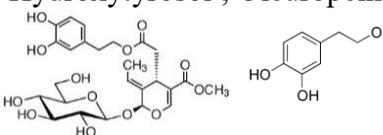
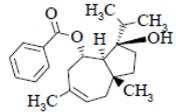
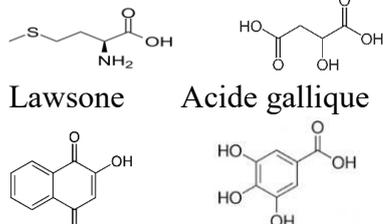
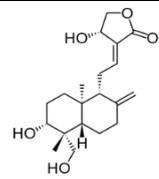
En effet, les études menées par **Faustin et al., (2011)** sur l'effet d'alcaloïdes de l'extrait *Aspidosperma album* ont montré une bonne efficacité de l'extrait pour la concentration de 100 mg/l à 25°C, en milieu HCl (1 M). La diminution de cette efficacité a été observée à des températures élevées.

De même, une autre étude portait sur les alcaloïdes des extraits *Guatteria ouregou* et *Simira tinctoria* a été réalisée par **Lecante et al., (2010)**. Les résultats ont montré une efficacité de 92% pour une concentration de 250 mg/l à 25°C. De plus, les alcaloïdes de *Annona squamosa* (**Lebrini et al., 2010**) et *Iseria coccinea* (**Lebrini et al., 2011**) utilisés dans les mêmes conditions ont montré des efficacités inhibitrices similaires.

Quelques études ont été reportées dans la littérature sur l'utilisation des plantes comme inhibiteurs de corrosion pour les aciers inoxydables citons : la corrosion de l'acier inoxydable 304 par l'ajout de l'extrait de feuille de *Salvia officinalis* a été étudiée par **Soltani et al., (2012)**. Les résultats obtenus ont montré une efficacité de 96,6% pour 2,5 g/l en milieu HCl (1M).

Akin et al., (2013) ont évalué l'effet de l'extrait *Juglans regia* sur la corrosion de l'acier inoxydable en milieu HCl (1M). Les résultats obtenus ont montré une efficacité de 69% pour 0,14 mg/ml à température ambiante. Des résultats obtenus avec d'autres extraits utilisés pour l'inhibition de la corrosion dans le milieu HCl sont rapportés dans le tableau **1.3**.

Tableau 1.3 : Effet des extraits naturels de plantes sur la corrosion des aciers en milieu acide

Inhibiteur à base d'extrait de plante	Molécules actives	Métal	Milieu corrosif	Remarque
Café moulu (Torres <i>et al.</i> , 2011)	Acide chlorogénique 	Acier au carbone	HCl 1 M	Inhibiteur mixte avec un caractère cathodique
<i>Jasminum nudiflorum</i> (Li <i>et al.</i> , 2010)	Phillyrin verbascoside 	Acier laminé à froid	HCl 1 M	Inhibiteur mixte. Une efficacité d'inhibition (96%) est obtenue à 50 mg/l à 20°C
<i>Artemisia pallens</i> (Kalaiselvi <i>et al.</i> , 2010)	Arbutine 	Acier doux	HCl 1 M	L'efficacité inhibitrice 98% à 400 mg/l à 30°C
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Saratha <i>et al.</i> , 2009)	Acide oléique C ₁₈ H ₃₄ O ₂ Acide linoléique C ₁₈ H ₃₂ O ₂ Xanthylétine 	Acier doux	HCl 1 M	un inhibiteur de type mixte une efficacité de 97% pour de 2,5% v/v
Khillah (<i>Ammi visnaga</i>) (El-Etre <i>et al.</i> , 2006)	Khellin Visnagin 	Acier SX 316	HCl 2 M	L'efficacité d'inhibition maximale (99%) est obtenue à 300 ppm
Olivier (<i>Olea europaea</i>) (El-Etre, 2007)	Hydroxytyrosol ; Oleuropein 	Acier au carbone	HCl 2 M	Inhibiteur mixte. E _I est 93% à 900 ppm
Zallouh (<i>Ferula Harmonis</i>) (El-Etre <i>et al.</i> , 2008)	Ferutinol 	Acier au carbone	HCl 2 M	L'efficacité d'inhibition est 93% à 900 ppm
<i>Henna (Lawsonia inermis)</i> (Ostovari <i>et al.</i> , 2009)	Methionine Sorbitol Lawsone Acide gallique 	Acier doux	HCl 2 M	L'efficacité d'inhibition maximale (92%) est obtenue à 1,2 g/l
Kalmegh (<i>Andrographis paniculata</i>)	Andrographolide (Singh <i>et al.</i> , 2010 _a) 	Acier doux	HCl 2 M	Efficacité inhibitrice est de 98%

1.3.3.2 Inhibiteurs à base des huiles

Les huiles essentielles sont également connues sous le nom d'inhibiteurs verts ou d'inhibiteurs écologiques en raison de leur biocompatibilité avec la nature. L'exploitation récente des ressources naturelles telles que les huiles essentielles (HEs) provenant de diverses sources végétales en tant qu'inhibiteurs verts de corrosion à faible coût est un domaine de recherche prometteur. L'activité anticorrosive des HEs peut être attribuée à la présence d'une grande variété de composés organiques qui peuvent être facilement adsorbés sur la surface métallique, formant des films protecteurs. Il s'agit entre autres des monoterpènes, des sesquiterpènes, des composés carbonylés, etc., qui jouent divers rôles au cours de la vie de la plante (**Hossain et al., 2020**). Cependant, les huiles essentielles telles que l'huile de jojoba, l'huile de romarin, l'huile d'armoise et l'huile d'eucalyptus ont été évaluées comme des inhibiteurs efficaces contre la corrosion de l'acier (**Chetouani et al., 2004 ; Benmessaoud Left et al., 2013**). L'efficacité d'inhibition de la corrosion de l'huile de cannelle pour l'acier inoxydable 304L dans des solutions de HCl 0,1 et 1 M a été étudiée par **Bouraoui et al., (2019)**. L'ajout de 1% d'huile de cannelle dans la solution HCl 1 M a conduit à une efficacité de corrosion de 84%. De plus, en milieu agressif 0,1 M, l'efficacité d'inhibition augmente (86,6–96%) l'augmentation de la concentration en huile de cannelle de 0,5 à 5 %. L'huile de lavande (*Lavandula dentata*) a été utilisée pour lutter contre la corrosion de l'acier doux en milieu acide (**El Ouadi et al., 2015**). Les résultats obtenus ont montré que c'est un inhibiteur mixte dont l'efficacité pouvait atteindre 84,32% pour une concentration de 5 ml/l à 308 K après 30 min d'immersion. **Ben Hmamou et al., (2012)** ont rapporté que l'huile essentielle de camomille (*Chamomilla recutita*) donnent une protection élevée sur la corrosion de l'acier dans le milieu HCl 1 M. L'efficacité augmente avec la concentration et atteint 90% à 2 g/l. L'efficacité inhibitrice de l'huile de pistache sur la corrosion de l'acier au carbone dans du H₂SO₄ 0,5 M a été étudiée par **Salghi et al., (2012)**. Les études de polarisation potentiodynamique suggèrent que cet inhibiteur est un inhibiteur de type mixte avec une prédominance de type anodique. L'efficacité inhibitrice était de 83,2% pour une concentration de 1g/l à 298 K. L'utilisation de l'huile essentielle d'argan par **Afia et al., (2011)** a révélé une efficacité inhibitrice de 81% pour une concentration de 3 g/l à 298 K qui diminue quand la température passe à 328 K, il a été montré que cet inhibiteur est de type mixte (**Benmessaoud Left et al., 2011**). L'huile essentielle de fenouil (*Foeniculum vulgare*) a été testée comme inhibiteur de corrosion de l'acier au carbone dans HCl 1 M à 298 K par **Lahhit et al., (2011)**. Les résultats montrent que cette huile agit comme inhibiteur de type mixte avec une efficacité de 76 % pour 3 ml/l d'huile.

Les résultats d'autres études sur l'inhibition de la corrosion par les huiles et les huiles essentielles dans le milieu acide sont rapportés dans le tableau 1.4.

Tableau 1.4 : Effet des inhibiteurs verts à base de l'huile sur la corrosion de l'acier en milieu acide

Inhibiteur à base d'HE	Milieu corrosif	Type de métal	Efficacité inhibitrice	Remarque
<i>Mentha pulegium</i> (huile du Pennyroyal) (Bouyanzer <i>et al.</i> , 2006)	HCl 1 M	Acier	80% pour 2,76 g/l à 298 K	Un inhibiteur cathodique
<i>Mentha spicata</i> (Znini <i>et al.</i> , 2011)	HCl 1 M	Acier	93 % pour 2 g/l à 298 K	Un inhibiteur mixte
Huile de jojoba (Chetouani <i>et al.</i> , 2004)	HCl 1 M	Fer	100% pour 0.515 g/l à 298 K	Un inhibiteur cathodique
Huile de Clove (Saxena <i>et al.</i> , 2012)	HCl 0.5 M	Fer	98% pour 5 g/l à 298 K	-----
<i>Artemisia mesatlantica</i> (Bammou <i>et al.</i> , 2011 _a)	HCl 1 M	Acier	87% pour 19 g/dm ³ à 343 K	Un inhibiteur cathodique
Huile essentielle d'Ail (Afia <i>et al.</i> , 2014)	HCl 1 M	Acier au carbone	95,8% pour 2.5g/l à 298 K	Un inhibiteur mixte
<i>Warionia saharae</i> (Znini <i>et al.</i> , 2011 _b)	H ₂ SO ₄ 0,5 M	Acier	74,85% pour 3g/l à 343 K	-----
<i>Senecio inaequidens</i> (Andreani <i>et al.</i> , 2013)	HCl 1 M	Acier	87,14% pour 2 g/l à 298 K	-----
<i>Salvia aucheri mesatlantica</i> (Znini <i>et al.</i> , 2012 _b)	H ₂ SO ₄ 0,5 M	Acier	86,12 % pour 2g /l à 298 K	Un inhibiteur mixte
<i>Ruta chalepensis</i> L. (Khadraoui <i>et al.</i> , 2014)	HCl 1 M	Acier	71% pour 2,5 ml/l à 298 K	-----
<i>Eryngium maritimum</i> (Darriet <i>et al.</i> , 2013)	HCl 1 M	Acier	97,91 % pour 2 mg/ml à 298 K	-----
<i>Pulicaria mauritanica</i> (Cristofari <i>et al.</i> , 2011)	H ₂ SO ₄ 0,5 M	Acier	86,1 % pour 2g/l à 298 K	Un inhibiteur mixte
<i>Helichrysum italicum</i> (Cristofari <i>et al.</i> , 2012)	HCl 1 M	Acier	82,22% pour 2 g/l à 298 K	-----
<i>Asteriscus graveolens</i> (Znini <i>et al.</i> , 2012 _a)	H ₂ SO ₄ 0,5 M	Acier	82,89% pour 3g/l à 298 K	Un inhibiteur mixte

1.4 Méthodes d'étude de la corrosion

1.4.1 La méthode gravimétrique

D'une façon générale, l'étude de la corrosion fait appel en premier lieu aux méthodes directes ; par excellence c'est la mesure de la perte de masse qui donne une indication sur le degré de corrosion. Cette méthode présente l'avantage d'être facile à mettre en œuvre, de ne pas nécessiter un appareillage important. Elle donne des informations très rapides à des prix relativement bas et sans perturbation des systèmes, mais ne permet pas l'approche des mécanismes mis en jeu lors de la corrosion (Verma *et al.*, 2016).

Son principe repose sur la mesure de la perte de masse (Δm) subie par un échantillon de surface S , avant et après un temps t d'immersion prolongée dans un milieu corrosif en maintenant la température constante.

La vitesse de corrosion (V_{corr}) est déterminée après un temps d'immersion bien déterminé à température donnée (T). Elle est calculée par la formule suivante :

$$V_{corr} = \left(\frac{\Delta m}{S \times t} \right) \quad (\text{mg h}^{-1} \text{ cm}^{-2}) \quad (1.2)$$

Avec : $\Delta m = m_1 - m_2$

m_1 : masse de l'échantillon avant l'immersion (g)

m_2 : masse de l'échantillon après l'immersion en (g)

S : surface de l'échantillon en (cm^2)

t : temps d'immersion (h)

Le pouvoir protecteur des films formés caractérise l'efficacité inhibitrice (E_I), c'est-à-dire la diminution de la vitesse de corrosion. L'efficacité inhibitrice d'un inhibiteur est exprimée par l'équation suivante :

$$E_I (\%) = \left(\frac{V_{corr} - V_{corr/inh}}{V_{corr}} \right) \times 100 \quad (1.3)$$

Où V_{corr} , $V_{corr/inh}$ représentent respectivement les vitesses de corrosion en absence et en présence de l'inhibiteur. Le taux de couverture de surface θ est donné par l'équation 4.

$$\theta = 1 - \left(\frac{V_{corr/inh}}{V_{corr}} \right) \quad (1.4)$$

1.4.2 Les méthodes électrochimiques

Contrairement à la méthode gravimétrique, les techniques électrochimiques constituent une méthode plus complète puisqu'elles étudient la base du phénomène de corrosion via un processus électrochimique. Cependant, l'aspect quantitatif de ces techniques (courbes de polarisation et spectroscopie d'impédance électrochimique) permet d'accéder à des vitesses de réaction et des valeurs de paramètres physiques décrivant l'état du système (capacité de double couche, résistance de transfert de charges, capacité du film,...). La variété des données fournies par ces méthodes permet de choisir parfois plus judicieusement les méthodes adéquates de protection et de prévention. Ces méthodes permettent d'expliquer les processus d'inhibition et de déterminer les mécanismes mis en jeu lors de la dégradation (**Ghetta *et al.*, 2009**).

1.4.2.1 Suivi du potentiel en circuit ouvert

C'est une technique simple qui apporte des informations préliminaires sur la nature des processus en cours à l'interface métal/électrolyte. Le potentiel en circuit ouvert noté OCP (Open Circuit Potential) est le potentiel d'un échantillon plongé dans une solution corrosive. Les courbes OCP permettant d'apprécier les modifications de la surface de l'échantillon en fonction du temps d'immersion dans le milieu. Les variations de potentiels de corrosion enregistrées renseignent sur la dégradation, ou la passivation d'une surface métallique. Cependant, le déplacement du potentiel de corrosion d'un métal vers des valeurs plus nobles n'est pas toujours corrélé avec une augmentation de la résistance à la corrosion (**Choudhary *et al.*, 2016**). Il est donc indispensable de mesurer parallèlement la valeur de l'intensité de courant de corrosion.

1.4.2.2 Courbe de polarisation

Les méthodes de mesure de polarisation sont des méthodes stationnaires, elles permettent d'étudier un système dans son état d'équilibre thermodynamique. La courbe de polarisation de l'interface métal/solution est une caractéristique fondamentale de la cinétique électrochimique, mais ne rend compte que de l'étape la plus lente du processus global (transfert de matière, adsorption des espèces sur l'électrode...) à l'interface électrochimique. Elle permet de déterminer les paramètres de la corrosion, telles que la densité de courant de corrosion (I_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}), et la résistance de polarisation (R_p), ainsi que les droites de Tafel β_a et β_c à partir d'une seule courbe de polarisation. La courbe de polarisation est composée d'une courbe anodique partielle d'oxydation des métaux et d'une courbe cathodique partielle de réduction d'un oxydant (Figure 1.24).

Pour obtenir une courbe de polarisation, on applique différents potentiels entre l'électrode de travail (ET) et une électrode de référence (ER) et on mesure le courant stationnaire qui s'établit après un certain temps dans le circuit électrique entre cette électrode de travail et une contre-électrode (CE). Cette dernière permet de maintenir l'électrode de travail à un potentiel constant. Cette méthode permet de déterminer d'une façon précise les paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte.

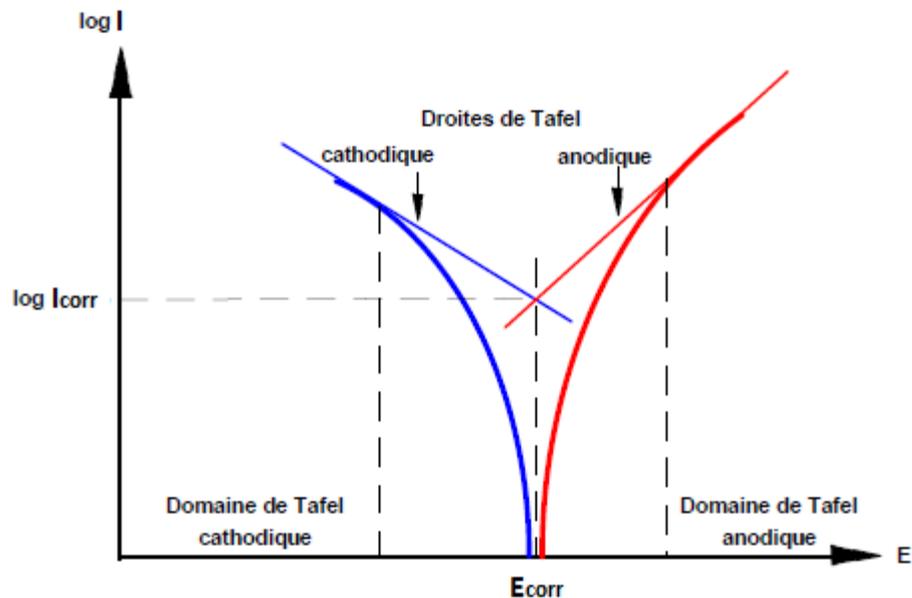


Figure 1.24 : Diagramme des courbes de polarisation montrant les régions anodiques et cathodiques et détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel

Pour déterminer expérimentalement ces paramètres électrochimiques, une présentation logarithmique de la densité de courant est en général préférable, car elle met en évidence la relation linéaire entre le logarithme de la densité de courant et le potentiel (Znini *et al.*, 2012b) (Figure 1.24). L'efficacité d'un inhibiteur peut être évaluée à partir de la connaissance du courant de corrosion du métal dans une solution corrosive avec et sans inhibiteur en utilisant l'équation (1.5).

$$E_I (\%) = \left(\frac{I_{corr} - I_{corr/inh}}{I_{corr}} \right) \times 100 \quad (1.5)$$

Où I_{corr} et $I_{corr/inh}$ représentent respectivement les densités de courant de corrosion en absence et en présence de l'inhibiteur.

1.4.2.3 La spectroscopie d'impédance électrochimique

La méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est une technique non stationnaire et non destructive qui permet d'avoir des informations sur les étapes élémentaires qui constituent le processus électrochimique global (Kelly *et al.*, 2002). C'est l'une des méthodes puissantes utilisées dans le domaine de l'électrochimie, puisqu'elle donne des renseignements sur les propriétés de transfert de charge et des phénomènes électrochimiques qui se produisent à l'interface électrode/solution.

Le principe consiste à superposer au potentiel de l'électrode une modulation de potentiel sinusoïdal de faible amplitude et à suivre la réponse en courant pour différentes fréquences du signal perturbateur. La réponse en courant est également sinusoïdale, superposée à un courant stationnaire mais déphasée d'un angle ϕ par rapport au potentiel (Znini *et al.*, 2012a ; Moretti *et al.*, 2013 ; Verma *et al.*, 2015) . La SIE est une méthode transitoire basée sur la perturbation des grandeurs physiques du système électrochimique de sorte que la réponse du système puisse être analysée dans un domaine linéaire invariant dans le temps. Elle permet une analyse plus complète du mécanisme d'action de l'inhibiteur.

Le rôle de l'inhibiteur dans les différents processus intervenant à l'électrode (transfert de charges, diffusion, adsorption...) peut être étudié en détail (Tazi *et al.*, 2016), et des valeurs telles que celles de la résistance de transfert et de la résistance de polarisation peuvent permettre d'accéder à la mesure de la vitesse de corrosion même dans le cas où le métal est recouvert d'une couche protectrice (Behpour *et al.*, 2014). Les diagrammes d'impédance peuvent être représentés par des boucles et droites tracés en coordonnées cartésiennes, dans le plan de Nyquist en plaçant la partie réelle $Z_{Re}(\omega)$ en abscisse et la partie imaginaire $-Z_{Im}(\omega)$ en ordonnée (Figure 1.25).

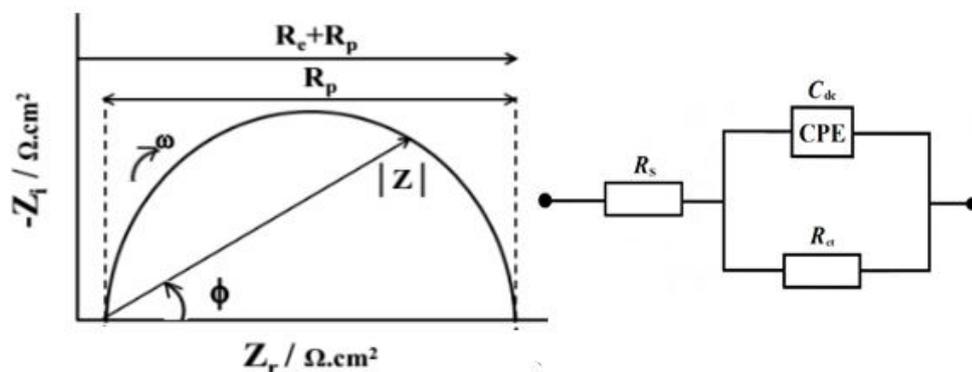


Figure 1.25 : Représentation dans le plan de Nyquist de l'impédance électrochimique, dans le cas d'un processus de transfert de charge et le circuit électrique équivalent

Le phénomène physico-chimique qui se déroule à l'interface électrode/électrolyte peut être modélisé par un circuit électrique équivalent. Ce circuit permet d'ajuster les spectres d'impédance expérimentaux et d'extraire les paramètres tels que la résistance de l'électrolyte (R_s), la résistance de transfert de charge (R_{tc}) et la capacité de double couche (C_{dc}) qui ont lieu à l'interface métal/solution (**Kelly et al., 2002**). L'analyse de ces paramètres électriques est particulièrement utile dans la compréhension du système étudié et de son évolution avec le temps. Autrement dit, la résistance de transfert de charge est définie comme l'intersection de la boucle avec l'axe réel à basse fréquence, alors que la résistance de l'électrolyte est la limite de l'impédance à haute fréquence (**Boudalia et al., 2013**). La capacité de la double couche est déterminée à partir de la relation suivante :

$$C_{dc} = \frac{1}{R_{tc} 2\pi f} \quad (1.6)$$

f étant la fréquence correspondant au sommet de la demi-boucle.

L'ajustement des diagrammes expérimentaux a été effectué grâce aux logiciels Zview et Zsim, ces derniers permettent de déterminer les paramètres des différents éléments constituant le circuit utilisé. Le circuit équivalent correspondant, appelé circuit de Randles généralisé, décrit une interface électrochimique simple (Figure 1.25). Ce circuit comprend la résistance de transfert de charges (R_t), liée en parallèle avec la capacité de la double couche (C_{dc}), les deux sont en série avec la résistance de l'électrolyte (R_s) qui représente la chute ohmique dans l'électrolyte entre les électrodes de travail et de référence lorsqu'un courant passe.

Dans le domaine de la corrosion, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) présente plusieurs avantages. Elle permet la détermination précise de la vitesse de corrosion même dans le cas où le métal est recouvert d'une couche protectrice. La spectroscopie d'impédance électrochimique permet aussi l'évaluation du taux d'inhibition, la caractérisation des différents phénomènes de corrosion (dissolution, passivation,...) et l'étude des mécanismes réactionnels à l'interface électrochimique (**Satapathy et al., 2009**).

L'efficacité d'inhibition de la corrosion est calculée à partir d'équation suivante, en utilisant la résistance de transfert de charge :

$$E_I (\%) = \left(\frac{R_{p(inh)} - R_p}{R_{p(inh)}} \right) \times 100 \quad (1.7)$$

R_p et $R_{p(inh)}$ sont respectivement la résistance de polarisation en absence et en présence de l'inhibiteur.

1.5 Isothermes d'adsorption

L'inhibition de la corrosion des métaux par les composés organiques est expliquée par leur adsorption sur la surface métallique (Behpour *et al.*, 2014). L'adsorption est un phénomène de surface universel car toute surface a donc tendance de capter des atomes, des ions ou des molécules se trouvant à proximité d'elle.

Pour une température donnée, la relation entre la quantité adsorbée d'une espèce et son activité dans la phase liquide en contact avec la surface s'appelle isotherme d'adsorption. Les isothermes d'adsorption sont alors un complément important susceptible de déterminer le mécanisme électrochimique qui conduit à l'adsorption de ces composés organiques sur la surface. Les observations expérimentales ont amené les chercheurs à développer plusieurs modèles théoriques pour décrire les isothermes d'adsorption. Parmi ces isothermes les plus rencontrées sont celles de Langmuir, Temkin et Freundlich.

Afin d'obtenir l'isotherme, le taux de recouvrement θ de la surface métallique en fonction de la concentration en inhibiteur doit être obtenu (calculée par l'équation 1.4).

1.5.1 L'adsorption physique (physisorption)

L'adsorption physique est due à l'attraction électrostatique entre les ions inhibiteurs et la surface du métal électriquement chargée qui se caractérise par une énergie de liaison faible, inférieure à -20 kJ.mol^{-1} .

L'adsorption physique conserve l'identité aux molécules adsorbées. On distingue ici trois types de liaisons : les liaisons de Van der Waals, les liaisons polaires et les liaisons hydrogène. Cependant, dans ce mode d'adsorption les ions ne sont pas en contact physique direct avec le métal, mais ils sont séparés par une couche de molécules d'eau. En milieu acide chlorhydrique, l'adsorption des inhibiteurs cationiques se fait d'une manière coopérative ou concurrentielle avec les ions chlorures. Pour l'adsorption coopérative, les molécules organiques chargées sont adsorbées sur la surface du métal recouverte par un film d'ions Cl^- déjà adsorbés. Dans l'autre cas, le composé organique déplace les molécules d'eau adsorbées et les remplace avec les ions halogène.

En outre, la physisorption est un processus relativement rapide, indépendante de la température et caractérisée par une faible énergie d'adsorption (**Moretti et al., 2013**).

1.5.2 L'adsorption chimique (chimisorption)

La chimisorption est un phénomène irréversible et spécifique pour chaque métal, dépendant de la température et caractérisée par une grande énergie d'activation (**Benmessaoud Left et al., 2013**). Les espèces adsorbées entrent en contact direct avec la surface métallique par formation des liaisons chimiques fortes. La liaison chimique fait intervenir un transfert ou un partage d'électrons entre les molécules d'inhibiteur (grâce à un centre actif comme les atomes O, N, S, P) et les orbitales "d" vacantes de la surface du métal. Par son doublet électronique libre, ce centre actif de la molécule se comporte comme un donneur d'électrons vis-à-vis d'un atome métallique de la surface. Ceci permet de former des liaisons covalentes ou des liaisons de coordination. La densité électronique autour du centre qui peut contribuer à renforcer l'effet donneur d'électrons de ce centre actif, et donc renforcée la liaison de covalence entre atome donneur et atome métallique (**Darriet et al., 2013 ; Hossain et al., 2020**).

➤ *Isotherme de Langmuir*

Pour identifier le type d'adsorption correspondant à notre étude, différents types d'isotherme ont été testés, le plus répandu, est l'isotherme de Langmuir, qui est généralement considéré pour représenter des phénomènes d'adsorption en phase aqueuse impliqués dans les processus de l'inhibition. Son utilisation suppose que la surface solide contient un nombre déterminé de sites d'adsorption et que chaque site ne peut accueillir qu'une seule espèce adsorbée. De plus, ce modèle néglige toutes les interactions entre les particules adsorbées (**Dieter, 1993**). L'équation de Langmuir est valable pour une adsorption en monocouche sur une surface avec un nombre fini de site identique. La vitesse d'adsorption est proportionnelle à la concentration en inhibiteur C_{inh} et à la fraction de sites d'adsorption non occupée $(1-\theta)$, sachant que θ représente la fraction de sites occupés par l'inhibiteur ($0 < \theta < 1$) (**Meshko et al., 2001**). Le taux de recouvrement de la surface du métal est relié à la concentration de l'inhibiteur par la relation (1.8).

$$\frac{\theta}{1-\theta} = K C_{inh} \quad (1.8)$$

Cette équation indique que les constantes de vitesse chimique des réactions de transfert de charge anodique et cathodique ne dépendent pas du taux de recouvrement θ , et aussi qu'il n'y a pas d'interactions entre les espèces adsorbées à la surface.

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K} + C_{inh} \quad (1.9)$$

Où C_{inh} est la concentration de l'inhibiteur et K_{ads} est la constante d'équilibre d'adsorption-désorption obtenue par la régression linéaire de l'isotherme de Langmuir (**Haque et al., 2020**). La constante d'équilibre d'adsorption (K_{ads}) peut être reliée à l'énergie libre d'adsorption standard (ΔG_{ads}) à l'équilibre par l'équation (1.10) :

$$K_{ads} = \frac{1}{C_{H_2O}} \exp\left(-\frac{\Delta G_{ads}^{\circ}}{RT}\right) \quad (1.10)$$

Dans cette équation, R est la constante universelle des gaz ($\text{KJ. mol}^{-1}. \text{K}^{-1}$), T est la température (K) et C_{H_2O} est la concentration molaire de l'eau. Il faut noter que l'unité de concentration des molécules d'eau doit être similaire à celle de l'inhibition (l'unité de g. L^{-1} avec une valeur d'environ 10^3).

Une ligne droite a été obtenue lorsque nous avons tracé C_{inh}/θ en fonction de C_{inh} suggérant que l'adsorption des inhibiteurs sur la surface du métal suit l'isotherme d'adsorption de Langmuir. A partir de l'interception de la droite sur l'axe C_{inh}/θ , on peut calculer la valeur de K_{ads} , qui sont liés à l'énergie libre standard d'adsorption. L'énergie d'adsorption libre standard (ΔG_{ads}) est calculée à l'aide de l'équation (1.11) :

$$\Delta G_{ads}^{\circ} = -RT \ln(C_{H_2O} \times K_{ads}) \quad (1.11)$$

Le fait que l'énergie d'adsorption libre standard est négative implique que l'inhibiteur s'adsorbe spontanément sur la surface métallique (**Pandarathan et al., 2001**).

1.6 Conclusion

Les plantes sahariennes ont été largement étudiées, en raison de leur importance économique et ses propriétés thérapeutiques. En effet, soumises à des insuffisances hydriques et un stress oxydatif, ces plantes sont susceptibles d'accumuler des molécules particulières qui pourraient être intéressantes du point de vue activité biologique. Dans ce sens, il faut noter que plusieurs d'entre elles, sont utilisées en médecine traditionnelle notamment *Hammada articulata* de la famille Amaranthaceae qui est largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et dans certains pays d'Afrique, raison pour laquelle nous l'avons sélectionnée dans le cadre de ce programme de recherche.

Les inhibiteurs organiques et inorganiques sont couramment utilisés pour protéger les métaux contre la corrosion. Cependant, ces inhibiteurs sont souvent coûteux, non biodégradables et nocifs à la fois pour l'environnement et pour l'homme. Les huiles et les extraits de plantes sont devenus une source d'inhibiteurs, écologiques qui garantissent une efficacité élevée à un prix moins cher. Ils contiennent une grande variété de composés organiques qui peuvent être facilement adsorbés sur la surface métallique, formant des films protecteurs. Ce chapitre donne un aperçu sur l'utilisation des huiles et des extraits de plantes comme inhibiteur de corrosion de l'acier en milieu acide.

Chapitre 2

Extraction, fractionnement et criblage phytochimique

2.1 Introduction

Le processus général de caractérisation des molécules à partir d'extraits de plantes fait intervenir deux étapes, le fractionnement et l'identification des composés d'intérêt. Le fractionnement, qui a pour but de simplifier un extrait brut en séparant les molécules en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, est l'une des étapes clés de ce processus car elle va permettre de réduire la complexité de la matrice de départ et donc faciliter l'identification des molécules.

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes des espèces du genre *Hammada* sont riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'extraction et de détection (Ashraf *et al.*, 2013).

Ce chapitre donne un exposé succinct de l'ensemble des techniques d'études chimiques qui permettent d'extraire et d'identifier les espèces phytochimiques présentes dans les différentes phases organiques issues de la partie aérienne de la plante *Hammada articulata* y compris l'huile.

2.2 Techniques expérimentales

2.2.1 Critères de choix de notre matériel végétal

Cette plante appartient au genre *Hammada* souvent utilisée en médecine traditionnelle comme remèdes populaires pour le traitement de diabète, les maladies liées aux problèmes des articulations, des troubles de la vision et diverses lésions cutanées. Elle a également été utilisée pour traiter le cancer au premier stade, des hépatites ainsi pour le traitement des inflammations, et de l'hypertension (Kouider *et al.*, 2019; Kadham, 2008 ; Lamchouri *et al.*, 2012). Les plantes de ce genre ont suscité un grand intérêt en phytochimie depuis de nombreuses années, ces études ont montré l'accumulation de divers métabolites secondaires, en particulier les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes (Ben Salah *et al.*, 2002 ; El-Shazly and Wink, 2003 ; Chao *et al.*, 2013). C'est pour ces raisons que nous avons sélectionné l'espèce *Hammada articulata*. Ce choix a été guidé principalement par l'endémisme de cette plante au Sahara septentrional. En effet, compte tenu des conditions difficiles auxquelles sont soumises les plantes sahariennes (insuffisance hydrique et stress oxydatif), elles sont susceptibles d'accumuler des métabolites secondaires spécifiques pour survivre, s'adapter et se développer (Boucherit *et al.*, 2018).

2.2.2 Description botanique

Hammada articulata (Figure 2.1) est un petit arbuste épineux à base ligneuse formant de petits buissons vert sombre, de 30 à 60 centimètres de hauteur. C'est une plante rameaux articulés plus ou moins flexueux quand ils sont jeunes et noircissant en séchant articulés, entre-nœuds plus ou moins allongés (0,8-3 centimètres). Les fleurs et les graines sont très petites, comme chez toutes les Amaranthaceae ; elles sont entourées par le calice dont les sépales sont prolongés par des ailes translucides (Quezel and Santa, 1963). Elle pousse surtout dans les zones désertiques et semi-désertiques dans des sols contenant beaucoup de sel. C'est une plante qui se trouve dans les régions arides et semi-arides de l'Algérie, et d'autres régions de la méditerranée, et aussi au proche orient.



Figure 2.1 : L'espèce *Hammada articulata*

Un spécimen de notre plante a été déposé au niveau de l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL, Université Frères Mentouri, Constantine.

2.2.3 Présentation de la zone d'étude

La plante *Hammada articulata* a été récoltée en période de la floraison en octobre 2012 de la région de Touggourt dans le Nord-Est du Sahara algérien. Touggourt est une région désertique avec une superficie totale de 1498,75 Km². Le climat de Touggourt est subtropical désertique, avec des hivers doux et des étés très chauds et ensoleillés.

Parmi les familles qui poussent dans cette région, celle des Amaranthaceae avec 09 espèces soit 18,36% de l'effectif total des espèces présentes dans la région de Touggourt (Ozenda, 1991).

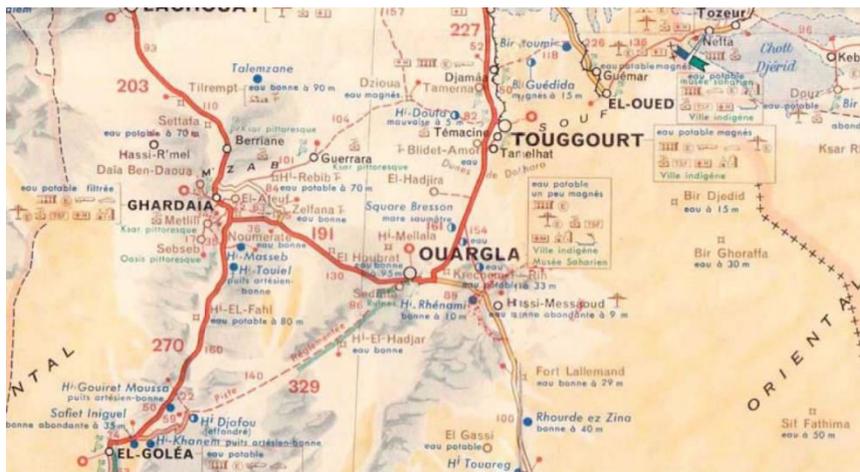


Figure 2.2 : Carte géographique représentative de la région de Touggourt

2.2.4 Macération et extraction

Après séchage dans un endroit sec et aéré à l'abri de la lumière et du soleil, 1200 g de la partie aérienne de la plante sèche sont coupés en petits morceaux, et mises à macérer dans un mélange hydro-alcoolique (EtOH /eau ; 80/20 ; v/v) à température ambiante, à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant. Après une filtration, le filtrat a été soumis à une évaporation à pression réduite à l'aide d'un rotavapeur à 37°C.

L'extrait brut obtenu, est additionné de 480 ml d'eau distillée sous agitation magnétique à température ambiante et laissé reposer pendant une nuit pour faire précipiter un maximum de chlorophylles et de cires. Après filtration la solution obtenue est soumise à des extractions successives en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, après l'acétate d'éthyle et enfin le *n*-butanol.

Les trois phases organiques ainsi obtenues (CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH) sont séchées par le sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄), filtrées puis concentrées à sec sous pression réduite. Chaque résidu obtenu est pesé, reconstitué dans le méthanol puis conservé au frais à 4°C. Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 2.3.

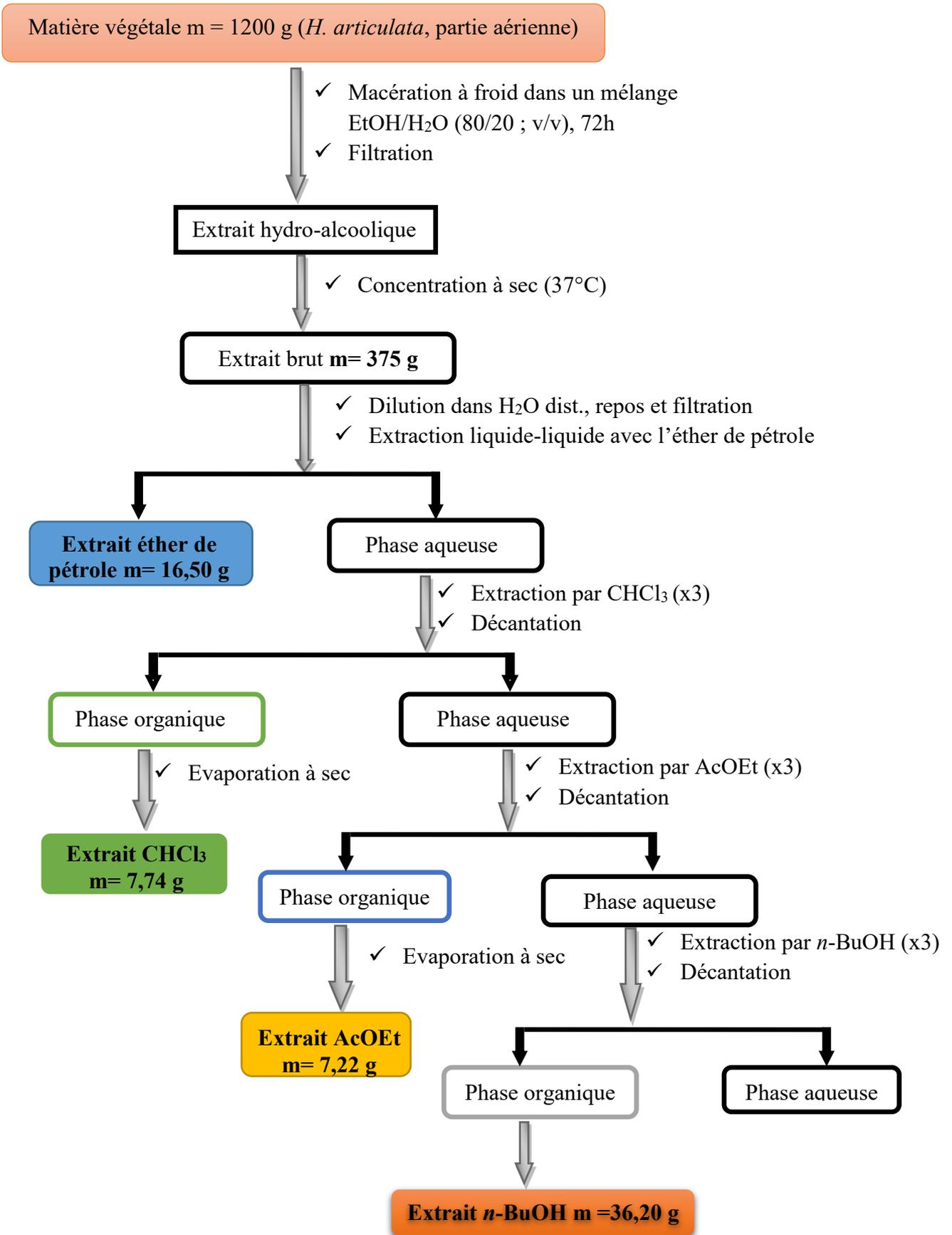


Figure 2.3 : Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des parties aériennes de l'espèce *H. articulata*

2.2.5 Obtention des huiles essentielles

Les parties aériennes de la plante *H. articulata* (250 g) sont soumises à la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau pendant une durée de 3 heures, en utilisant un appareil de type Clevenger.

La matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau, mais elle est traversée par un courant de vapeur d'eau. Dans notre cas, nous avons introduit 250 g de la plante sèche sur une grille perforée en dessus de la base de l'alambic. La vapeur d'eau permet l'éclatement de la matière végétale et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope qui se condense dans le serpentin du réfrigérant avant d'être récupérée dans un autre récipient.

L'huile essentielle obtenue de couleur jaune et à odeur très agréable, est séchée par le sulfate de sodium anhydre, filtrée puis conservée à 4 °C jusqu'à son analyse. Le rendement de l'huile a été calculé en fonction du poids sec de la plante. L'analyse de la composition de l'huile essentielle de l'espèce a été effectuée au laboratoire de Chimie des Hétérocycles et Glucides, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, de Clermont-Ferrand France.

2.2.6 Détermination de la composition chimique des HEs par Chromatographie en phase gazeuse

❖ Analyse par CPG/FID

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent Modèle 6890, couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS en silice fondue (5% diphenyl-95% dimethyl-polysiloxane) (25 m x 0,25 mm, 0,25 µm épaisseur de film). La température de la colonne est programmée de 50°C (5 min) à 300°C, et 5°C/min, puis 5 min après l'exécution à 300°C. Le gaz vecteur est l'hélium (He) dont le débit est fixé à 1.0 ml/min. L'injection se fait par le mode split avec un rapport de division de 1/60. Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient de 280 et 250°C, respectivement. L'échantillon de l'huile essentielle a été dilué dans de l'acétone (3,5 %; v/v).

❖ Analyse par CPG/SM

La chromatographie gazeuse couplée à spectrométrie de masse (CPG/SM) de l'huile essentielle a été réalisée par un chromatographe en phase gazeuse Agilent Modèle 7890, couplé à un spectromètre de masse modèle Agilent MS 5975, équipé d'une colonne HP-5MS (25 m x 0,2 mm, épaisseur du film de 0,25 µm).

L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur (débit moyen de 1 ml/min). La température du four était programmée avec les mêmes conditions que pour la CPG/FID. Le SM en mode impact électronique à 70 eV ; multiplicateur d'électrons, 2200V, la source d'ions et le quadripôle du SM étaient à 230 et 180 °C, respectivement. Les données des spectres de masse ont été acquises dans le mode de balayage de gamme de 33 à 450 m/z .

❖ Identification des composants

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux de la littérature, déterminés par rapport à une série homologue de n -alcanes (C_8 - C_{20}) injectés dans les mêmes conditions que celles de l'huile testée. En outre l'identification a été faite par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux stockés dans la bibliothèque NIST ou avec les spectres de masse de la littérature (Adams, 2007). Les pourcentages relatifs des composés ont été calculés par la méthode de normalisation des aires sans utiliser les facteurs de correction.

2.2.7 Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été effectué sur l'extrait brut et les différents extraits organiques (chloroforme, acétate d'éthyle et n -butanol) de l'espèce *H. articulata*. Il permet de détecter la présence ou l'absence des familles chimiques dans la plante étudiée. C'est un test qualitatif basé sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens sous lumière ultraviolette (Harborne, 1980). D'autre part et en fonction des moyens disponibles nous avons procédé à la recherche des flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, terpénoïdes stéroïdes et stéroïdes, polyphénols, coumarines, tanins, quinones et anthocyanes dans l'extrait brut et les trois phases organiques obtenues à partir de la partie aérienne de *Hammada articulata*.

2.2.7.1 Mise en évidence des flavonoïdes et flavones

Dans des tubes à essai, quelques milligrammes d'extraits de différentes phases ont été solubilisés dans de l'eau distillée. Après addition de 2 ml d'une solution de NaOH (10%), une couleur jaune intense s'est formée, qui est devenue incolore lorsqu'on ajoute 2 gouttes d'acide dilué (5 N) à la solution, ce résultat indique la présence des flavonoïdes (Trease and Evans, 2002 ; Siddiqui *et al.*, 2009).

2.2.7.2 Mise en évidence des alcaloïdes

Quelques milligrammes de différents extraits ont été mis en solution avec quelques millilitres d'acide sulfurique (10%) après 24 heures, le réactif de Dragendorff (Solution iodobismuthate de potassium) a été ajouté.

L'apparition d'un précipité orange à rouge indique la présence d'alcaloïdes (**Siddiqui et al., 2009 ; Adegoke et al., 2010**).

2.2.7.3 Mise en évidence des saponines

Quelques milligrammes de chaque extrait ont été solubilisés dans de l'eau distillée dans des tubes à essai et soumis à une agitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une mousse persistante indique la présence de saponines (**Trease and Evans, 2002 ; Siddiqui et al., 2009 ; Adegoke et al., 2010**).

2.2.7.4 Mise en évidence des tanins

Quelques milligrammes de chaque extrait ont été solubilisés dans des tubes contenant de l'eau distillée. Pour détecter la présence ou l'absence des tannins, le trichlorure ferrique (FeCl_3 à 2 %) a été ajouté. L'apparition d'une couleur vert bleu foncé indique la présence des tanins galliques et la couleur bleu verdâtre indique la présence des tanins catéchiques (**Boxi et al., 2010**).

2.2.7.5 Mise en évidence des polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, une réaction avec le chlorure ferrique a été utilisée. En effet, 2 ml de chaque solution d'extrait, nous avons ajouté une solution de FeCl_3 à 1%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés phénoliques l'apparition de couleur bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée. Le contrôle est effectué avec la solution alcoolique d'acide gallique (**Koffi et al., 2015**).

2.2.7.6 Mise en évidence des terpénoïdes (test de Salkowski)

Cinq millilitres de chaque extrait ont été mélangés avec 2 ml de chloroforme, après 3 ml d'acide sulfurique concentré ont été soigneusement ajoutés pour former une couche. Une coloration brune rougeâtre à l'interface s'est formée pour montrer des résultats positifs pour la présence de terpénoïdes (**Ayoola et al., 2008**).

2.2.7.7 Mise en évidence des diterpènes

Quelques milligrammes de chaque extrait ont été dissous dans de l'eau distillée et traités avec 3 à 4 gouttes d'une solution d'acétate de cuivre. La formation d'une couleur verte émeraude indique la présence de diterpènes (**Harborne, 1998**).

2.2.7.8 Mise en évidence des stéroïdes

Les stérols et les stéroïdes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Cinq millilitres de chacun des quatre extraits ont été dissout dans le chloroforme, après 1 ml d'anhydride acétique a été ajouté au mélange suivi par 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu avec une fluorescence verte, a indiqué une réaction positive.

2.2.7.9 Mise en évidence des anthocyanes

Environ 2 ml de chaque extrait ont été ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique dilué (2N) et d'ammoniac. L'apparition d'une coloration rose rouge virant au bleu violet indique la présence d'anthocyane (Jaradat *et al.*, 2015).

2.2.7.10 Mise en évidence des coumarines

Environ 3 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH à 10 %) ont été ajoutés à 2 ml d'extraits végétaux. La formation d'une couleur jaune est une indication de la présence de coumarines (Trease and Evans, 2002).

2.2.7.11 Mise en évidence de l'acide carboxylique

Un millilitre des différents extraits ont été traités séparément avec quelques millilitres de solution de bicarbonate de sodium. L'effervescence (due à la libération de dioxyde de carbone) indique la présence d'acide carboxylique (Ayoola *et al.*, 2008).

Tableau 2.1 : Tableau récapitulatif des groupes chimiques, réactions d'identification et méthode de détection

Métabolites	Réactifs d'identification	Réaction positive
Flavonoïdes	NaOH (10%)	Coloration jaune
Flavones	H ₂ SO ₄ (5N)	Coloration rouge-orange
Terpénoides	CHCl ₃ + H ₂ SO ₄ conc	Précipité brun
Tannins	FeCl ₃ (2%)	Coloration bleue-verdâtre
Saponines	Agitation	Formation d'une mousse persistante
Polyphénols	FeCl ₃ (1%)	Coloration bleue-verdâtre
Diterpènes	Acétate de cuivre	Coloration verte
Alcaloïdes	Réactif de dragendorff	Précipité rouge-orangé
Stérols et stéroïdes	CHCl ₃ + H ₂ SO ₄ conc	Coloration rouge (surface) + fluorescence jaune verdâtre
Anthraquinones	Réactif de borntrager	Coloration rose
Acide carboxylique	Sodium bicarbonate	Effervescence
Coumarines	NaOH (10%)	Coloration jaune
Quionones	Réactif de Bornträger	Coloration rouge au violet

2.2.7.12 Mise en évidence des quinones

Pour mettre en évidence les substances quinones libres ou combinées, nous avons utilisé le réactif de Bornträger. En effet, quelques milligrammes de chacun des extraits ont été dissous dans 5 ml d'acide chlorhydrique 1/5. Le mélange est ensuite chauffé au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, on extrait par 20 ml de chloroforme.

Puis 0,5 ml de l'ammoniac dilué ont été ajoutés à la solution de chloroforme. L'apparition d'une couleur rouge ou violette est le signe de la présence de quinones (Koffi *et al.*, 2015).

2.2.8 Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols des extraits organiques (CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH) de l'espèce *Hammada articulata* a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Ainsworth and Gillespie (2007) en y apportant quelques modifications. Un volume de 500 µl de chaque extrait est mélangé avec 2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 4 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5%. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. Des concentrations croissantes d'acide gallique (5-500 µg/ml) ont été utilisées pour obtenir une courbe standard. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

2.2.9 Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (Shraim *et al.*, 2021). Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium qui a un maximum d'absorption à 415 nm.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Chang *et al.*, 2002), avec quelques modifications. Tous les extraits organiques ont été préparés dans le méthanol avec une concentration de 250 µg/ml. Ensuite, 1 ml de chaque solution a été mélangé avec 200 µl d'une solution aqueuse de trichlorure d'aluminium (10%) et 200 µl d'une solution aqueuse de l'acétate de potassium (1 M). L'absorption a été mesurée à 415 nm. Après, un volume de 5 ml d'eau distillée a été mélangé avec le mélange réactionnel. Ensuite, la solution a ensuite été incubée pendant 30 min à température ambiante. La quercétine a été utilisée et mesurée dans les mêmes conditions précédentes. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait sec).

2.2.10 Séparation par chromatographie en phase liquide

Pour l'ensemble des extraits testés, nous avons débuté le traitement par une chromatographie sur couche mince, la comparaison des profils CCM en phase normale des extraits organiques obtenus précédemment dans différents systèmes d'élution, ont montré la richesse des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol en métabolites secondaires de type flavonoïdes.

2.2.10.1 Fractionnement de l'extrait chloroforme de *H. articulata*

La meilleure séparation obtenue était avec le système de solvants : Hexane/acétate d'éthyle (7:3). Une masse d'environ 5 g de l'extrait au chloroforme a été déposée sur une colonne de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Merck) préparée dans de l'hexane. L'éluion est réalisée par un gradient de polarité croissante du système hexane/acétate d'éthyle avec un fractionnement tous les 50 ml. Le suivi de ces fractions est effectué par chromatographie sur couche mince. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm), les spots sont délimités, ensuite les plaques sont révélées avec de l'anisaldéhyde et chauffées pendant 3 mn à 100°C. La progression de cette colonne est rassemblée dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de *H. articulata*

Système d'éluion (%)		Lots	N° de la Fraction	Poids (mg)
Hexane	AcOEt			
100	0	1-17	Fr ₁	0,6
99	1	18-26	Fr ₂	13,8
98	2	27-35	Fr ₃	58,1
97	3	36-41	Fr ₄	50,8
94	6	42-45	Fr ₅	54,3
92	8	46-49	Fr ₆	85,7
90	10	50-57	Fr ₇	25,5
88	12	58-61	Fr ₈	21,7
87	13	62-64	Fr ₉	37,4
85	15	65-72	Fr ₁₀	68,9
83	17	73-80	Fr ₁₁	39,2
80	20	81-82	Fr ₁₂	55,4
78	22	83-87	Fr ₁₃	66,2
75	25	88-91	Fr ₁₄	73
73	27	92-103	Fr ₁₅	37,1
70	30	104	Fr ₁₆	45,6
67	33	105-114	Fr ₁₇	71,9
65	35	115-121	Fr ₁₈	46,6
63	37	122-129	Fr ₁₉	189,4
60	40	130-139	Fr ₂₀	285,3
55	45	140-145	Fr ₂₁	79,8
50	50	146-151	Fr ₂₂	85,3
45	55	152-160	Fr ₂₃	93,3
40	60	161-167	Fr ₂₄	36,1
30	70	168-169	Fr ₂₅	28
20	80	170-171	Fr ₂₆	55,1
10	90	172-177	Fr ₂₇	48,8
0	100	178-180	Fr ₂₈	96,6

2.2.10.2 Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle de *H. articulata*

Une masse d'environ 4 g de l'extrait acétate d'éthyle est déposée sur une colonne de gel de silice préparée dans le dichlorométhane. L'élution est réalisée par le système dichlorométhane/acétone/méthanol, en commençant par le dichlorométhane pur et en augmentant la polarité par l'addition progressive d'acétone puis on terminera par le méthanol, avec un fractionnement tous les 50 ml. Le suivi de la composition des fractions a été effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm), puis révélées avec l'anisaldéhyde et chauffées à 100°C pendant 3 mn. Les pots de même composition sont rassemblés donnant 28 fractions (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *H. articulata*

Système d'élution (%)			Lots	N° de la Fraction	Poids (mg)
CH ₂ Cl ₂	Me ₂ CO	MeOH			
100	0	0	1-10	Fr ₁	2,9
97	3	0	11-17	Fr ₂	1,2
96	4	0	18-20	Fr ₃	6,8
94	6	0	21-25	Fr ₄	10,2
92	8	0	26-32	Fr ₅	3,4
90	10	0	33-38	Fr ₆	33,2
85	15	0	39-43	Fr ₇	1,9
80	20	0	44-52	Fr ₈	21,9
75	25	0	53-62	Fr ₉	14,8
70	30	0	63-69	Fr ₁₀	23,2
65	35	0	70-73	Fr ₁₁	13,4
60	40	0	74-78	Fr ₁₂	83,2
55	45	0	79-82	Fr ₁₃	41,2
50	50	0	83-89	Fr ₁₄	12,9
50	50	0	90-99	Fr ₁₅	31,2
50	50	0	100-105	Fr ₁₆	70
50	50	0	106-111	Fr ₁₇	10,2
50	50	0	112-119	Fr ₁₈	13,2
40	60	0	120-125	Fr ₁₉	23,2
30	70	0	126-133	Fr ₂₀	12,9
20	80	0	134-139	Fr ₂₁	11,1
10	90	0	140-142	Fr ₂₂	7,8
0	100	0	143-150	Fr ₂₃	12,2
0	80	20	151-162	Fr ₂₄	22,4
0	60	40	163-170	Fr ₂₅	1,3
0	40	60	171-179	Fr ₂₆	27,8
0	20	80	180-189	Fr ₂₇	40,2
0	0	100	190-199	Fr ₂₈	13,4

2.2.10.3 Fractionnement de l'extrait *n*-butanol de *H. articulata*

Le fractionnement chromatographique de 5 g de l'extrait *n*-BuOH de *Hammada articulata* a permis de récupérer 25 fractions de masse allant de 3,9 mg à 131 mg. L'élution est réalisée par le système dichlorométhane/méthanol, en commençant par le dichlorométhane pur et en augmentant la polarité par l'addition progressive du méthanol, avec un fractionnement tous les 100 ml (Tableau 2.4). Le suivi de la composition des fractions a été effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm), puis révélées avec l'anisaldéhyde et chauffées à 100°C pendant 3 mn.

Tableau 2.4 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait *n*-butanol de l'espèce *H. articulata*

Système d'élution (%)		Lots	N° de la Fraction	Poids (mg)
CH ₂ Cl ₂	MeOH			
100	0	1-9	Fr ₁	3,9
97	3	10-15	Fr ₂	21,2
96	4	16-19	Fr ₃	16,8
94	6	20-222	Fr ₄	13,2
92	8	23-25	Fr ₅	23,4
90	10	26-28	Fr ₆	33,2
85	15	29-31	Fr ₇	11,9
80	20	32-34	Fr ₈	22
75	25	35-37	Fr ₉	24,8
70	30	38-40	Fr ₁₀	43,2
65	35	41-43	Fr ₁₁	38,4
60	40	44-46	Fr ₁₂	13,2
55	45	47-49	Fr ₁₃	131
50	50	50-52	Fr ₁₄	13
50	50	53-55	Fr ₁₅	95,3
50	50	56-68	Fr ₁₆	25,5
50	50	69-71	Fr ₁₇	10,2
50	50	72-84	Fr ₁₈	43,4
50	50	85-94	Fr ₁₉	13,2
40	60	95-101	Fr ₂₀	23,2
30	70	102-107	Fr ₂₁	42,9
20	80	108-113	Fr ₂₂	21,1
10	90	114-120	Fr ₂₃	73,8
0	100	121-125	Fr ₂₄	22,2
0	100	126-130	Fr ₂₅	32,4

2.2.12 Analyse des composés phénoliques par HPLC-DAD

La fraction F_{C20} de l'extrait chloroforme de masse 285,3 mg est éluée avec 60% d'hexane et 40% d'acétate d'éthyle soit un rendement de 5,7%. La fraction F_{A12} de l'extrait AcOEt est de masse 83,2 mg éluée avec le mélange CH_2Cl_2 /AcOEt 60/40 soit un rendement de 2,08%, la fraction F_{A16} du même extrait est de masse 70 mg éluée avec le mélange CH_2Cl_2 /Me₂CO 50/50 soit un rendement de 1,75%. En ce qui concerne l'extrait *n*-butanol, la fraction F_{B13} de masse 131 mg éluée avec le système CH_2Cl_2 /MeOH ; 55/45 soit un rendement de 2,62%, la fraction F_{B15} du même extrait est de masse 95,3 mg éluée avec le mélange CH_2Cl_2 /MeOH 50/50 soit un rendement de 1,91%.

Les cinq fractions citées précédemment sont destinées au dosage des composés phénoliques par HPLC/DAD en utilisant des étalons standards (Figure 2.4). Elles ont été choisies en raison de leur abondance et de la simplicité de leur composition chimique.

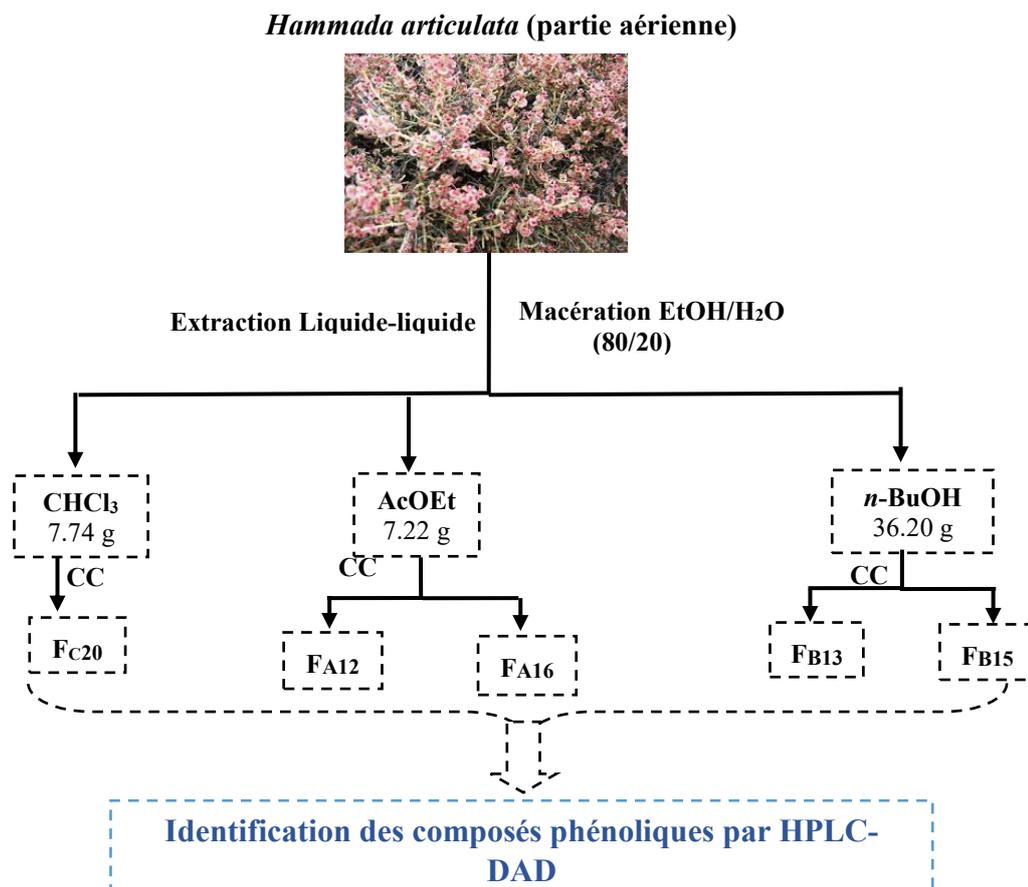


Figure 2.4 : Schéma d'extraction et de fractionnement sur colonne-des extraits $CHCl_3$, AcOEt et *n*-BuOH de *H. articulata* mettant en évidence les fractions destinées à l'analyse par HPLC-DAD

Les fractions ont été solubilisées à raison de 10 mg/ml dans un solvant adéquat : le chloroforme pour la fraction chloroformique et le méthanol pour les fractions polaires (AcOEt et *n*-BuOH). Après filtration à travers des disques Millipore à 0,46 µm, les solutions ont été injectées dans le système chromatographique Hewlett-Packard couplé avec un détecteur à barrette diode (1100), dont les paramètres expérimentaux étaient les suivants :

- ✚ Colonne : Zobrax C18 (150 x 4,6 mm di, 3,5 µm)
- ✚ Phase mobile : constituée par deux solutions (A) et (B) avec les gradients suivants :
 - (A) MeOH-AcOH-H₂O (10/2/88 ; (v/v/v)) → 100 % à 0 min, 85 % pdt 5 min, 50 % pdt 20 min, 30 % à 25 min
 - (B) MeOH-AcOH-H₂O (90/2/8; (v/v/v)) → 100 % pdt 10 min.
- ✚ Volume injecté : 20 µl
- ✚ Débit 0,9 ml/min
- ✚ Température de la colonne : 25°C
- ✚ Détection : détecteur à barrettes de diodes (full scan 190-390 nm). L'analyse des traces a été réalisée à 210 nm, 254 nm, 280 nm et 366 nm.

Le protocole utilisé pour l'analyse chromatographique de ces fractions est déjà validé et utilisé pour l'analyse des fractions dont la composition est assez simple (zeb, 2015).

2.3 Résultats et discussion

2.3.1 Screening phytochimique

L'extrait *n*-butanol est plus abondant avec un pourcentage de 3% suivi par les extraits chloroforme et acétate d'éthyle qui représentent respectivement en moyenne 0,6% du poids sec des feuilles (Tableau 2.5).

Tableau 2.5 : Rendements des extraits de *Hammada articulata* par rapport au poids sec de la matière végétale

Extrait	Couleur	Masse (g)	Rendement (%)
Ether de pétrole	Vert foncé	16,50	1,37
Chloroforme	Vert	7,74	0,64
Acétate d'éthyle	Marron jaune	7,22	0,60
<i>n</i> -butanol	Couleur du miel	36,20	3,02

Les résultats de l'évaluation préliminaire de la composition chimique de différents extraits de *Hammada articulata* sont reportés dans le tableau 2.6.

Les données obtenues par le screening phytochimique ont montré que les flavonoïdes et les polyphénols sont plus abondants dans l'extrait brut et les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol.

Les saponines étaient plus abondantes dans l'extrait brut et l'extrait *n*-butanol et moyennement abondantes dans l'extrait AcOEt, alors que dans l'extrait CHCl₃ les saponines ont été totalement absentes.

L'extrait AcOEt est riche en tanins catéchiques, alors que l'extrait *n*-BuOH se caractérise par sa richesse en tanins galliques.

L'extrait brut et l'extrait CHCl₃ de l'espèce *Hammada articulata* sont fortement riches en alcaloïdes. L'absence des quinones dans les quatre extraits de notre espèce est confirmée par le test de Bornträger.

Ces résultats sont en accord avec les travaux réalisés sur la composition phytochimique de la famille des Amaranthaceae. Les espèces du genre *Hammada* contiennent beaucoup de composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des polyphénols les saponines et des alcaloïdes (Zerriouh *et al.*, 2014 ; Alsaadi, 2018 ; Nounah *et al.*, 2019).

Tableau 2.6 : Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de l'espèce *Hammada articulata*

Métabolites	Extrait brut	Extrait CHCl ₃	Extrait AcOEt	Extrait <i>n</i> -BuOH
Flavonoïdes	+++	+	+++	+++
Flavones	++	+	++	++
Terpénoïdes	+++	–	++	++
Tannins (cathéchique et gallique)	+++	–	++	++
Saponines	+++	–	++	++
Polyphénols	+++	–	+++	++
Diterpènes	+	+	–	–
Alcaloïdes	++	+++	–	–
Stérols et stéroïdes	++	–	+	+
Anthraquinones	+	–	–	–
Acide Carboxylique	+	+	–	–
Coumarines	+	–	+	+
Quinones	–	–	–	–

Précipité ou coloration : présent : + ; absent : – ; très abondants : +++ ; moyennement abondants : ++.

2.3.2 Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux

Les analyses quantitatives en composés phénoliques et flavonoïdes totaux ont été évaluées à l'aide des courbes d'étalonnage réalisées par des standards étalons (l'acide gallique et la quercétine) à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *Hammada articulata*.

Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes ont été exprimées par milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait), et de quercétine (mg EQ/g d'extrait) respectivement, et ont été déterminées par les équations de régression linéaire (Figure 2.5).

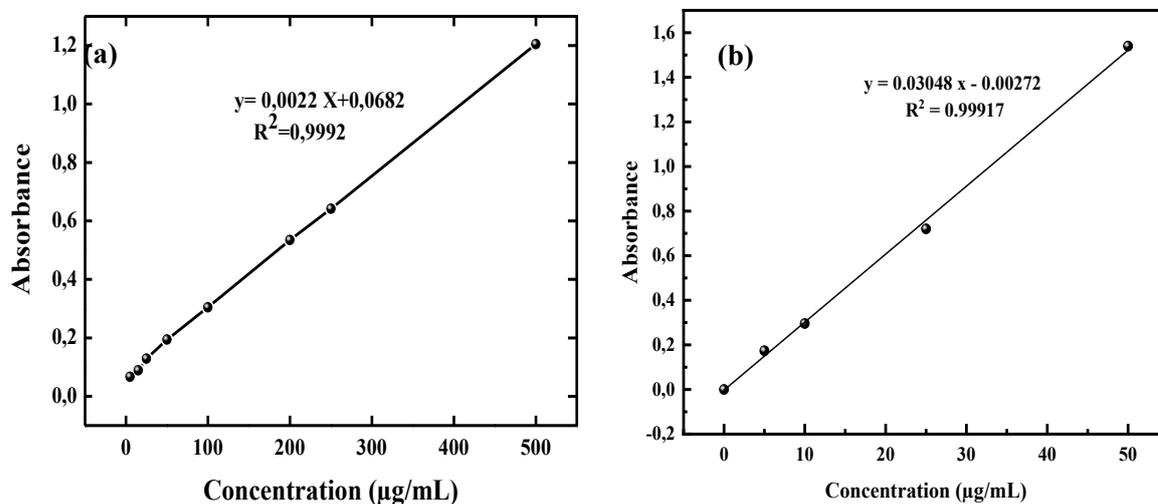


Figure 2.5 : Courbes d'étalonnage de l'acide gallique (a) et de la quercétine (b)

Les résultats présentés dans le tableau 2.7 montrent que les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. Par exemple, l'extrait acétate d'éthyle renferme des taux très élevés en polyphénols et flavonoïdes, ils sont respectivement de $343,6 \pm 0,08$ mg EAG/g et $57,9 \pm 0,43$ mg EQ/g d'extrait sec, suivi par l'extrait *n*-butanol qui renferme des taux élevés en polyphénols et flavonoïdes totaux de l'ordre de $226,3 \pm 0,06$ mg EAG/g et $90,3 \pm 0,21$ mg EQ/g.

Tandis que les plus basses quantités en polyphénols et flavonoïdes totaux ont été retrouvées dans l'extrait chloroforme : ($70,9 \pm 0,12$ mg EAG/g d'extrait et de $12,4 \pm 0,32$ mg EQ/g d'extrait, respectivement).

Tableau 2.7 : Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits de *H. articulata*

Extrait	Teneur en polyphénols totaux mg EAG/g	Teneur en flavonoïdes mg EQ/g
CHCl ₃	70,9 ± 0,12	12,4 ± 0,32
AcOEt	343,6 ± 0,08	57,9 ± 0,43
<i>n</i> -BuOH	226,3 ± 0,06	90,3 ± 0,21

Les valeurs sont la moyenne de trois essais ± SD ; n=3.

Ces résultats montrent une bonne corrélation entre la composition phytochimique et les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux pour l'espèce *H. articulata*. Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes déterminées par la présente étude sont nettement supérieures avec celles rapportées par des études antérieures réalisées sur la même espèce (Chaouche *et al.*, 2014 ; Belhadj-Tahar *et al.*, 2015 ; Tamma *et al.*, 2017 ; Nounah *et al.*, 2019 ; Haida *et al.*, 2020).

En effet, la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux diffère d'une espèce végétale à l'autre, varie entre les différents organes d'une même plante (graines, feuilles, fleurs...). Cette variabilité est due probablement aux conditions climatiques et au stress oxydatifs qu'elle subit pour résister et survivre dans ces strictes conditions (Harborne and Williams, 2000 ; Bruneton, 2009).

2.3.3 Identification des composés phénoliques par HPLC-DAD

L'identification des composés phénoliques contenus dans les fractions des extraits organiques de la plante *H. articulata* par séparation chromatographique a été réalisée par comparaison des temps de rétentions des pics obtenus avec ceux des étalons standards. Ces données appuyées par la littérature mènent à l'identification de 14 composés phénoliques (Figure 2.6). Cette démarche nous donne une appréciation qualitative et quantitative sur la composition phénolique des fractions issues de cette plante endémique.

La méthode HPLC décrite précédemment dans la partie expérimentale a été appliquée à l'analyse de cinq fractions obtenues à partir des extraits organiques de *H. articulata*, en particulier, F_{C20} de l'extrait de chloroforme, F_{A12} et F_{A16} de l'extrait d'acétate d'éthyle et F_{B13} et F_{B15} de l'extrait *n*-butanol. Les résultats de l'étude de quantitative est présentée dans le tableau 2.8.

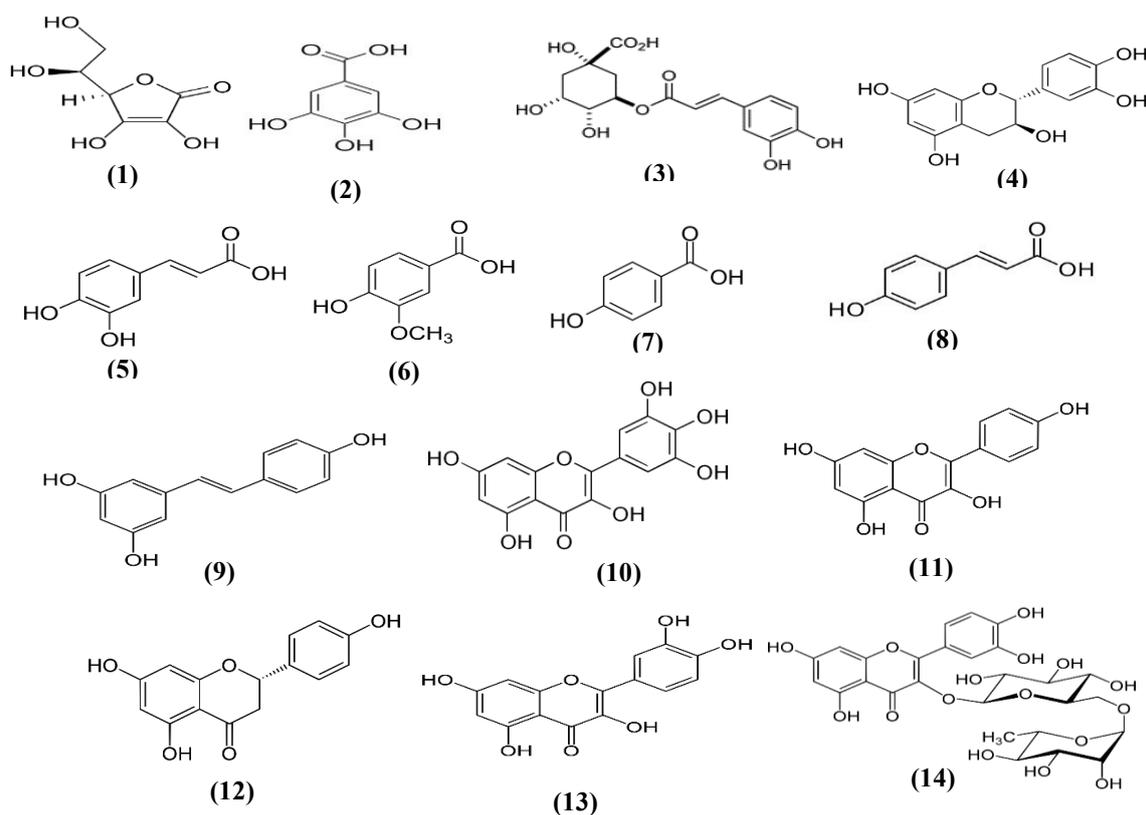


Figure 2.6 : Structures chimiques des composés phénoliques utilisés comme standards

Tableau 2.8 : Paramètres analytiques obtenus par HPLC-DAD : temps de rétention, longueur d'onde maximale d'absorption, et les données de linéarité des standards

N° Pic	t_R (min)	Composés phénoliques	Formule moléculaire	λ_{max} (nm)	Equation de régression	Zone de linéarité ($\mu\text{g/ml}$)
1	5,07	Acide ascorbique	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	245	$Y = 11501 X + 1978.3$	30- 90
2	7,67	Acide gallique	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	227	$Y = 2920 X - 35.935$	5-50
3	9,74	Acide chlorogénique	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	324	$Y = 61413 X + 148.6$	2.5-20
4	12,12	Catéchine	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	213 ; 275	$Y = 3670 X - 73.337$	2-50
5	13,38	Acide caféique	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	323	$Y = 115819 X - 1479.7$	2-60
6	20,13	Acide vanillique	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	260 ; 292	$Y = 201134 X + 479057$	10-100
7	22,21	Acide <i>p</i> -hydroxy benzoïque	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	254	$Y = 29100 X + 19434$	5-100
8	22,81	Acide <i>p</i> -coumarique	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	342	$Y = 173748 X + 25549$	30-90
9	23,52	Resvératrol	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_8$	310	$Y = 174196 X + 12633$	15-80
10	27,33	Myricétine	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_8$	252 ; 372	$Y = 829.8 X + 1.136$	25-75
11	31,94	Kaempférol	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	265 ; 365	$Y = 267379 X + 1339$	4-80
12	34,06	Naringénine	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	284	$Y = 56974 X - 67289$	10-60
13	35,04	Quercétine	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	256 ; 372	$Y = 1343 X + 18.58$	10-85
14	37,07	Rutine	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	255 ; 356	$Y = 35435 X + 1.308$	5-50

Les composés phénoliques utilisés comme standards dans l'analyse chromatographique sont : l'acide ascorbique (1), l'acide gallique (2), l'acide chlorogénique (3), la catéchine (4), l'acide caféique (5), l'acide vanillique (6), l'acide *p*-hydroxybenzoïque (7), l'acide *p*-coumarique (8), le resvératrol (9), la myricétine (10), le kaempférol (11), la naringénine (12), la quercétine (13) et la rutine (14) (Figure 2.6).

L'analyse chromatographique des cinq fractions a révélé des différences qualitatives dans le profil chromatographique des composés phénoliques entre les fractions chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol. Elle a également permis de mettre en évidence la présence de divers composés phénoliques, principalement flavonoïdes, des acides phénoliques et des flavonols.

Par ailleurs, le profil d'éluion des composés phénoliques a été suivi à 220 nm, 254 nm et 280 nm (longueurs d'ondes caractéristiques des composés phénoliques). En effet, les acides phénoliques, les flavanones, et le stilbène sont détectés dans la région de 310 nm à 345 nm (Bakhouche *et al.*, 2015).

2.3.3.1 Identification des composés phénoliques dans la fraction F_{C20} de l'extrait chloroforme

Le chromatogramme de la fraction F_{C20} de l'extrait chloroformique suivi à 310 nm, longueur d'onde caractéristique des acides phénoliques, indique une composition phénolique moins riche avec des pics moins marqués, probablement due à la nature apolaire du solvant d'extraction (Figure 2.7).

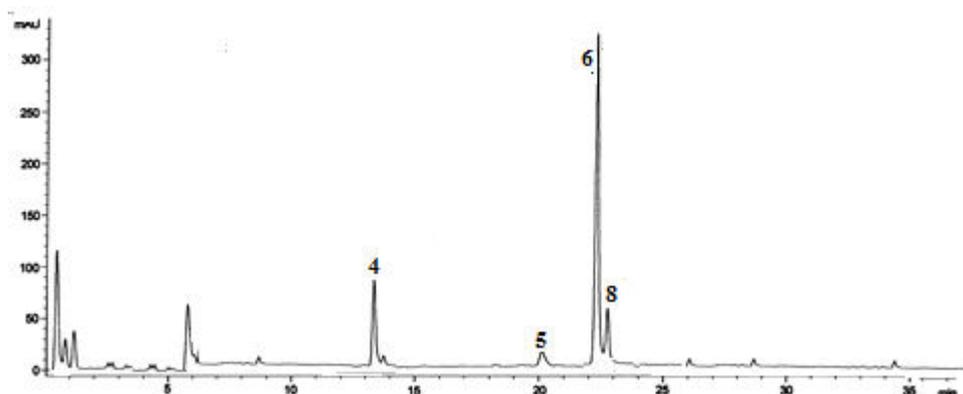


Figure 2.7 : Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F_{C20} de l'extrait CHCl₃ enregistré à 310 nm

En effet, en se référant aux temps de rétention des standards, avec ceux des composés de la fraction F₂₀, il ressort la présence probable de certains composés phénoliques dont quatre composés ont pu être identifiés, à savoir : un flavonoïde (la catéchine) et trois acides phénoliques (l'acide caféique, l'acide vanillique, et l'acide *p*-coumarique). Nous constatons que l'acide vanillique est plus abondant dans cette fraction et présente une teneur de $8,34 \pm 0,19$ mg/g.

Tableau 2.9 : Identification et quantification des composés phénoliques dans la fraction chloroforme F_{C20}

N°	tr (min)	Composés phénoliques	Teneur en (mg/g)
4	12,11	Catéchine	$3,31 \pm 0,08$
5	13,36	Acide caféique	$1,49 \pm 0,02$
6	20,11	Acide vanillique	$8,34 \pm 0,19$
8	22,83	Acide <i>p</i> -coumarique	$2,53 \pm 0,02$

2.3.3.2 Identification des composés phénoliques dans les fractions F_{A12} et F_{A16} de l'extrait acétate d'éthyle

Le profil d'éluion des composés issus de la fraction F_{A12} de l'extrait acétate d'éthyle indique la présence de huit composés principalement, des flavonoïdes (catéchine, myricétine, kaempférol, naringénine et la quercétine) et deux acides phénoliques (acide gallique et acide chlorogénique) (Figure 2.8).

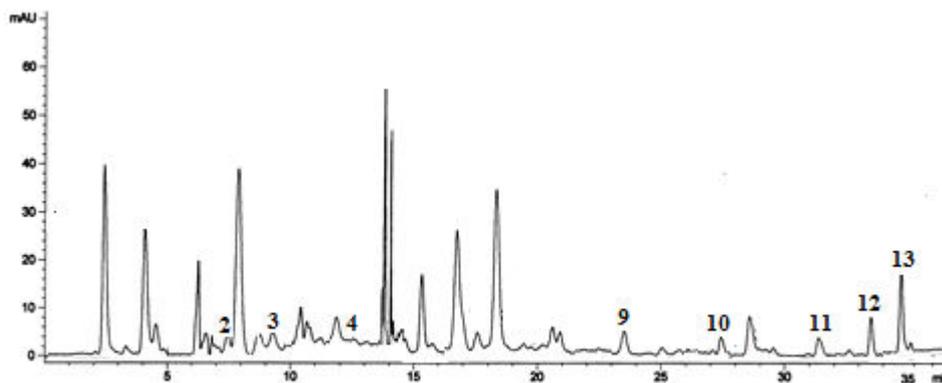


Figure 2.8 : Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F_{A12} de l'acétate d'éthyle enregistré à 280 nm

On note que les flavonoïdes prédominent dans cette fraction, dont la quercétine est le composé majoritaire de la fraction F_{A12} avec une teneur de $5,20 \pm 0,19$ mg/g (Tableau 2.10). Cependant d'autres composés avec des pics bien représentés n'ont pas été identifiés. Il s'agit principalement des composés élués à des temps obtenus dans l'intervalle de 2,5 à 8,7 min et de 13,8 à 21 min, ce qui laisse supposer que d'autres composés phénoliques ont une bonne absorbance à la longueur d'onde utilisée.

Tableau 2.10 : Identification et quantification des composés phénoliques dans les fractions F_{A12} et F_{A16} de l'extrait acétate d'éthyle

N°	t_R (min)	Composés phénoliques	Teneur en (mg/g) (n=3)	
			F_{A12} (AcOEt)	F_{A16} (AcOEt)
1	5,06	Acide ascorbique	ND	$0,46 \pm 0,05$
2	7,64	Acide gallique	$0,58 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,03$
3	9,75	Acide chlorogénique	$0,78 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,02$
4	12,12	Catéchine	$0,93 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,01$
9	23,51	Resvératrol	$1,62 \pm 0,04$	$0,81 \pm 0,03$
10	27,34	Myricétine	$1,24 \pm 0,08$	$1,53 \pm 0,05$
11	31,92	Kaempférol	$2,03 \pm 0,78$	$1,27 \pm 0,04$
12	34,05	Naringénine	$3,01 \pm 0,11$	$7,44 \pm 0,26$
13	35,03	Quercétine	$5,20 \pm 0,19$	$4,16 \pm 0,18$
14	37,06	Rutine	ND	$1,23 \pm 0,08$

ND : Non Détecté

Les analyses réalisées sur la fraction F_{A16} issue de l'extrait acétate d'éthyle ont mené à l'identification de dix composés phénoliques qui sont représentés dans la figure 2.9. Cependant, plusieurs pics ont été identifiés, laissant prévoir une bonne composition en flavonoïdes de cette fraction, principalement la catéchine, la myricétine, le kaempférol, la quercétine, la rutine, et la naringénine ; et des acides phénoliques comme l'acide gallique et l'acide chlorogénique. Le dernier composé identifié comme étant un stilbène, est le resvératrol. L'acide ascorbique a été identifié dans cette fraction à faible teneur ($0,46 \pm 0,05$ mg/g). La naringénine est considérée comme le composé majoritaire qui a été identifié dans la fraction F_{A16} avec une teneur de $7,44 \pm 0,26$ mg/g (Tableau 2.10). La quercétine est le deuxième composé avec une teneur de $4,16 \pm 0,18$ mg/g de la fraction acétate d'éthyle.

Néanmoins, les composés non identifiés, élués à des temps de rétention entre 6 et 20 min, sont également présents par des pics marqués tout au long de la ligne chromatographique de cette fraction.

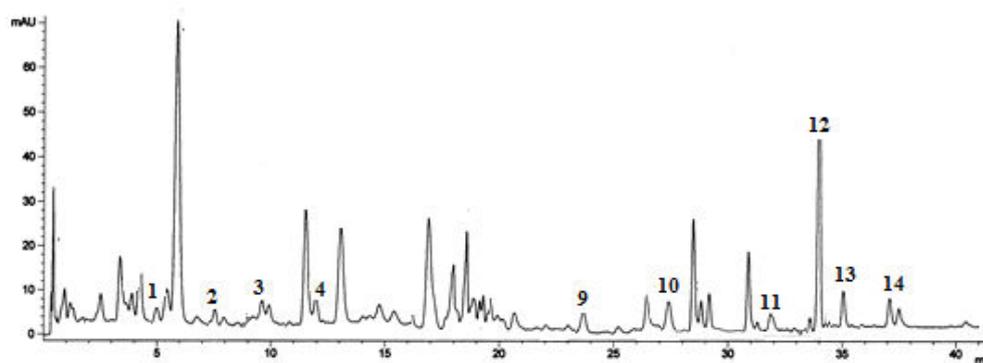


Figure 2.9 : Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F_{A16} de l'extrait AcOEt enregistré à 280 nm

Cependant d'autres composés avec des pics bien représentés n'ont pas été déterminés. Il s'agit de composés élués à des temps de 2,53 ; 3,69 ; 5,86 ; 11,21 ; 11,61 ; 13,11 ; 14,92 ; 15,18 ; 17,02 ; 18,02 ; 18,54 ; 26,63 ; 25,12 ; 31 et 34,03 min.

2.3.3.3 Identification des composés phénoliques dans les fractions F_{B13} et F_{B15} de l'extrait *n*-butanol

La comparaison des temps de rétention des pics obtenus à partir de la fraction F_{B13} avec ceux des standards nous a permis de suspecter la présence de huit composés phénoliques, correspondant à l'acide ascorbique et des acides phénoliques (l'acide chlorogénique, et l'acide vanillique) et à des flavonoïdes (la catéchine, le kaempférol, la quercétine, et la naringénine). L'acide phénolique le plus représenté dans la fraction butanolique F_{B13} était l'acide chlorogénique avec une teneur de $4,67 \pm 0,20$ mg/g.

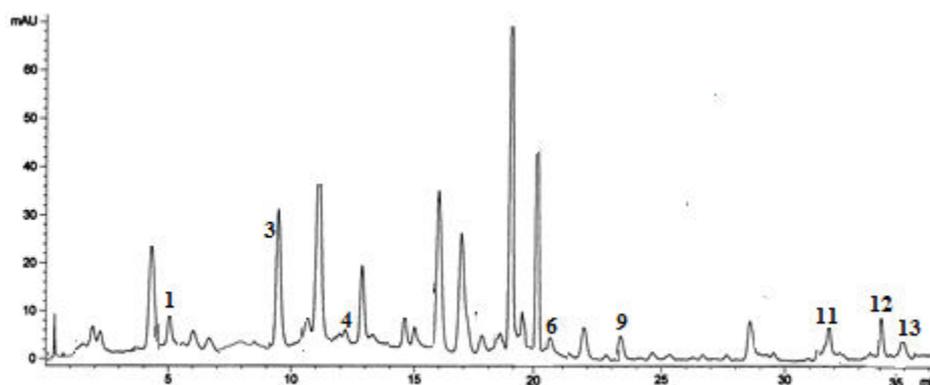


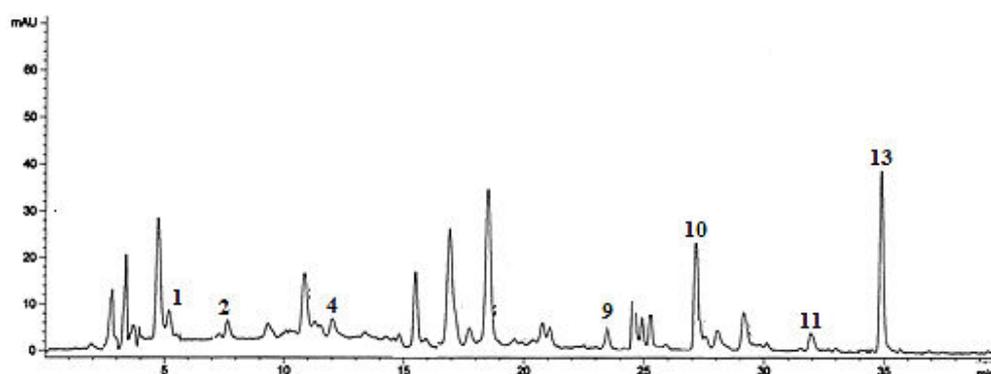
Figure 2.10 : Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F_{B13} de l'extrait *n*-BuOH enregistré à 280 nm

Tableau 2.11 : Identification et quantification des composés phénoliques dans les fractions F_{B13} et F_{B15} de l'extrait *n*-butanol

N°	<i>t_R</i> (min)	Composés phénoliques	Teneur en (mg/g) (n=3)	
			F _{B13} (<i>n</i> -BuOH)	F _{B15} (<i>n</i> -BuOH)
1	5,07	Acide ascorbique	1,28 ± 0,04	1,56 ± 0,04
2	7,67	Acide gallique	ND	0,96 ± 0,04
3	9,74	Acide chlorogénique	4,67 ± 0,20	ND
4	12,12	Catéchine	0,16 ± 0,07	0,74 ± 0,03
6	20,13	Acide vanillique	0,29 ± 0,02	ND
9	23,52	Resvératrol	0,72 ± 0,03	1,31 ± 0,05
10	27,33	Myricétine	ND	4,62 ± 0,17
11	31,94	Kaempférol	1,24 ± 0,04	1,10 ± 0,05
12	34,06	Naringénine	2,32 ± 0,08	ND
13	35,04	Quercétine	1,70 ± 0,06	7,37 ± 0,25

ND : Non Détecté

Le chromatogramme de la fraction F_{B15} de l'extrait *n*-butanol (Figure 2.11), montre une composition assez riche en composés phénoliques à la longueur d'onde utilisée. Cependant le profil chromatographique permet l'identification de sept constituants composés essentiellement par des acides phénoliques comme l'acide ascorbique et l'acide gallique, et des flavonoïdes comme la catéchine, la myricétine, le kaempférol et la quercétine.

**Figure 2.11** : Profil chromatographique des composés phénoliques de la fraction F_{B15} de l'extrait *n*-BuOH enregistré à 280 nm

Le resvératrol est le seul stilbène identifié avec une teneur faible de $1,31 \pm 0,05$ mg/g. En outre, d'autres composés avec des pics bien représentés n'ont pas été déterminés. Il s'agit de composés élués à des temps de 2,83 ; 3,19 ; 4,76 ; 9,21 ; 11,06 ; 15,64 ; 17,02 ; 17,78 ; 17,02 ; 18,82 ; 21,03 ; 25,12 ; 28,04 et 29,12.

Les résultats cités précédemment ont clairement montré la richesse des fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol en composés phénoliques. L'analyse chromatographique de nos fractions nous ont amenés à identifier six flavonoïdes (catéchine, quercétine, kaempférol, naringénine, rutine et myricétine) ; cinq acides phénoliques (acide caféique, acide chlorogénique, acide gallique, acide vanillique, acide *p*-coumarique) et un seul stilbène qui est le resvératrol au niveau des fractions issues de différentes phase de la plante *Hammada articulata*.

La naringénine qui est un flavonone a été détecté au niveau des deux fractions F_{A12} et F_{A16} de l'acétate d'éthyle. Ce flavonone a été déterminé uniquement au niveau de la fraction *n*-butanol F_{A13}. La quercétine et le kaempférol sont des flavonols très répandus chez la plante *Hammada articulata* (Tamma *et al.*, 2017), ils sont présents au niveau des fractions *n*-butanol et acétate d'éthyle, mais absents dans la fraction chloroforme.

La myricétine et la catéchine sont présentes dans les deux fractions polaires (AcOEt et *n*-BuOH), alors que la rutine (quercétine-*O*-glycosylée) est présente uniquement au niveau de la fraction F_{A16} de l'acétate d'éthyle. Pour les acides phénoliques nous constatons que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, et l'acide gallique sont présents dans les fractions *n*-butanol et acétate d'éthyle de *H. articulata*. Tandis que l'acide vanillique et *p*-coumarique sont présents uniquement dans la fraction chloroforme. En revanche l'acide *p*-hydroxybenzoïque est absent au niveau de toutes les fractions testées.

2.3.4 Etude de la composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Hammada articulata* est une huile jaunâtre avec une odeur spécifique, elle a été obtenue avec un rendement de 0,05%. L'identification des composés a été effectuée par comparaison des indices de rétention et des spectres de référence d'une banque de données gérée dans un système informatique. Les composés identifiés sont cités dans le tableau 2.12 et la figure 2.12 par ordre d'éluion. L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Hammada articulata* a permis d'identifier 46 composés qui correspond à 97% de la totalité de l'huile.

Tableau 2.12 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Hammada articulata*

No	tr (min)	Composés identifiés	RI	%
1	13,456	2-Undécanone	1293	0,2
2	14,510	Eugénol	1353	7,7
3	14,641	α -Copaène	1379	0,7
4	15,133	β -Bourbonène	1387	0,3
5	15,641	<i>trans</i> - β -Caryophyllène	1424	1,7
6	16,023	Neryl acétone	1448	1,6
7	16,207	Hexadecane	1461	3,0
8	16,595	β -Ionone	1480	1,2
9	16,672	<i>D</i> -Germacrène	1485	1,5
10	16,845	2-Tridécanone	1495	0,6
11	16,969	Benzyl tiglate	1499	0,6
12	17,245	β -Bisabolène	1509	10,7
13	17,283	γ -Cadinène	1521	2,6
14	17,434	Dihydroactinidiolide	1532	1,0
15	17,914	(+)-(2 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-2,5,5,9-Tetraméthyl- <i>trans</i> -1-décalone	1564	1,5
16	18,100	Megastigmatriènone	1579	0,7
17	18,193	Oxyde de caryophyllène	1587	1,1
18	19,213	1,4-Butanediol dibenzoate	1657	4,1
19	19,341	5-(Benzyloxy) pentanal	1663	1,7
20	19,440	2-Chloro-1-(2,4-diméthoxyphenyl)-éthanone	1668	0,5
21	19,560	Undécanal	1672	0,3
22	19,926	(<i>Z,E</i>)-Farnesal	1710	0,3
23	20,336	(<i>E,E</i>)-Farnesal	1737	0,7
24	20,488	(<i>E,E</i>)-2,4-Diméthyl-2,4-heptadiènal	1753	2,1
25	21,157	α -Monocyclofarnesyl acétate	1796	0,4
26	21,750	Hexahydrofarnesyl acétone	1842	11,9
27	21,959	2-Décyldecahydronaphthalène	1862	1,3
28	22,372	2-Méthyl-4-(méthylthio)-5H-chromeno[4,3- <i>b</i>]pyridine-3-carbonitrile	1890	1,4
29	22,571	(<i>E,E</i>)-Farnesyl acétone	1909	0,8
30	23,075	Acide palmitique	1960	4,2
31	23,973	<i>trans</i>-Nérolidol	2023	0,4
32	24,580	Heneicosane	2100	3,0
33	24,720	(+)-Néomenthol	2110	2,8
34	25,091	<i>trans</i> -5-Méthyl-spiro[3.5]nonan-1-one	2165	1,0
35	25,191	Oxime de vanilline	2174	2,2
36	25,293	4-Oxo- β -isodamascol	2182	1,6
37	25,462	Diéthyltoluamide (DEET)	2194	4,3
38	25,933	6,7-Diméthyllumazine	2206	1,3
39	25,979	Oxyde de dihydromanoyl	2245	1,4
40	26,009	7-Isopropenyl-3,3,6-triméthyl-2-oxobicyclo[3.2.0]-heptan-6-carbaldéhyde	2266	0,3
41	26,167	2-Méthyl-décaline	2290	5,3
42	26,244	Tricosane	2300	3,8
43	26,597	Pentacosane	2498	0,7
44	26,849	Nonadecane	2699	1,4
45	28,154	Marrubiine	2765	0,5
46	28,818	Nonacosane	2900	0,6

L'huile essentielle de *H. articulata* collecté dans la région de Touggourt est composée principalement de l'hexahydrofarnesyl acétone (11,9%), de β -bisabolène (10,7%), de l'eugénol (7,7%), de 2-méthyldecaline (5,3%), de diéthyltoluamide (4,3%), de l'acide palmitique (4,2%), de 1,4-butanediol dibenzoate (4,1%), de tricosane (3,8%), de heneicosane (3,0%), de l'hexadecane (3,0%), de néo-menthol (2,8%) et de γ -cadinène (2,6%), accompagnés par d'autres constituants à des teneurs relativement faibles comme : oxime de vanilline (2,2%), (E,E)-2,4-diméthyl-2,4-heptadiène (2,1%), 5-(benzyloxy) pentanal (1,7%), β -caryophyllène (1,7%), neryl acétone (1,6%), 4-oxo- β -isodamascol (1,6%), D-germacrène (1,5%), tetraméthyl-*trans*-1-décalone (1,5 %), oxyde de dihydromanoyl (1,4%), nonadécane (1,4%), 6,7-diméthylumazine (1,3%), β -ionone (1,2%) et oxyde de caryophyllène (1,1%).

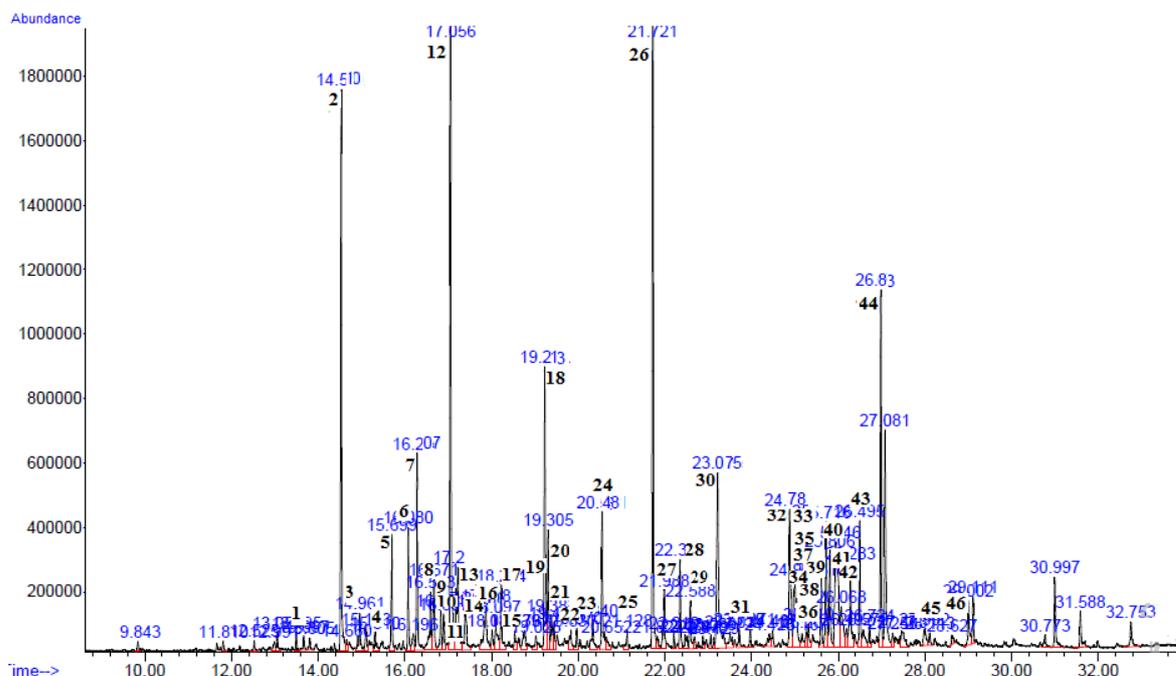


Figure 2.12 : Profil chromatographique de l'HE de *Hammada articulata* obtenu par CPG/FID

Le diagramme de la figure 2.13 reporte les pourcentages des différents groupes chimiques présents dans l'huile essentielle des parties aériennes de *H. articulata*.

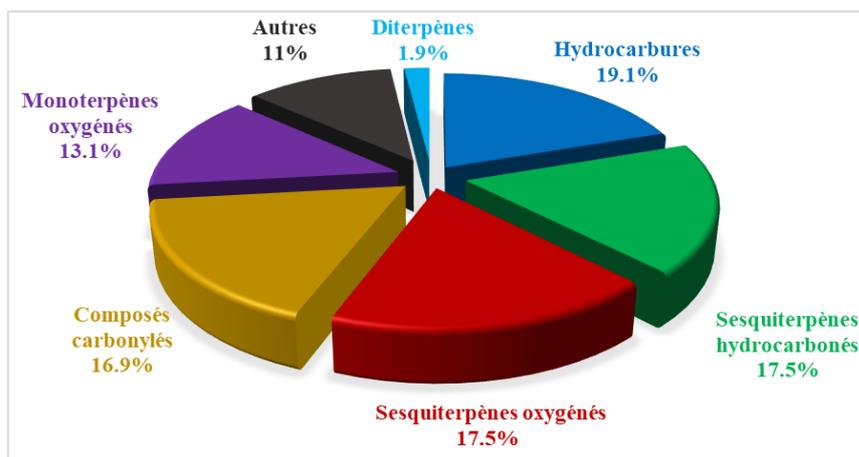


Figure 2.13 : Répartition des familles de molécules présentes dans l'huile de *H. articulata*

Cette analyse a mené à l'identification de cinq groupes chimiques dominés par les sesquiterpènes comme classe majeure avec un pourcentage de 35% dont lesquels 17,5% sont oxygénés. Les composés carbonylés et les hydrocarbures représentent respectivement 16,9% et 19,1%. D'autre part, il est intéressant de souligner que la fraction monoterpénique est constituée uniquement de monoterpènes oxygénés avec un pourcentage de 13,1%, alors que les diterpènes ne représentent que 1,9% de l'huile totale (Figure 2.13).

L'hexahydrofarnesyl acétone (11,9%), le β -bisabolène (10,7%), l'eugénol (7,7%), le 2-méthyldécane (5,3%), le diéthyltoluamide (4,3%), l'acide palmitique (4,2%), le 1,4-butanediol dibenzoate (4,1%), constituent les composés majoritaires de l'huile essentielle de l'espèce de *H. articulata*. Les structures chimiques de ces composés sont rapportées à la figure 2.14.

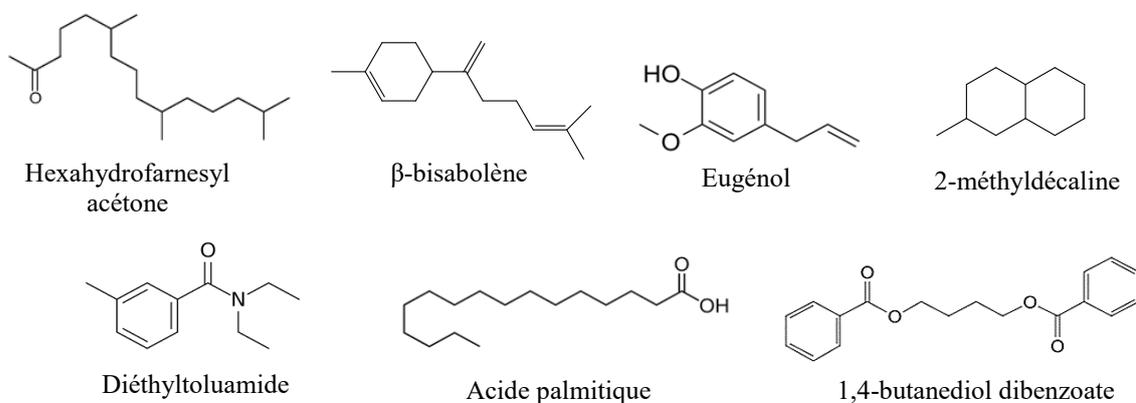


Figure 2.14 : Structures chimiques des composés majoritaires présents dans l'huile essentielle de *H. articulata*

La comparaison de nos résultats avec les données de la littérature montre des différences qualitatives et quantitatives importantes dans la composition chimique de notre huile. En effet, les travaux réalisés par **Drioiche *et al.*, (2020)** ont montré que l'huile de *H. articulata* (*scoparia*), poussant dans la région de Tata au Maroc est constituée majoritairement de carvacrol (82,28%) accompagné par d'autres constituants à des teneurs relativement faibles comme : le *p*-cymène (2,52%), le γ -terpinène (2,18%) et le *Z*-caryophyllène (2,04%).

Une autre étude a rapporté que l'huile essentielle de *H. articulata*, collectée dans la région de Bechar (sud-ouest algérien) était dominée par le thymol (14,19%), α -terpinène (11,02%), β -*E*-ocimène (9,64%), 1,8-cinéole (8,69%), oleuropine (5,17%), linalol (5,12%), δ -3-carène (4,12%) (**Grele *et al.*, 2021**).

2.4 Conclusion et perspectives

A la lumière de ces résultats et vu la richesse des fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol en métabolites secondaires, il serait intéressant de poursuivre l'étude phytochimique afin d'isoler ces métabolites secondaires en utilisant des techniques plus performantes de chromatographie préparative et des appareils de mesures physiques d'analyse permettant des expériences de détermination structurale.

Chapitre 3

Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo

3.1 Introduction

Les espèces de genre *Hammada* sont connues pour leurs utilisations en médecine traditionnelle, et l'activité biologique est indispensable pour notre étude. Cette partie de notre travail est divisée en deux axes : le premier concerne les tests *in vitro* des extraits organiques ainsi que l'huile obtenue à partir des parties aériennes de notre plante, le second axe couvre les tests *in vivo* menés sur les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et le *n*-butanol. Les activités biologiques étudiées pour les trois extraits sont : l'activité antioxydante (*in vitro*), l'activité anti-inflammatoire (*in vivo*), l'activité diurétique (*in vivo*) et l'effet anti-hyperglycémique (*in vivo*).

3.2 Techniques expérimentales

3.2.1 Activités antioxydantes des extraits organiques

L'activité antioxydante a été évaluée sur les différents extraits organiques (CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH) de l'espèce *H. articulata*. Ces tests sont basés sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre cas, l'activité antioxydante a été effectuée de trois manières différentes : le test du DPPH, le test par ABTS et la mesure du pouvoir réducteur du fer.

3.2.1.1 Pouvoir antioxydant par le test du DPPH

L'activité antioxydante de différents extraits de l'espèce *H. articulata* a été mesurée par la méthode DPPH (diphényl-picrylhydrazine) selon la méthode de **Brand-Williams *et al.* (1995)**. Le piégeage des radicaux libres de DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du radical DPPH en DPPH-H (Figure 3.1). La mesure de la diminution de l'absorbance du DPPH permet donc de déterminer le pouvoir anti-radicalaire des substances testées.

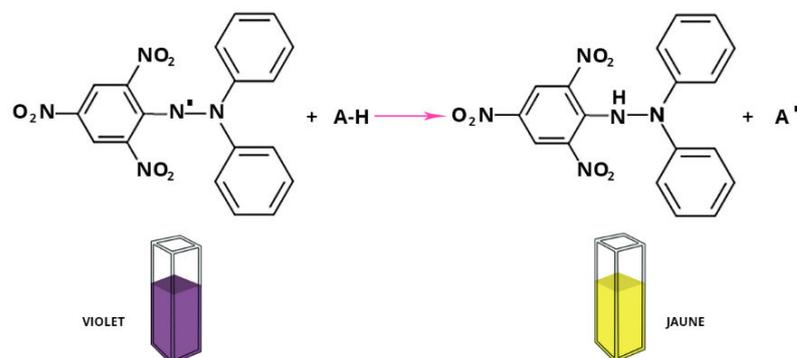


Figure 3.1 : Réduction par des antioxydants du radical DPPH en DPPHH

Tous les extraits (ainsi que l'huile) ont été préparés dans le méthanol avec des concentrations de 5-500 µg/ml. Ensuite, 50 µl de chacune de ces solutions ont été ajoutés à 1950 µl de la solution de DPPH (60 µM). Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, les absorbances des échantillons ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm. Le pourcentage de piégeage du radical DPPH a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = \left(\frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{blanc}}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

Le contrôle négatif (blanc) contient uniquement la solution de DPPH et le contrôle positif est représenté par des solutions d'un antioxydant standard ; la quercétine et l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon testé. L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des EC₅₀ (Concentration efficace pour piéger 50% des radicaux DPPH') (Chen *et al.*, 2013). Elle a été calculée à partir du graphe en utilisant le logiciel Origin 8.

3.2.1.3 Pouvoir antioxydant par ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu verdâtre.

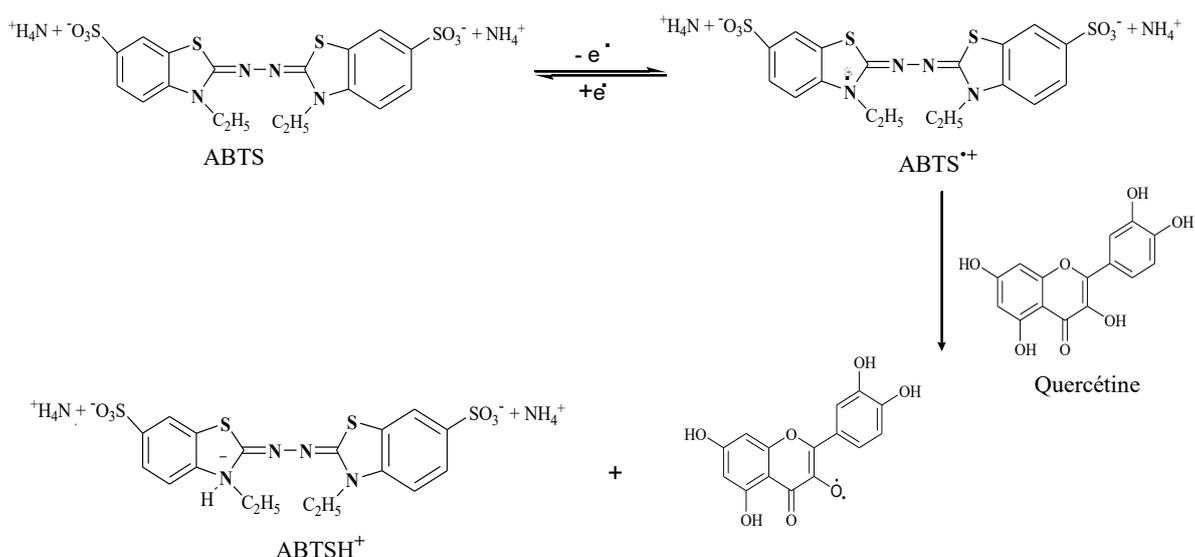


Figure 3.2 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•]

L'obtention du radical cationique résulte du contact de l'ABTS avec un oxydant comme le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). Le radical $ABTS^{*+}$, en contact avec un donneur de H^+ conduit à l' $ABTSH^+$ ce qui entraîne une décoloration de la solution (**Nenadis and Tsimidou, 2010**) (Figure 3.2). L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage du radical cation $ABTS$ a été déterminée selon la méthode de **Re et al., (1999)**, avec de légères modifications.

Le radical cationique $ABTS^{*+}$ a été produit par la réaction entre 7 mM de l'ABTS dans l'eau avec 2,45 mM de persulfate de potassium. Le mélange est stocké dans l'obscurité à température ambiante pendant 16 h. Avant utilisation, la solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,25$ à 734 nm. Ensuite, 900 μ l de cette solution fraîchement préparée ont été ajoutés à 100 μ l de chaque extrait préparé dans l'éthanol à différentes concentrations. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm pour chaque série d'analyse. La quercétine et l'acide ascorbique sont utilisés pour le contrôle positif. Le pourcentage de piégeage du radical cationique a été calculé pour chaque concentration par rapport à l'absorbance du blanc. La capacité de piégeage du cation $ABTS^{*+}$ a été calculée en utilisant l'équation (3.1).

3.2.1.3 Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le test de la réduction du fer est considéré comme un test direct et rapide. Il est utilisé pour mesurer le pouvoir antioxydant (**Macheix et al. 2006**). Le pouvoir réducteur FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Hinneburg et al., 2006**).

L'activité réductrice du fer des extraits préparés a été déterminée selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de la solution aqueuse du ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à 1% (m/v). L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 30 min. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique TCA à 10% (m/v) sont ajoutés au mélange réactionnel. Le tout est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. A la fin, 2,5 ml du surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 0,1%. L'acide ascorbique est utilisé pour le contrôle positif. L'intensité de la coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

3.2.2 Activités biologiques *in vivo*

➤ Animaux

Ce travail a été réalisé sur des rats *albinos* de souche Wistar femelles pesant entre 160 et 250 g de poids corporel provenant de l'institut Pasteur, Alger. Les animaux ont été logés dans des cages en polypropylène standards pour l'acclimatation, au moins une semaine avant de commencer les expériences, et gardés sous température ambiante 25°C avec un accès libre à l'eau.

3.2.2.1 Toxicité aiguë

L'essai de toxicité aiguë des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *Hammada articulata* a été réalisé pour évaluer toute toxicité possible en utilisant la méthode de **Lorke (1983)**. Une dose de 200 mg/kg de chaque extrait a été préparée dans l'eau physiologique (NaCl 0,9%) et administrée aux rats par voie orale sur des groupes de six rats femelles en bonne santé préalablement mis à jeun pendant 16 h. Ces témoins, ont reçu de l'eau physiologique. Après administration, l'observation du comportement général des animaux en comparaison avec celui du groupe non traité (les signes cliniques et la mortalité) a été faite pendant deux heures avant de leurs donner à manger et à boire et ensuite pendant 48 h.

3.2.2.2 Activité anti-inflammatoire

La recherche des propriétés anti-inflammatoires a été réalisée sur le modèle de l'œdème plantaire induit chez le rat par l'injection d'une suspension à 1% de carragénine dans la patte gauche ; technique inspirée de celles décrites par **Winter et al (1962)**. Les rats ont été mis à jeun 16 heures avant le traitement et divisés en cinq groupes de six rats chacun. Les produits testés ont été administrés par gavage gastrique 30 min avant l'injection de la carragénine.

Le groupe A témoin non traité, les groupes B, C et D ont été traités respectivement avec 200 mg/kg d'extrait chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *H. articulata*, et les rats du groupe E ont été traités avec le diclofénac de sodium, anti-inflammatoire non stéroïdien de référence, à la dose de 50 mg/kg de p.c. Une demi-heure après le traitement, 0,1 ml de solution de carragénine à 1% préparée dans l'eau physiologique a été injecté à chaque rat sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche. La patte postérieure droite n'est pas traitée, elle est considérée comme un témoin. On mesure pour chaque rat le diamètre initial (D_0) de la patte postérieure.

La différence de diamètre entre la patte gauche et la patte droite est mesurée en utilisant un micromètre numérique (pied à coulisse) à 1 h, 2 h, 3 h, 4 h et 5 h après l'induction de

l'inflammation (Alaoui *et al.*, 1998). Nous avons calculé pour chaque groupe, la moyenne de l'augmentation de l'œdème selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inflammation (\%)} = \left(\frac{D_t - D_0}{D_0} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

Tandis que le pourcentage d'inhibition de l'inflammation pour chaque groupe traité par les différents extraits et le médicament de référence, est calculé selon la formule suivante (Boutennoun *et al.*, 2017) :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \left(\frac{(D_t - D_0)_{\text{témoin}} - (D_t - D_0)_{\text{traité}}}{(D_t - D_0)_{\text{témoin}}} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

D_t = Diamètre moyen de la patte postérieure gauche (traité par la carragénine)

D_0 = Diamètre moyen de la patte postérieure droite (non traité)

3.2.2.3 Évaluation de l'activité diurétique

Les diurétiques augmentent l'élimination urinaire d'électrolytes, notamment de sodium. L'activité diurétique a été déterminée selon la méthode de Lipschitz *et al* (1943). Après une période d'adaptation de cinq jours dans des cages avec eau et nourriture, trente rats femelles ont été divisés en cinq groupes de six rats dans chacun et mis à jeun total durant les 24 heures de l'expérience. Au début de l'expérimentation (temps t_0) la surcharge hydrique hypotonique de NaCl 0,9% est administrée aux rats sous un volume de 15 ml/kg par voie orale pour imposer une charge d'eau uniforme.

Le groupe 1 (témoin négatif) reçoit de l'eau distillée (1 ml), le groupe 2 a reçu de l'hydrochlorothiazide (HCTZ) à la dose de 50 mg/kg, p.o ; les autres groupes 3 ; 4 et 5 ont été traités respectivement avec l'extrait chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol à la dose 200 mg/kg préparés dans l'eau physiologique. Immédiatement après le traitement, tous les rats ont été placés dans des cages métaboliques, spécialement conçues pour séparer l'urine et les fèces. Les urines collectées pendant 5 heures ont été recueillies dans une éprouvette graduée et le volume a été noté. L'excrétion urinaire cumulée a été calculée en fonction du poids corporel et exprimée en ml/kg de p.c.

Pendant cette période, aucune nourriture et eau n'ont été mises à la disposition des animaux. Les dosages sont effectués sur les urines recueillies pendant cinq heures. Les paramètres urinaires mesurés sont Na^+ et K^+ , ainsi que le pH.

La composition électrolytique (Na^+ et K^+) de l'urine collectée pour les différents groupes a été analysée par un spectrophotomètre de flamme modèle AFP 100. Les résultats présentés sont des moyennes par lot de rats et sont exprimés en mmol/l.

L'excrétion urinaire volumétrique (EUV) est donnée par l'équation (3.4) (Hailu and Engidawork, 2014) :

$$\text{EUV (\%)} = \left(\frac{V_{\text{excrété}}}{V_{\text{administré}}} \right) \times 100 \quad (3.4)$$

$$\text{Index diurétique} = \frac{V_t}{V_c} \quad (3.5)$$

$$\text{Activité diurétique} = \frac{V_t}{V_r} \quad (3.6)$$

Où V_t est le volume urinaire moyen des groupes traités, V_c est le volume d'urine moyen du groupe de contrôle et V_r est le volume d'urine moyen d'un groupe de référence.

$$\text{Na}^+/\text{K}^+ = \frac{C_{\text{Na}^+}}{C_{\text{K}^+}} \quad (3.7)$$

Où C_{Na} est la concentration du Na^+ dans l'urine d'un groupe et C_{K} est la concentration du K^+ dans l'urine du même groupe (Fekadu *et al.*, 2017).

3.2.2.4 Effet hypoglycémique et anti-hyperglycémique des extraits de *Hammada articulata* chez le rat normoglycémique

➤ Chez le rat normoglycémique

La glycémie est mesurée au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue à l'alcool, les rats sont piqués à l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie à l'aide d'un glucomètre calibré. Pour cette étude, vingt-cinq rats sont utilisés. Ils sont repartis en cinq groupes de cinq rats :

Le groupe 1, témoin négatif recevant une solution physiologique (10 ml/kg) par voie orale ; les groupes 2 ; 3 et 4 reçoivent respectivement les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH par

voie orale en une seule dose (200 mg/kg, dissous dans l'eau physiologique) ; le groupe 5, contrôle standard, reçoit la glibenclamide à la dose de 0,3 mg/kg, p.c.

La glycémie est tout d'abord déterminée avant le traitement ; c'est la glycémie initiale (t_0). Après le traitement des animaux, la glycémie est mesurée toutes les 30 minutes, pendant 3 heures, et le pourcentage de variation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale est calculé (Omoboyowa *et al.*, 2018).

➤ Test de tolérance au glucose

L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats à la dose de 4 g/kg du poids corporel. Pour cette étude, trente rats normaux à jeun ont été répartis en six groupes (n=5) pour l'évaluation de l'effet hypoglycémiant des extraits de la plante *Hammada articulata* selon le protocole suivant :

Le groupe 1 de témoin négatif recevant par voie orale de l'eau physiologique (10 ml/kg, p.c). Le groupe 2 du témoin positif qui reçoit par voie orale de l'eau physiologique et une solution de glucose (4 g/kg) 30 minutes après. Les groupes 3, 4 et 5 reçoivent respectivement les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH par voie orale à la dose de 200 mg/kg, et 30 minutes après, une solution de glucose (4g/kg). Le groupe 6, contrôle standard, reçoit la glibenclamide (substance de référence) à la dose de 0,3 mg/kg puis une solution de glucose (4g/kg). La glycémie des rats de chaque groupe est mesurée juste avant l'administration des substances ou de l'extrait, et après le traitement à des intervalles de 30 minutes, pendant 3 heures.

Analyses statistiques

Les valeurs sont systématiquement exprimées en moyenne \pm SD (écart type). La différence significative entre le groupe contrôle et les groupes expérimentaux a été évaluée par le test *t* de Student en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8.

3.3 Résultats et discussion

3.3.1 Activités antioxydantes des extraits

3.3.1.1 Activité antioxydante au DPPH

L'activité antioxydante des extraits organiques de l'espèce de *H. articulata* a été évaluée au moyen du test DPPH.

Les concentrations qui fournissent 50% d'efficacité (EC_{50}) sont calculées à partir des courbes de la figure 3.3 et sont présentées graphiquement dans la figure 3.4. Les extraits AcOEt et *n*-BuOH de l'espèce *Hammada articulata*, ont un pouvoir antioxydant très importants.

En effet, l'activité antioxydante des deux extraits est très élevée atteint 90% pour une concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$. L'augmentation de la dose à des valeurs supérieures à 500 $\mu\text{g/ml}$ ne modifie pas le taux d'activité.

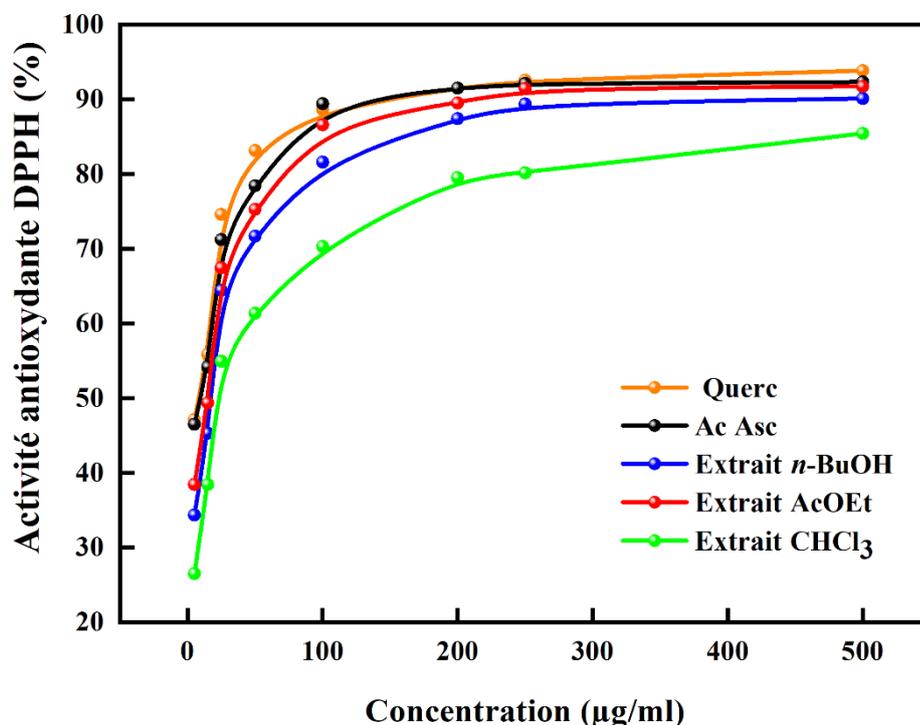


Figure 3.3 : Activité antioxydante par DPPH des différents extraits organiques de la partie aérienne de *H. articulata*

Le pourcentage de piégeage du radical DPPH a été simultanément augmenté avec l'augmentation de la concentration des extraits de 5 à 500 $\mu\text{g/ml}$. En effet, le pourcentage a été de 26,52 ; 38,46 et 34,36 à la faible concentration (5 $\mu\text{g/ml}$) et de 85,45 ; 91,75 et 90,13 à la plus grande concentration (500 $\mu\text{g/ml}$) pour les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH respectivement (Figure 3.3).

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus (CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH) de la plante *Hammada articulata* a été faite par comparaison avec deux antioxydants de référence qui sont la quercétine et l'acide ascorbique. Pour chaque extrait, l' EC_{50} a été déduite de la courbe d'étalonnage correspondante. L' EC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé. Plus la valeur de l' EC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Cependant, parmi les trois extraits de *H. articulata*, l'extrait acétate d'éthyle présente le pouvoir antioxydant le plus grand avec une EC_{50} de l'ordre de $9,48 \pm 0,42 \mu\text{g/ml}$ suivi respectivement par l'extrait *n*-butanol avec une EC_{50} de $13,03 \pm 2,01 \mu\text{g/ml}$.

Tandis que l'extrait chloroforme possède un pouvoir antioxydant plus faible mais remarquable (EC_{50} de l'ordre de $25,20 \pm 0,50 \mu\text{g/ml}$). Les pouvoirs antioxydants de la quercétine et de l'acide ascorbique restent supérieurs à celui des extraits étudiés ($5,47 \pm 0,52$ et $4,52 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Ces résultats nous a permis de classer ces extraits en fonction de leurs activité antioxydante comme suit : $\text{AcOEt} > n\text{-BuOH} > \text{CHCl}_3$.

En effet, le pouvoir anti-radicalaire le plus élevé de l'extrait AcOEt et l'extrait *n*-BuOH être expliqué par la richesse de ces deux extraits en composés phénoliques trouvées dans l'extrait CHCl_3 .

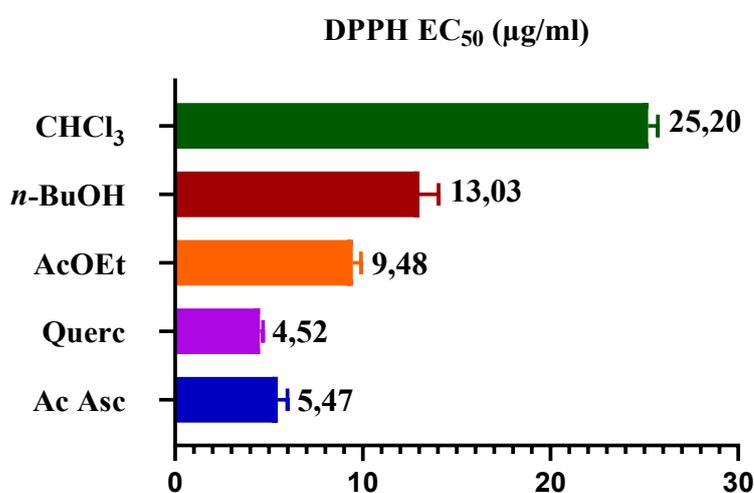


Figure 3.4 : Comparaison entre les valeurs de l' EC_{50} des extraits de *H. articulata* évaluée par le test DPPH

3.3.1.2 Activité antioxydante par ABTS

L'activité antioxydante *in vitro* a été aussi évaluée par la technique de décoloration du radical cation ABTS. Pour ce test, l'ensemble des extraits étudiés révèlent des propriétés antioxydantes intéressantes à une faible concentration, ce qui se manifeste par des valeurs importantes du pouvoir anti-radicalaire (Figure 3.5). Le pouvoir anti-radicalaire des extraits AcOEt et *n*-BuOH dépasse les 90 % pour une concentration de 200 $\mu\text{g/ml}$.

Les extraits testés ont réduit l'absorbance par le piégeage du radical cationique $\text{ABTS}^{+\cdot}$ pour toute la gamme de concentration testée. Cette activité était dose dépendante pour les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol jusqu'à atteindre la concentration maximale.

L'activité antioxydante est élevée à des concentrations très faibles comparativement à celle obtenue par le test DPPH.

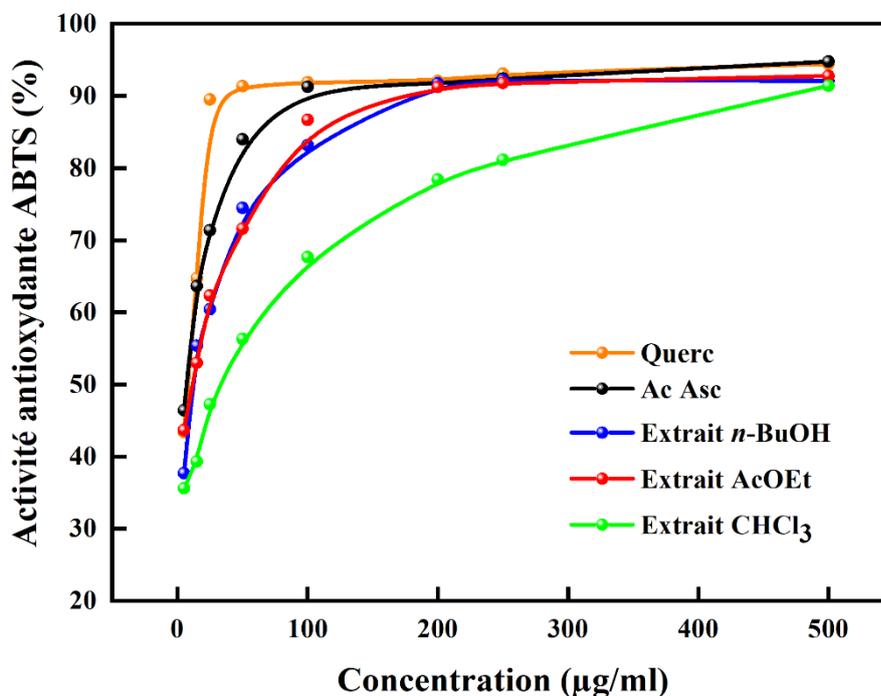


Figure 3.5 : Activité antioxydante par ABTS des différents extraits organiques de *H. articulata*

En effet, les extraits AcOEt et *n*-BuOH ont piégé 43,68% et 37,7% du radical ABTS⁺, respectivement, à la concentration de 5 µg/ml. Tandis qu'à 500 µg/ml ces extraits AcOEt et *n*-BuOH ont présenté des pourcentages de 92,78% et 92,09%, respectivement. A cette même concentration le pourcentage de piégeage de l'extrait CHCl₃ était de 91,44%. Ainsi, l'activité antioxydante est fortement exprimée pour l'extrait acétate d'éthyle (AcOEt), qui est notamment le plus actif, avec une EC₅₀ de l'ordre de 8,46 ± 0,91 µg/ml (Figure 3.6). Cependant, l'extrait *n*-butanol a piégé ABTS⁺ avec une EC₅₀ assez proche de celle de l'extrait acétate d'éthyle avec (10,03 ± 1,12 µg/ml). Le plus faible pouvoir à stabiliser ABTS⁺ a été enregistré par l'extrait chloroforme (EC₅₀ = 24,53 ± 1,68 µg/ml). Ceci pourrait être expliqué par les teneurs relativement faibles en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes totaux, flavonols, tanins) trouvées dans l'extrait CHCl₃.

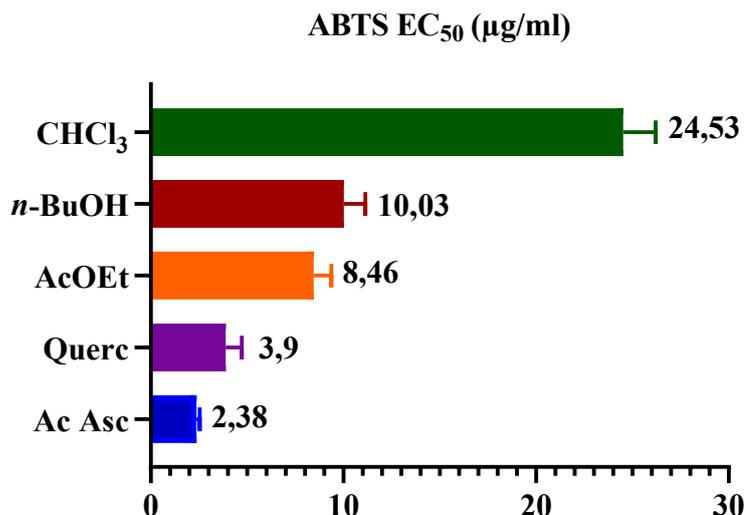


Figure 3.6 : Comparaison entre les valeurs de l'EC₅₀ des extraits de *H. articulata* obtenus par le test ABTS

La forte activité de cette espèce a été également signalée par **Chaouche *et al.* (2014)**, **Belhadj Tahar *et al.* (2015)**, **Tamma *et al.* (2017)**, **Jdey *et al.* (2017)**, **Nounah *et al.* (2019)** et **Haida *et al.* (2020)** sur les extraits aqueux de la même plante collectée dans la région d'El-Oued ce qui est en accord avec les résultats présentés dans cette étude. De même, les résultats ont montré que les extraits de la plante *Hammada articulata* présentent une corrélation élevée entre la teneur en polyphénols et son activité antioxydante. Cette corrélation pourrait être expliquée par leur richesse différentielle en polyphénols et plus particulièrement en composés flavoniques.

En effet, concernant les flavonoïdes, certains auteurs ont attribué la capacité de ces composés à piéger les radicaux libres, à la présence de groupements OH en 3', 4' sur le noyau B et/ou un OH libre en C-3 (**Amić *et al.*, (2003)**). Cela pourrait être en relation avec les observations décrites par **Kraus *et al.*, (2003)** suggérant que la croissance de cette espèce dans des sols salés et pauvres en nutriments la mène à contenir des quantités élevées en polyphénols.

3.3.1.3 Activité antioxydante par le test FRAP

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante *Hammada articulata* a été évalué en utilisant la méthode de FRAP, qui est une méthode simple, rapide et reproductible.

Nous avons opté pour tester les différents extraits de la plante étudiée. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe pour chaque extrait, pour la comparaison, l'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant standard (Figure 3.7).

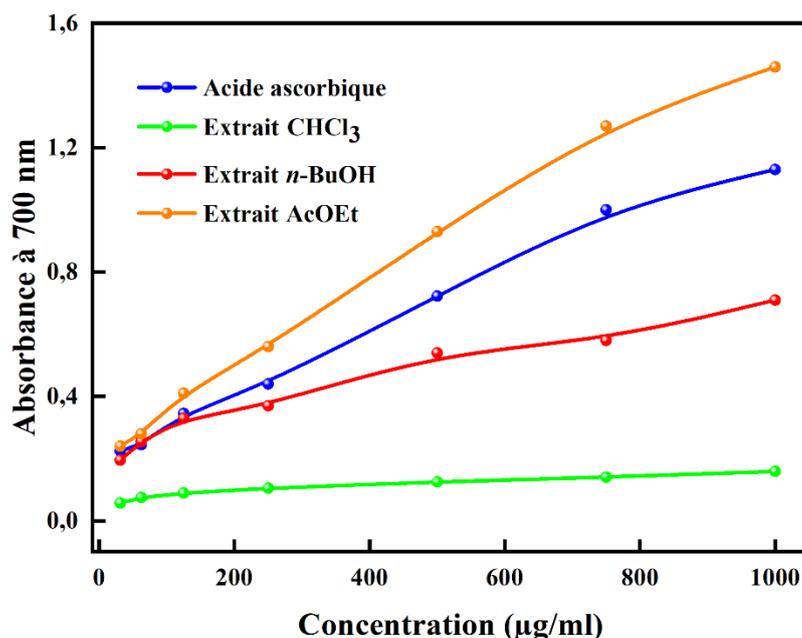


Figure 3.7 : Réduction du fer ferrique en fer ferreux par les extraits de *Hammada articulata*

La présence de réducteurs dans les extraits de plantes provoque la réduction du fer ferrique Fe^{3+} dans le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à la forme ferreux Fe^{2+} . Par conséquent, les ions Fe^{2+} peuvent être évalués en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002 ; Amarowicz *et al.*, 2004). L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Hammada articulata* a montré une meilleure activité de l'extrait acétate d'éthyle par rapport à l'acide ascorbique comme le montre la figure 3.7.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose dépendante. En effet, à la concentration de 750 µg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait AcOEt de *H. articulata* présente des absorbances élevées (DO = 1,27) par rapport à celui du control positif (DO = 1,08). Ces résultats sont tout à fait semblables aux résultats obtenus par les tests DPPH et ABTS.

Tableau 3.1 : Pouvoir réducteur des trois extraits et de l'acide ascorbique

Extrait/ substance	FRAP $A_{0.50}$ (mg/ml)
Ac Asc	0,30 ± 0,12
AcOEt	0,20 ± 0,11
n-BuOH	0,45 ± 0,15
CHCl ₃	ND

L'extrait AcOEt a enregistré le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,5} = 0,20 \pm 0,11$ mg/ml), et plus réducteur que l'acide ascorbique suivi par ceux de l'extrait *n*-BuOH ($A_{0,5} = 0.45 \pm 0.15$ mg/ml). L'extrait chloroforme a donné l'effet réducteur le plus faible.

Le pouvoir réducteur de l'espèce *H. articulata* est probablement dû à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. Quelques études antérieures ont également montré que notre espèce a montré un pouvoir réducteur important et peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Haida *et al.*, 2020).

3.3.2 Activité antioxydante de l'huile essentielle de *H. articulata*

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *H. articulata* étudiée par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage de piégeage du radical et la concentration efficace pour piéger 50% du radical DPPH par l'HE qui sont représentés dans la figure 3.8 et le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Résultats de l'activité antioxydante l'huile essentielle de *H. articulata*

Echantillon	DPPH EC ₅₀ (µg/ml)
HE	30,26 ± 0,31
Ac Asc	20,08 ± 0,75

Valeurs représentées en moyenne des trois répétitions ± l'écart-type, n=3.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Hammada articulata* exerce une importance activité antioxydante traduite par une EC₅₀ = 30,26 ± 0,31 µg/ml par rapport à l'acide ascorbique (valeur EC₅₀ = 20,08 ± 0,75 µg/ml). Le pourcentage de piégeage du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'HE testée. L'huile essentielle de *H. articulata* a révélé une activité antioxydante de 11,46% à la concentration de 5 µg/ml, et 81,21% de piégeage des radicaux libres à 500 µg/ml (Figure 3.8).

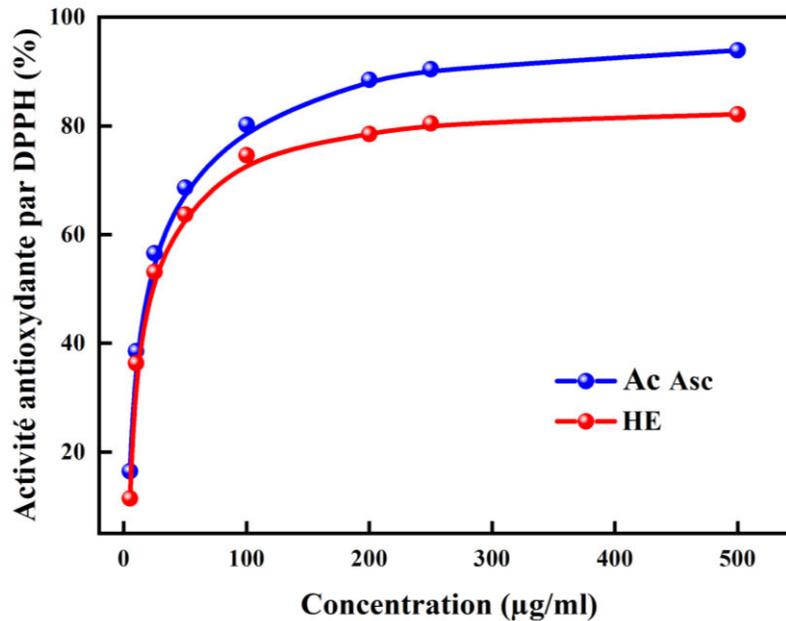


Figure 3.8 : Profil de l'activité antioxydante de l'HE de *H. articulata*

À notre connaissance, l'étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Hammada articulata* n'a jamais été reportée auparavant. Cette huile a été obtenue pendant la phase de floraison de la plante puisqu'elle possède plus de pouvoir antioxydant en comparaison à celle de la période végétative. En général, les huiles essentielles riches en composés oxygénés présentent une activité anti-radicalaire plus marquée que celles à terpènes hydrocarbonés (Benov *et al.*, 1994 ; De Almeida *et al.*, 2016). En effet, il est établi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (Dhifi *et al.*, 2016). La présence des sesquiterpènes, tels que l'hexahydrofarnesyl acétone (11,9%) et le β -bisabolène (10,9%) dans notre huile peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH. Ces molécules ont été signalées dans plusieurs études comme de puissants agents antioxydants dans plusieurs huiles essentielles (Do Nascimento *et al.*, 2020). De plus, les composés phénoliques sont connus pour être les meilleures molécules de piégeage de radicaux en raison de la présence de fonctions hydroxyles. Les composés phénoliques tels que l'eugénol (trouvé dans notre huile avec un pourcentage de 7,7%) a montré une efficacité antioxydante plus élevée que celle de l' α -tocophérol (Gülçin, 2011). Par ailleurs, ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HEs qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Fan *et al.*, 2018 ; Singh *et al.*, 2014).

Le néo-menthol (2,8%), le β -isodamascol (1,6%) et la présence de composés carbonylés tels que l'acide palmitique (4,2%), même à faibles teneurs peuvent avoir augmenté le potentiel de piégeage du radical DPPH par l'huile essentielle (Do Nascimento *et al.*, 2020).

3.3.3 Toxicité aiguë

Les tests de toxicité aiguë des trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol administrés par voie orale à la dose de 200 mg/kg, n'ont révélé aucun signe de toxicité ou de stress. De plus, aucune mortalité n'a été enregistrée durant la période d'observation.

3.3.4 Activité anti-inflammatoire des extraits de *H. articulata* (*in vivo*)

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de différents extraits organiques (CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH) de la plante *Hammada articulata* est réalisée par le modèle de l'œdème induit par la carragénine chez cinq lots de rats (n=6) (témoin, essais et référence) en absence et en présence d'un traitement anti-inflammatoire. L'œdème a été induit par la carragénine au niveau de la patte postérieure gauche du rat une demi-heure après l'administration de différents produits. Les extraits organiques de notre espèce ont été administrés par voie orale à la dose de 200 mg/kg. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du diclofénac de sodium (AINS), en raison de 50 mg/kg. Les résultats de l'effet des extraits de l'espèce *H. articulata* sur l'œdème induit par la carragénine sont présentés dans le tableau 3.3 et les figures 3.9 et 3.10. Le tableau 3.3 représente les effets de trois extraits : chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de la plante *H. articulata*, et de diclofénac sur l'évolution en fonction du temps, de la circonférence de l'œdème induit par la carragénine sur la patte du rat.

Tableau 3.3 : Effet du diclofénac et des extraits de *H. articulata* sur l'augmentation de l'œdème de la patte de rat induit par la carragénine

Traitement	Dose (p.o) mg/kg	Différence du diamètre moyen de l'œdème (patte gauche- patte droite) induit par la carragénine (mm)				
		1 ^{ère} heure	2 ^{ème} heure	3 ^{ème} heure	4 ^{ème} heure	5 ^{ème} heure
Contrôle	0,1 ml 1% sol.	2,45 ± 0,41	3,49 ± 0,29	4,08 ± 0,18	4,87 ± 0,44	5,29 ± 0,21
Extrait CHCl ₃	200	1,96 ± 0,32	2,45 ± 0,41	2,58 ± 0,28	2,50 ± 0,30	2,23 ± 0,10
Extrait AcOEt	200	1,60 ± 0,17	1,65 ± 0,23	1,63 ± 0,37	1,45 ± 0,17	1,11 ± 0,10
Extrait <i>n</i> -BuOH	200	1,57 ± 0,21	1,48 ± 0,49	1,46 ± 0,13	1,18 ± 0,07	0,96 ± 0,62
Diclofénac Na	50	1,52 ± 0,11	1,53 ± 0,35	1,50 ± 0,25	1,15 ± 0,05	0,94 ± 0,20

Les valeurs sont exprimées en moyenne ±Ecart type. (n = 6).

L'injection de la carragénine à 1% au niveau de la patte postérieure gauche du rat, provoque une inflammation visible dans l'heure qui suit cette injection, l'œdème augmente progressivement et atteint une intensité maximale au bout de cinq heures. Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez les groupes traités par le médicament de référence et les extraits (CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH) a été moins importante par rapport au groupe témoin.

La circonférence de la patte gauche passe de $2,45 \pm 0,41$ à $5,29 \pm 0,21$ après cinq heures du traitement (Tableau 3.3). Ces valeurs correspondent à des augmentations respectives de $41,46 \pm 2,22\%$ à $89,46 \pm 1,66\%$ après cinq heures de traitement (Figure 3.9). L'administration du diclofénac prévient de façon significative ($p < 0,001$) sur l'évolution de l'inflammation au niveau plantaire de la patte du rat à la quatrième et à la cinquième heure après l'administration de la carragénine (respectivement de $18,80 \pm 0,95\%$ et de $15,33 \pm 0,62\%$) (Figure 3.9).

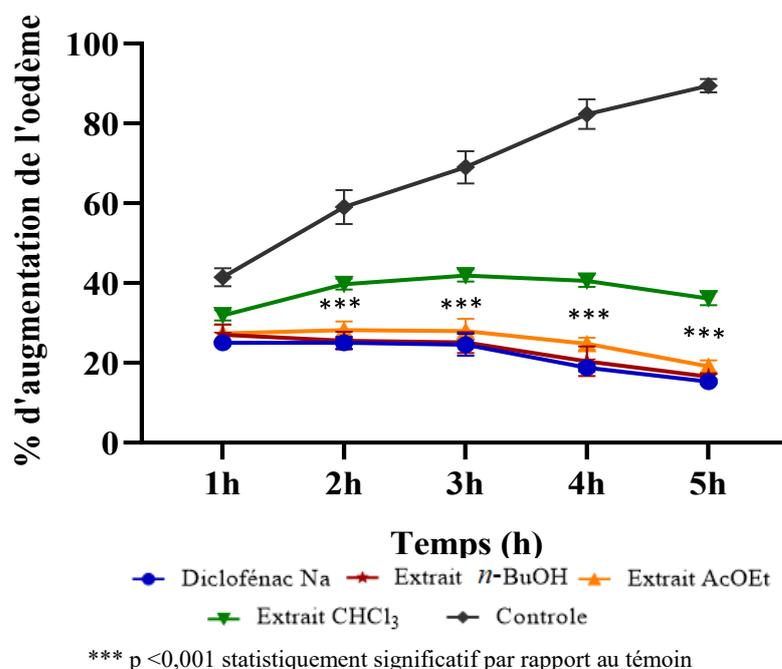


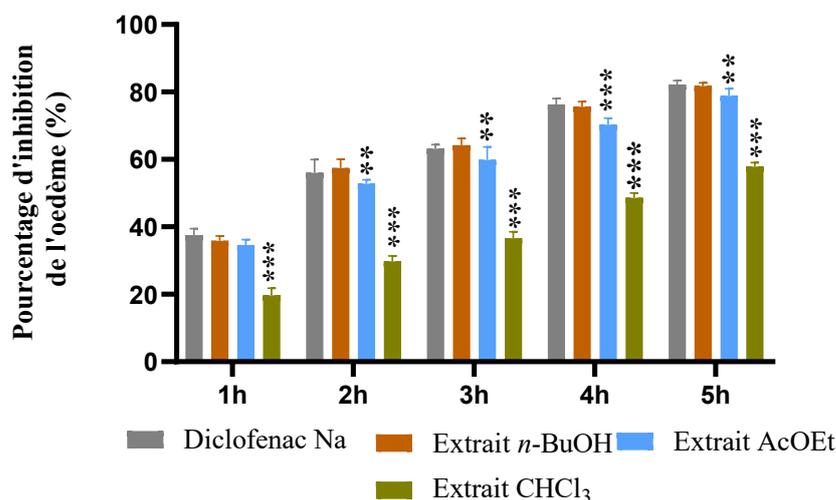
Figure 3.9 : Évolution de l'inflammation de l'œdème plantaire en fonction du temps pour les différents groupes

Le traitement par l'extrait *n*-butanol provoque un effet inhibiteur de l'inflammation important et significativement différent du contrôle ayant reçu seulement la carragénine ($p < 0,001$) et qui persiste au bout de cinq heures après l'injection de la carragénine.

De plus, l'extrait *n*-BuOH se manifeste comme celui de diclofénac, dès la première heure de l'expérimentation, avec un pourcentage de $20,40 \pm 1,73\%$ et de $16,56 \pm 0,80\%$ respectivement à la quatrième et à la cinquième heure après l'administration de la carragénine.

L'extrait d'acétate d'éthyle (AcOEt) a montré un effet anti-inflammatoire proche à celui de l'extrait *n*-BuOH pour la dose testée avec des pourcentages de $24,78 \pm 1,53\%$ et de $19,09 \pm 1,50\%$ respectivement. Contrairement au diclofénac, l'extrait CHCl_3 de notre espèce a enregistré des augmentations moins importantes du diamètre de la patte dont le maximum est mesuré trois heures après le traitement ($41,90 \pm 1,55\%$) (Figure 3.9 et Tableau 3.3).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les groupes de rats traités par le diclofénac Na et les extraits de la plante *H. articulata* est représentée dans la figure 3.10.



** p < 0,01, *** p < 0,001 statistiquement significatif par rapport au médicament de référence.

Figure 3.10 : Influence des extraits organiques de *H. articulata* sur l'œdème induit par la carragénine

L'effet de la molécule de référence (diclofénac sodique) se traduit par une réduction de l'œdème de façon progressive et atteint son maximum d'activité à la cinquième heure avec un pourcentage d'inhibition de $82,23 \pm 1,18\%$. L'extrait *n*-BuOH a montré une réduction maximale et une inhibition de l'œdème de $35,92 \pm 1,46\%$ à $81,85 \pm 0,9\%$ respectivement et similaires à l'anti-inflammatoire non stéroïdien standard.

De façon similaire, l'extrait AcOEt a réduit l'œdème de la patte de façon significative dès la première heure avec un pourcentage de réduction de $34,69 \pm 1,52\%$ et de $79,01 \pm 1,46\%$ à la cinquième heure par rapport au médicament de référence ($p < 0,01$).

Les deux extraits polaires (*n*-BuOH et AcOEt) de la plante étudiée administrés par voie orale à la dose 200 mg/kg, induisent une diminution du volume de l'œdème par rapport au témoin durant les cinq heures ce qui suggère que les deux extraits ont une action anti-inflammatoire. L'effet inhibiteur de l'extrait chloroforme ne se manifeste que dès la cinquième heure qui suit l'injection de la carragénine, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $57,84 \pm 1,15\%$ (Figure 3.10).

L'activité anti-inflammatoire des extraits organiques de l'espèce *H. articulata* est attribuée à la présence des constituants phytochimiques dans ces extraits, y compris les terpénoïdes, les polyphénols, les tanins, les stérols, les flavonoïdes et les saponines doués de propriétés antioxydante et anti-inflammatoire. Ces résultats confirment nos résultats précédemment cités, et cela est en accord avec de nombreuses études de la littérature rapportant que de nombreuses plantes contenant ces composés chimiques ont été connues pour posséder de puissantes propriétés anti-inflammatoires qui agissent par l'inhibition des voies de prostaglandine (Sosa *et al.*, 2002; Altinier *et al.*, 2007 ; Jk and Pm, 2016).

3.3.5 Évaluation de l'activité diurétique (*in vivo*)

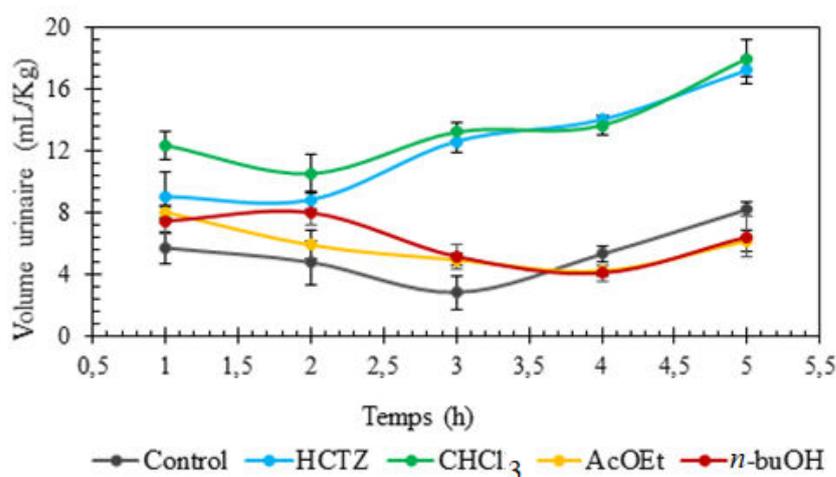
L'effet diurétique des extraits de *H. articulata* à la dose de 200 mg/kg p.o, a été évalué chez des rats sains en utilisant l'hydrochlorothiazide (HCTZ) comme médicament de référence. Les résultats de l'activité diurétique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de la plante *H. articulata* et de l'HCTZ chez le rat sont reportés dans la figure 3.11 et le tableau 3.4. Les rats du groupe de contrôle, qui reçoivent uniquement de l'eau physiologique, ont éliminés un volume urinaire total relativement faible soit $26,87 \pm 2,30$ ml/kg pendant cinq heures (Tableau 3.5).

L'administration par voie orale de l'hydrochlorothiazide (médicament de référence) à une dose de 50 mg/kg a donné un effet diurétique important dès la première heure ($9,06 \pm 1,61$ ml/kg) avec une élimination du volume d'urine total importante de $61,90 \pm 1,63$ ml/kg pendant toute la durée de traitement.

Tableau 3.4 : Activité diurétique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *H. articulata* chez le rat *albinos*

Groupe traités	Volume urinaire (ml/kg) \pm SD				
	1 st heure	2 ^{ème} heure	3 ^{ème} heure	4 ^{ème} heure	5 ^{ème} heure
Contrôle	5,72 \pm 0,99	4,78 \pm 1,44	2,83 \pm 1,09	5,31 \pm 0,51	8,22 \pm 0,47
HCTZ	9,06 \pm 1,61	8,85 \pm 0,56	12,65 \pm 0,79	14,06 \pm 0,31	17,28 \pm 0,87
Extrait CHCl ₃	12,38 \pm 0,95	10,55 \pm 1,25	13,25 \pm 0,55	13,68 \pm 0,59	18,04 \pm 1,16
Extrait AcOEt	8,04 \pm 0,39	5,90 \pm 0,20*	4,95 \pm 0,41**	4,23 \pm 0,36***	6,18 \pm 0,68***
Extrait <i>n</i> -BuOH	7,47 \pm 0,83	8,01 \pm 0,79	5,16 \pm 0,79**	4,09 \pm 0,50***	6,44 \pm 1,33**

* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 statistiquement significatif par rapport au médicament de référence.

**Figure 3.11 :** Variations de la diurèse en fonction du temps après administration par voie orale de différents extraits à une dose unique de 200 mg/kg

Le traitement par l'extrait chloroforme administré par voie orale à la dose de 200 mg/kg a montré une meilleure activité diurétique par rapport au médicament de référence (HCTZ) (Figure 3.11).

En effet, l'augmentation du débit urinaire induite par l'extrait CHCl₃ était évidente dès la première heure (12,38 \pm 0,95) et a duré jusqu'à la fin de l'expérience. L'effet maximal a été observé à la cinquième heure (18,04 \pm 1,16) (Tableau 3.4). Cela montre que l'extrait chloroforme exerce son effet diurétique dès la première heure, donc il est actif par cette voie d'administration.

De plus, le volume urinaire total des rats traités avec le même extrait était significativement supérieur à celui des rats traités par l'hydrochlorothiazide ($p < 0,05$), le médicament de référence (Tableau 3.5).

Les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol sont moins actifs comparativement à l'extrait chloroforme, ils montrent un effet diurétique proche de celui du groupe de contrôle avec un volume total d'élimination de $29,32 \pm 1,39$ et $31,18 \pm 1,61$ ml/kg respectivement.

Tableau 3.5 : Activité diurétique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *H. articulata* chez le rat *albinos*

Mdt/ Extrait	Volume urinaire total (ml/kg)	Excrétion urinaire	Index diurétique	Activité diurétique
Contrôle	$26,87 \pm 2,30^{***}$	67,17	--	--
HCTZ	$61,90 \pm 1,63$	154,75	2,30	--
<i>H. articulata</i> (CHCl ₃)	$67,91 \pm 1,10^*$	169,77	2,52	1,09
<i>H. articulata</i> (AcOEt)	$29,32 \pm 1,39^{***}$	73,30	1,09	0,47
<i>H. articulata</i> (<i>n</i> -BuOH)	$31,18 \pm 1,61^{***}$	77,95	1,16	0,50

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ statistiquement significatif par rapport au médicament de référence.

L'extrait chloroforme de l'espèce *H. articulata* a montré une activité diurétique maximale de 1,09, alors que les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol ont montré une activité diurétique faible de 0,47 et 0,50 respectivement. (Tableau 3.5). La détermination de la concentration d'électrolytes urinaires a révélé que l'extrait CHCl₃ était efficace pour augmenter les concentrations d'électrolytes urinaires pour les deux ions testés (Na⁺, K⁺) (Tableau 3.6).

Patel *et al.*, (2009) ont reporté que si la valeur de l'indice diurétique est supérieure à 1,50, cela indique une bonne activité diurétique. Alors que les valeurs de l'indice diurétique allant de 1,00 à 1,50 et de 0,72 à 0,99 démontrent une activité diurétique modérée et légère, respectivement. Une valeur d'indice diurétique inférieure à 0,72 indique une absence d'activité diurétique. Dans la présente étude, les valeurs de l'indice diurétique des groupes testés par les extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH étaient respectivement de 2,52, 1,09 et 1,16.

D'après les résultats, on peut observer que l'extrait CHCl₃ de *H. articulata* exerce une bonne activité diurétique en augmentant l'excrétion urinaire (169,77%) et en augmentant l'excrétion de sodium et de potassium par rapport au témoin.

Un bon diurétique est celui qui occasionne une forte élimination de sodium et épargne le potassium (Sanogo *et al.*, 2009). L'augmentation du volume urinaire s'est également accompagnée d'une augmentation de l'excrétion de Na⁺ similaire à l' HCTZ, diurétique standard.

Tableau 3.6 : Effet des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sur l'excrétion d'électrolytes chez le rat

Traitement	Concentration de l'électrolyte (mmol/l)			pH
	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺ /K ⁺	
Contrôle	115,23 ± 1,16	64,09 ± 2,15	1,77	7,15 ± 1,25
HCTZ	189,05 ± 2,19	78,91 ± 1,63	2,12	7,27 ± 1,70
<i>H. articulata</i> (CHCl ₃)	195,53 ± 2,32*	81,31 ± 1,79*	2,14	6,78 ± 0,47
<i>H. articulata</i> (AcOEt)	118,40 ± 2,80***	69,13 ± 1,28***	1,71	6,96 ± 0,65
<i>H. articulata</i> (<i>n</i> -BuOH)	134,91 ± 2,05***	72,73 ± 2,76***	1,69	7,57 ± 1,23

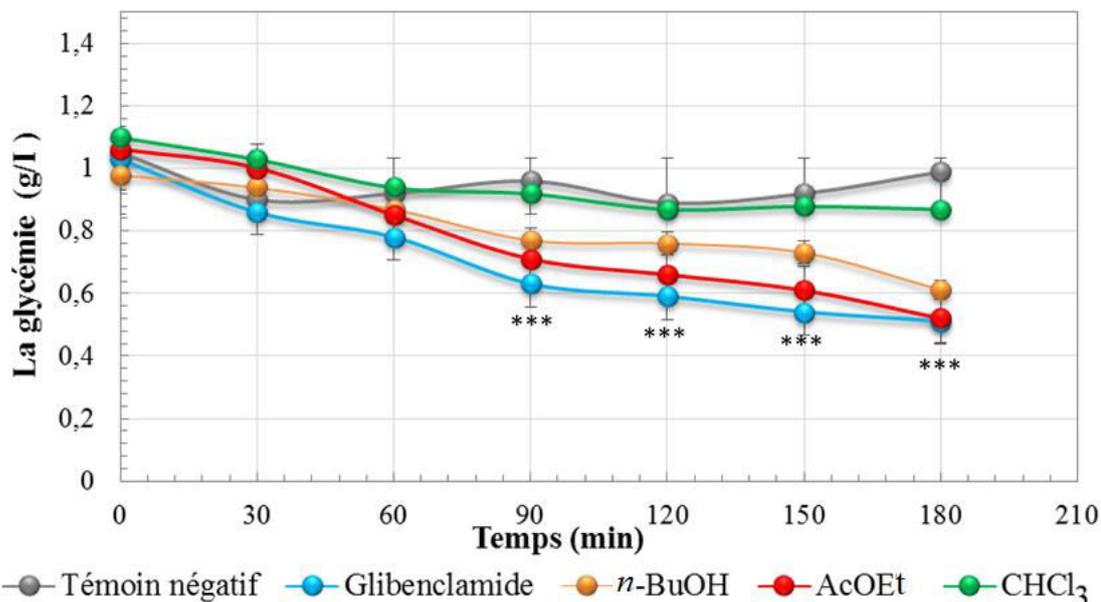
p < 0,01 et *p < 0,001 par rapport au groupe témoin positif, n=3.

Des études antérieures ont rapporté des substances phytochimiques comme les alcaloïdes, les acides organiques, les stéroïdes, les terpénoïdes, les stérols et les sesquiterpènes dans différents extraits de plantes peuvent exercer un effet diurétique (Patel *et al.*, 2009 ; Sayana *et al.*, 2014). Certains flavonoïdes exercent leur activité diurétique en se liant au récepteur A₁ de l'adénosine associé à l'action diurétique (Yuliana *et al.*, 2009). En effet, les saponines par irritation de la muqueuse rénale vont favoriser la sécrétion rénale, augmentant ainsi le volume urinaire (Bruneton, 2009 ; Rokia *et al.*, 2009).

3.3.6 Effet hypoglycémique et anti-hyperglycémique des extraits de *H. articulata* chez le rat normoglycémique

3.3.6.1 Etude de l'effet des extraits sur la glycémie de rats normoglycémiques

L'effet des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *H. articulata* administrées par voie orale à la dose de 200 mg/kg p.c, sur la glycémie à jeun des rats sains, est présenté dans la figure 3.12.



***p < 0,001 par rapport au groupe témoin (-).

Figure 3.12 : Effet des extraits organiques de *Hammada articulata* et de glibenclamide sur la glycémie des rats normoglycémiques

La glycémie reste stable au bout de 3 heures d'observation chez les rats témoins n'ayant reçu que de l'eau physiologique. La glibenclamide (substance de référence), administrée à la dose de 0,3 mg/kg p.c, entraîne une diminution de la glycémie des rats traités. Cette hypoglycémie reste significative 60 min après l'administration de glibenclamide et atteint sa valeur minimale $0,51 \pm 0,17$ g/l, 3 heures après son administration ($p < 0,001$).

De façon similaire, l'administration par voie orale des extraits AcOEt et *n*-BuOH de la plante testée à la dose de 200 mg/kg s'accompagne d'une baisse de la glycémie de façon similaire à celle de glibenclamide. Par contre, l'extrait chloroforme ne modifie pas la glycémie au bout de 3 heures du traitement par rapport au groupe témoin négatif.

Les résultats montrent une tendance vers une diminution du glucose sanguin pour les extraits AcOEt et *n*-BuOH. En effet cette dose fait varier la glycémie de 1,06 à 0,52 et de 0,98 à 0,61 g/l respectivement après administration des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol au bout de 3 heures de traitement (Tableau 3.7).

Tableau 3.7 : Evolution de la valeur moyenne de la glycémie chez des rats normoglycémiques après le traitement aux extraits de *H. articulata*

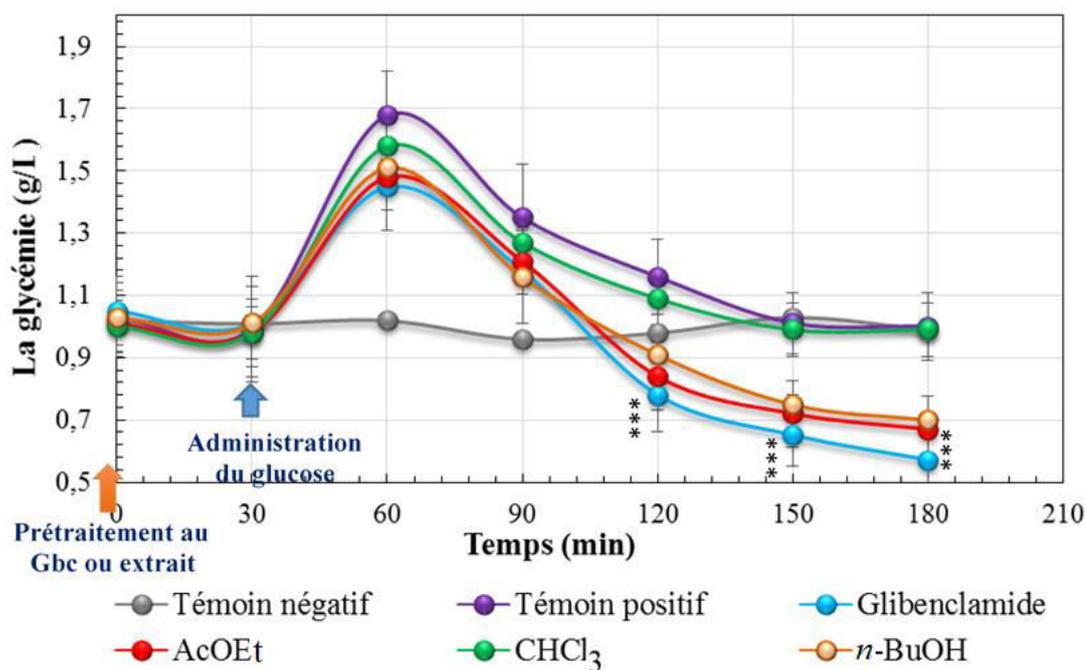
Groupes traités	Concentration du glucose (g/l) \pm SD (n=5)						
	T ₀	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Témoin (-)	1,05 \pm 0,19	0,90 \pm 0,15	0,92 \pm 0,12	1,01 \pm 0,14	0,89 \pm 0,12	0,92 \pm 0,15	0,99 \pm 0,22
Gbc	1,03 \pm 0,14	0,86 \pm 0,18	0,78 \pm 0,14	0,63 \pm 0,13	0,59 \pm 0,12	0,54 \pm 0,11	0,51 \pm 0,17
AcOEt	1,06 \pm 0,15	1,00 \pm 0,12	0,85 \pm 0,16	0,71 \pm 0,13	0,66 \pm 0,12	0,61 \pm 0,14	0,52 \pm 0,18
<i>n</i> -BuOH	0,98 \pm 0,14	0,94 \pm 0,12	0,87 \pm 0,26	0,77 \pm 0,11	0,76 \pm 0,20	0,73 \pm 0,05	0,61 \pm 0,14
CHCl ₃	1,10 \pm 0,12	1,03 \pm 0,20	0,94 \pm 0,14	0,92 \pm 0,12	0,87 \pm 0,15	0,88 \pm 0,11	0,87 \pm 0,07

Nombre de répétition n=3

3.3.6.2 Variation de la glycémie chez le rat ayant reçu le glucose

Les résultats obtenus dans l'étude de l'effet des extraits organiques de la plante *Hammada articulata* sur la variation de la concentration sanguine du glucose chez les rats normoglycémiques nous ont conduits à évaluer l'effet anti-hyperglycémiant de ces mêmes extraits par un test de tolérance au glucose. L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats à la dose de 4 g/kg p.c, 30 minutes après l'administration orale de différents extraits organiques de la plante étudiée.

L'activité hypoglycémiante des extraits de *H. articulata* a été évaluée sur la glycémie à jeun chez des rats normaux, suite à une surcharge orale en glucose. Une hyperglycémie a été observée après une demi-heure chez les rats traités par le médicament et les extraits de *H. articulata* et aussi chez les rats du groupe témoin positif. En revanche, ce pic n'a pas été détecté chez les rats non traités qui reçoivent seulement de l'eau physiologique. La figure 3.13 présente les variations de la glycémie des rats dans un test de tolérance au glucose. La glycémie est mesurée toutes les 30 minutes, pendant 3 heures. Chez les rats du témoin positif, l'administration par voie orale de glucose après prétraitement à l'eau physiologique (4 ml/kg) entraîne une hyperglycémie avec un pic qui apparaît au bout de 30 minutes (1,68 \pm 0,17 g/l), correspondant à une variation de la glycémie qui est de 0,65 g/l (Tableau 3.8). Cette hyperglycémie est toutefois transitoire et diminue progressivement et la glycémie basale est retrouvée 3 heures après l'administration du glucose.



***p < 0,001 par rapport au groupe témoin (+).

Figure 3.13 : Évolution en fonction du temps de la glycémie chez des rats hyperglycémiques prétraités avec la glibenclamide et les extraits de *H. articulata*

Par ailleurs, une activité anti-hyperglycémiant significative a été obtenue pour les rats traités par les extraits acétate d'éthyle, *n*-butanol et la glibenclamide montrant une baisse progressive de la glycémie de base au bout de 3 heures par rapport au groupe témoin ($p < 0,001$). Le pic de la glycémie a été réduit et suivi par une chute rapide au-dessous de la valeur de base au bout d'une heure (Figure 3.13). Par contre, l'administration par voie orale de l'extrait chloroforme de *H. articulata* à la dose 200 mg/kg a diminué légèrement le pic de la glycémie ($1,58 \pm 0,12$ g/l) induite par le glucose par rapport aux groupes traités par la glibenclamide et les autres extraits de la même plante.

Par la suite, l'hyperglycémie est progressivement réduite et se stabilise autour de $0,99 \pm 0,11$ g/l au bout de 3 heures après l'administration du glucose, alors que les extraits AcOEt et *n*-BuOH ont réduit la glycémie après 3 heures jusqu'à 0,67 g/l et 0,7 g/l respectivement.

En revanche, l'administration des extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol entraîne une baisse de la glycémie respectivement de 50% et de 45,83% au terme de la première heure suivant le traitement. Cette réduction s'est élevée à 60,12% pour l'extrait acétate d'éthyle et de 58,33% pour l'extrait *n*-butanol au bout de 2 heures suite au gavage oral par le glucose.

Tableau 3.8 : Evolution en fonction du temps de la valeur moyenne de la glycémie chez des rats hyperglycémiques après le traitement aux extraits de *H. articulata*

Groupes traités	Concentration du glucose \pm SD (g/l)						
	T ₀	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Témoin (-)	1,02 \pm 0,13	1,01 \pm 0,15	1,02 \pm 0,16	0,96 \pm 0,13	0,98 \pm 0,12	1,03 \pm 0,11	0,99 \pm 0,21
Témoin (+)	1,03 \pm 0,11	0,98 \pm 0,17	1,68 \pm 0,14	1,35 \pm 0,17	1,16 \pm 0,12	1,01 \pm 0,10	1,00 \pm 0,11
Glibc	1,05 \pm 0,11	1,01 \pm 0,12	1,45 \pm 0,08	1,18 \pm 0,13	0,78 \pm 0,20	0,65 \pm 0,13	0,57 \pm 0,12
AcOEt	1,01 \pm 0,16	0,98 \pm 0,17	1,48 \pm 0,14	1,21 \pm 0,15	0,84 \pm 0,12	0,72 \pm 0,14	0,67 \pm 0,11
n-BuOH	1,03 \pm 0,12	1,01 \pm 0,20	1,51 \pm 0,11	1,16 \pm 0,12	0,91 \pm 0,15	0,75 \pm 0,11	0,70 \pm 0,09
CHCl₃	1,04 \pm 0,12	1,02 \pm 0,12	1,58 \pm 0,14	1,27 \pm 0,15	1,09 \pm 0,12	0,98 \pm 0,14	0,99 \pm 0,11

L'effet hypoglycémiant de l'extrait acétate d'éthyle étant plus significatif parmi les extraits de *H. articulata* ($p < 0,001$). (Figure 3.13).

Les extraits AcOEt et *n*-BuOH sont capables de diminuer l'hyperglycémie, en améliorant la tolérance orale au glucose chez les rats normaux. Ces deux extraits ont provoqué une baisse de la glycémie de base de manière drastique au bout de 3 heures comparativement au témoin positif et similaire à l'effet de la glibenclamide.

Les constituants phytochimiques peuvent intervenir en inhibant l'absorption intestinale du glucose, en favorisant l'utilisation du glucose par le muscle et les tissus adipeux, ou en stimulant la sécrétion de l'insuline par le pancréas (Alsahli and Gerich, 2017).

En effet, sur le plan phytochimique de notre étude, plusieurs études ont décrit que les composés les plus soupçonnés appartiennent aux familles des alcaloïdes, des flavonoïdes et des saponines agissent en synergie, et interviennent comme inhibiteurs dans l'absorption intestinale du glucose, ou sur la stimulation de la sécrétion de l'insuline ou une amélioration de l'utilisation périphérique du glucose (Alsahli and Gerich, 2017).

La quercétine, qui est un polyphénol de la famille des flavonoïdes, a fait l'objet de nombreuses études sur un modèle de rat diabétique dont le diabète a été induit par la streptozotocine, diminue la glycémie et améliore la tolérance au glucose (Vessal *et al.*, 2003).

La kaempférol possède les propriétés de baisser le taux de glucose sanguin et du glucose dans le muscle soléaire du rat et aussi améliore la sécrétion de l'insuline (**Vinayagam and Xu, 2015**).

De plus, des propriétés antidiabétiques ont également été attribuées au resvératrol lors d'études *in vivo* et *in vitro*. L'administration orale de resvératrol (5 mg/kg/jour pendant 30 jours) permettrait de normaliser l'hyperglycémie chez des rats diabétiques (**Palsamy and Subramanian, 2008 ; Lee et al., 2012**).

3.4 Conclusion et perspectives

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que l'espèce *Hammada articulata*, est une plante médicinale à activité diurétique, anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiante. Nos résultats sont remarquables car ils ouvrent des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre de poursuivre cette étude par des analyses phytochimique et pharmacologique, plus approfondies afin de mieux déterminer les composés bioactifs responsables de ces activités et évaluer leur efficacité, leur innocuité et leur synergie potentielle.

Chapitre 4

*Etude de l'inhibition des substances naturelles contre la
corrosion de l'acier en milieu acide*

4.1 Introduction

Ce chapitre est consacré à l'évaluation du pouvoir inhibiteur des substances naturelles présentes dans la plante *Hammada articulata* contre la corrosion de l'acier inoxydable 316L en milieu acide. L'efficacité inhibitrice sera évaluée en utilisant trois techniques indépendantes ; la méthode gravimétrique (la mesure de perte de masse), la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique. Puis, nous avons calculé certains paramètres thermodynamiques du processus d'adsorption (ΔG^0_{ads}) à partir de l'isotherme d'adsorption.

Notre étude est divisée en deux parties ; la première partie est consacrée à l'étude électrochimique des extraits organiques issus de notre plante comme inhibiteurs verts de la corrosion de l'acier inoxydable 316L en milieu HCl 1 M.

Le deuxième volet du présent travail a été consacré à l'étude de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle de *Hammada articulata* sur le même métal mais dans le milieu acide chlorhydrique 0,5 M. Une étude comparative des efficacités inhibitrices obtenues à partir de l'étude électrochimique a été réalisée.

4.2 Conditions expérimentales

Le matériau utilisé comme électrode de travail dans cette étude est l'acier inoxydable 316L (AI 316L) dont la composition chimique est donnée dans le tableau 4.1. (Korinko and Malene, 2001).

Tableau. 4.1 : Composition chimique de l'acier inoxydable 316L en % massique

Elément	C	P	S	Cu	Mn	Si	Mo	Ni	Cr	Fe
Teneur (%)	0,02	0,054	0,02	0,2	1,0	1,0	3,0	11,03	16,01	balance

Les coupons de l'acier de dimensions 1 cm x 1 cm x 0,1 cm, ont été utilisés comme électrode de travail pour les mesures électrochimiques. Afin d'obtenir des résultats fiables et reproductibles, l'électrode du travail subit avant chaque manipulation, un prétraitement, qui consiste en un polissage de la surface par un papier abrasif de granulométrie de plus en plus fine : du papier de carbure de silicium (SiC) de grade 120, 600 et 1200, suivie d'un rinçage avec de l'eau distillée puis un dégraissage dans l'acétone et enfin un séchage sous flux d'air.

La solution agressive utilisée est constituée d'une solution d'acide chlorhydrique à deux concentrations 1 M et 0,5 M.

Pour les trois extraits (CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH) de la plante *H. articulata*, nous avons utilisé la solution d'acide chlorhydrique 1 M. La gamme de concentrations utilisée varie de 250 à 1000 ppm pour les différents extraits. Cette gamme de concentrations a été déterminée après une étude de la solubilité de l'inhibiteur dans le milieu corrosif.

L'huile essentielle obtenue à partir de la partie aérienne de la plante *Hammada articulata* a été testée comme inhibiteur de la corrosion de l'AI 316L dans la solution corrosive HCl 0,5 M à différentes concentrations (300 ppm, 600 ppm, 800 ppm et 1000 ppm).

4.2.1. Etude gravimétrique

Les mesures de pertes de masse sont une première approche de l'étude de l'inhibition de la corrosion d'un métal dans une solution électrolytique. Cette méthode présente l'avantage d'être facile à mettre en œuvre et ne nécessite pas un appareillage important, seulement une balance analytique précise à quatre chiffres décimales, un thermostat qui permet de maintenir l'électrolyte à température constante $T = 25^\circ\text{C}$.

Les coupons de l'acier sont pesés avant et après l'immersion dans la solution d'acide chlorhydrique. Pour chaque extrait (et pour l'huile), quatre concentrations sont étudiées. La variation de la masse est déterminée après 72 h d'immersion dans la solution corrosive, après addition de différentes concentrations des extraits (ou de l'huile) de la plante testée. La vitesse de corrosion est déterminée après 72 h d'immersion à température constante.

4.2.2. Études électrochimiques

Contrairement aux techniques gravimétriques, les mesures électrochimiques représentent une technique plus complète puisqu'elles étudient la base du phénomène de corrosion *via* un processus électrochimique. Pour cette raison, nous avons travaillé sur l'approchement des processus qui peuvent intervenir lors de la corrosion de l'acier 316L en milieu acide en utilisant les trois extraits organiques ainsi que l'huile obtenus à partir de la partie aérienne de *H. articulata* par mesures des courbes courant-potentiel et la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Les expériences électrochimiques sont effectuées à l'aide d'un potentiostat de marque *Solartron 1287*, piloté par un ordinateur, d'un bain thermostaté constitué d'une résistance chauffante et d'un thermomètre de contact permettant de contrôler la température.

Le traitement des données a été réalisé par un logiciel type CorrWare® permettant de suivre l'évolution du potentiel en fonction du temps ainsi que les tracés des courbes de polarisation électrochimiques. Le montage est schématisé par la figure 4.1.



Figure 4.1 : Dispositif de mesure électrochimique

La cellule cylindrique de mesure électrochimique utilisée est, à double paroi en verre pyrex d'une capacité de 100 ml. Avant chaque expérience, la cellule a été nettoyée par l'éthanol, rincée à l'eau distillée et séchée. Cette cellule est équipée d'un montage conventionnel à trois électrodes à savoir :

- Une électrode de travail (ET) en AI 316L d'une surface carrée mesurant 1 cm².
- Une électrode auxiliaire (contre électrode) en platine (CE)
- Une électrode de référence au calomel saturée Hg / Hg₂Cl₂ / KCl (ECS). Elle présente un potentiel de + 0,241 V par rapport à l'électrode standard d'hydrogène.

L'électrode de travail a été placée au fond de la cellule à trois électrodes en face de la contre électrode (Figure 4.2).

Les courbes Intensité-Potentiel sont obtenues en mode potentiodynamique en utilisant la méthode de Tafel, à faible vitesse de balayage de 1 mV/s, après une heure d'immersion de l'électrode dans la solution corrosive avec et sans inhibiteur.

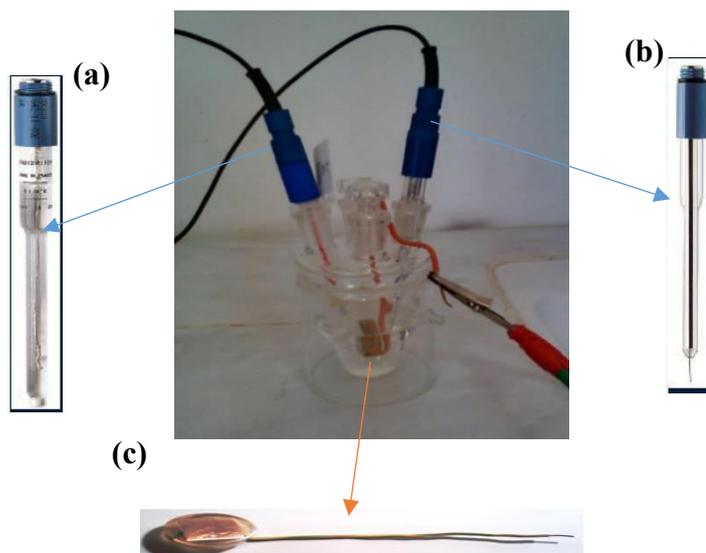


Figure 4.2 : Cellule électrochimique à trois électrodes comprenant une électrode de référence (a), une contre-électrode (b) et une électrode de travail (c)

Cette valeur de la vitesse de balayage permet d'une part d'avoir une approche valable de l'état stationnaire et d'autre part elle épargne la modification du milieu corrosif et l'éventuelle détérioration de la surface de l'électrode de travail. Le domaine du potentiel exploré est de -600 à $+200$ mV/ECS.

Le tracé des courbes intensité-potentiel permet la détermination du potentiel de corrosion (E_{corr}), la résistance de polarisation (R_p), la densité de courant de corrosion (I_{corr}), les pentes cathodiques (b_c) et anodiques (b_a) de Tafel.

L'efficacité inhibitrice a été déterminée à l'aide d'une méthode électrochimique basée sur l'exploitation des courbes courant-potentiel stationnaire en mode potentiodynamique dans le domaine anodique et cathodique.

Les spectres d'impédance obtenus au potentiel de corrosion (E_{corr}) sont enregistrés après une demi-heure d'immersion pour les différents extraits testés (ou HE) en utilisant un analyseur de fréquence de marque *Solartron* 1260, piloté par un logiciel *Zplot*[®] et qui fonctionne dans une gamme de fréquence de 10^{-3} Hz– 10^6 Hz et peut délivrer une tension sinusoïdale d'amplitude ajustable.

4.3 Résultats et discussion

4.3.1 Utilisation des extraits organiques de l'espèce *H. articulata* comme des inhibiteurs verts de la corrosion de l'Al 316L

Dans cette partie de notre travail, les trois extraits (CHCl_3 , AcOEt, et *n*-BuOH) de *Hammada articulata* ont été testés pour leur effet inhibiteur sur la corrosion de l'acier inoxydable 316L dans un milieu HCl 1 M. Nous avons utilisé trois techniques expérimentales indépendantes ; la méthode gravimétrique, la méthode de polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique.

4.3.1.1 Etude gravimétrique

Une des premières démarches suivies pour connaître le comportement inhibiteur/métal, est la mesure de la vitesse de corrosion (V_{corr}) par la méthode gravimétrique. Dans le but de vérifier les effets de la concentration inhibitrice des trois extraits (CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH) sur la corrosion de l'acier inoxydable 316L, une série d'expériences a été menée en utilisant quatre gamme de concentrations pour chaque extrait ; 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm et 1000 ppm. Dans cette étude, des mesures de perte de masse ont été effectuées dans un milieu HCl 1 M en absence et en présence de différentes concentrations d'inhibiteurs, pour les trois extraits étudiés, à température constante pour une durée d'immersion de 72 heures.

L'efficacité inhibitrice E_I (%) a été calculée à partir de l'équation (1.4) présentée dans le chapitre 1. Les valeurs de E_I (%) et de V_{corr} obtenues à partir de la méthode de perte de masse à différentes concentrations d'extraits sont représentées dans le tableau 4.2.

La figure 4.3 représente la variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité inhibitrice de l'acier dans le milieu corrosif en présence et en absence de différentes concentrations de l'inhibiteur.

Les résultats montrent clairement que les extraits : chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *H. articulata* inhibent la corrosion de l'acier dans le milieu acide pour toutes les concentrations utilisées dans cette étude. En effet, la valeur de l'efficacité inhibitrice augmente tandis que la vitesse de la corrosion diminue avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur.

Tableau 4.2 Influence de la concentration de l'inhibiteur sur la vitesse de corrosion (V_{corr}) de l'AI 316L et sur l'efficacité inhibitrice (E_I) après une durée d'immersion de 72 h

Inhibiteur	Concentration (ppm)	V_{corr} (mg h⁻¹ cm⁻²)	θ	E_I (%)
Blanc	--	0,222	--	--
Extrait CHCl₃	250	0,106	0,5225	52,25
	500	0,057	0,7432	74,32
	750	0,031	0,8595	85,95
	1000	0,021	0,9054	90,54
Extrait AcOEt	250	0,076	0,6576	65,76
	500	0,034	0,8468	84,68
	750	0,017	0,9234	92,34
	1000	0,008	0,9640	96,40
Extrait n-BuOH	250	0,101	0,5450	54,50
	500	0,046	0,7928	79,28
	750	0,020	0,9100	91,00
	1000	0,011	0,9504	95,04

A la lumière de ces résultats, il apparaît que les deux extraits AcOEt et *n*-BuOH ont un pouvoir inhibiteur plus important que l'extrait CHCl₃. En effet, à la concentration de 1000 ppm, l'extrait AcOEt et l'extrait *n*-BuOH présentent respectivement une efficacité maximale de 96,40 et 95 %, alors que l'efficacité de l'extrait CHCl₃ ne dépasse pas 90 % pour la même concentration.

Les résultats de perte masse montrent que le pouvoir inhibiteur augmente avec l'augmentation de la concentration de chaque extrait. L'efficacité d'inhibition de différents extraits suit la tendance : AcOEt > *n*-BuOH > CHCl₃.

Il est bien connu que la présence d'un inhibiteur en milieu corrosif peut ralentir la vitesse de corrosion de l'acier en agissant sur l'interface métal/solution par formation d'une couche protectrice à la surface métallique (Obot *et al.*, 2012 ; Zea *et al.*, 2018).

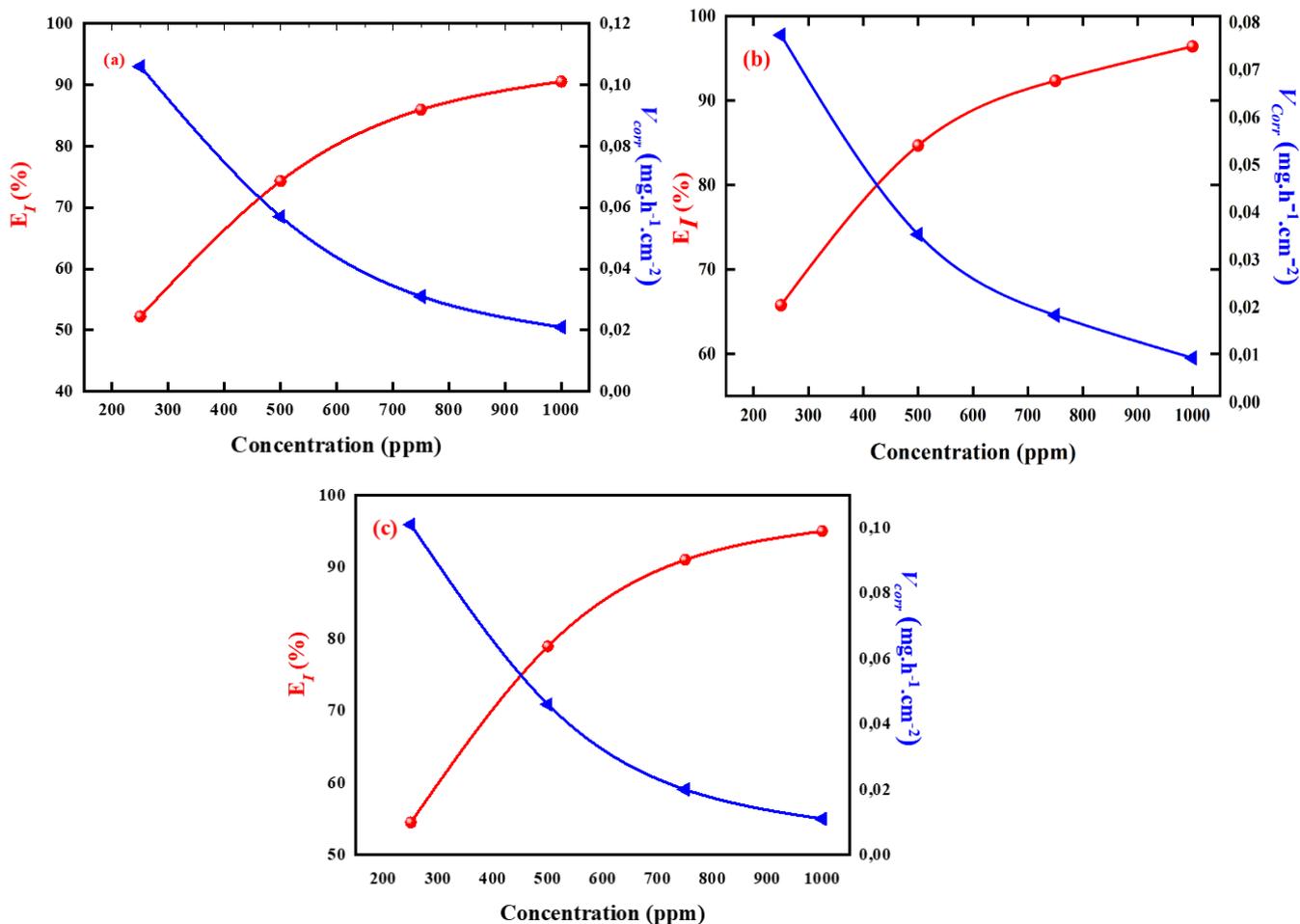


Figure 4.3 : Variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité inhibitrice de l'AI 316L en présence de l'extrait (a) $CHCl_3$, (b) AcOEt, (c) n -BuOH en milieu HCl 1 M

4.3.1.2 Etudes électrochimiques

Dans cette partie, nous exposerons les résultats obtenus par la méthode de polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimiques de l'acier inoxydable 316L en milieu HCl 1 M en absence et en présence de différentes concentrations en extraits $CHCl_3$, AcOEt et n -BuOH de la plante étudiée.

4.3.1.2.1 Suivi du potentiel de corrosion au cours du temps

Le potentiel en circuit ouvert (OCP) est un paramètre thermodynamique qui indique la tendance thermodynamique d'un matériau métallique à participer aux réactions de corrosion électrochimique avec le milieu environnant (Riskin, 2008).

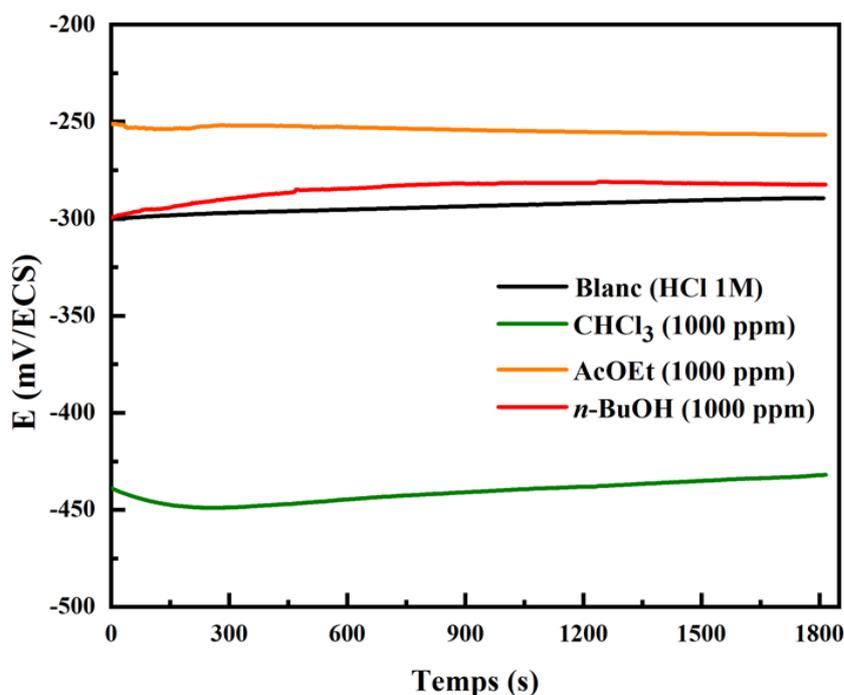


Figure 4.4 : Suivi du potentiel de corrosion de l'Al 316L dans HCl 1 M avec et sans inhibiteurs

La figure 4.4 présente l'évolution du potentiel de corrosion (E_{corr}) en fonction de la période d'immersion des différents extraits de l'espèce étudiée. Les courbes obtenues pour la concentration de 1000 ppm ont été comparées à une courbe de référence obtenue sans inhibiteur (HCl 1 M). L'essai du potentiel libre permet de connaître le temps d'immersion nécessaire pour établir les conditions de régime permanent, ce qui est essentiel pour l'essai de la polarisation. Cependant, les paramètres mesurés ne fournissent pas d'informations sur la cinétique et le taux de corrosion.

En présence de l'extrait *n*-BuOH, le potentiel de corrosion (E_{corr}) tend à se stabiliser à une valeur de -300 mV/ECS après 30 minutes d'immersion. Lorsque les essais sont conduits en présence de l'extrait AcOEt, on observe un léger déplacement de E_{corr} vers des valeurs plus positives comparativement au blanc.

La présence de l'extrait CHCl₃ influence sur l'évolution du potentiel libre dans le milieu corrosif. Cette influence se manifeste par le déplacement des valeurs de E_{corr} vers des valeurs plus négatives. Pendant les premiers moments d'immersion, une chute légère du potentiel en circuit ouvert vers des valeurs négatives se produit, puis il commence à se stabiliser, jusqu'à atteindre une valeur stable.

4.3.1.2.2 Courbes de polarisation potentiodynamique

La méthode consiste à imposer à la solution une tension donnée par rapport à l'électrode de référence, et à mesurer la densité de courant résultante traversant l'électrode de travail. Les courbes de polarisation permettent de caractériser le comportement électrochimique de l'inhibiteur dans le milieu corrosif et d'appréhender l'éventuelle formation du film inhibiteur (Kumari *et al.*, 2017).

Les paramètres électrochimiques respectifs, y compris la densité de courant de corrosion (I_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}) et l'efficacité d'inhibition (E_I %) sont présentés dans le tableau 4.3.

Les courbes courant-potentiel résultant de la polarisation cathodique et anodique de l'acier inoxydable 316L dans HCl 1 M, en absence et en présence de différentes concentrations des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *Hammada articulata* sont présentées dans la figure 4.5.

Les paramètres électrochimiques tels que la densité de courant de corrosion (I_{corr}) et le potentiel de corrosion (E_{corr}) ont été calculés à partir de l'intersection des pentes de Tafel anodique et cathodique des courbes de polarisation (Znini *et al.*, 2012). À partir des mesures de données de polarisation électrochimique, il apparaît que la densité de courant de corrosion (I_{corr}) diminue considérablement avec l'augmentation de la concentration jusqu'à atteindre les valeurs minimales 2,08 ; 0,74 et 1,08 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ à la concentration de 1000 ppm (concentration optimale) pour les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH de *H. articulata*, respectivement.

Cependant, l'efficacité inhibitrice (E_I) de ces inhibiteurs verts a été augmentée avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur, atteignant 90,20%, 96,51% et 94,91% à 1000 ppm pour les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH respectivement.

Le paramètre θ , qui représente le taux de recouvrement de la surface métallique par les molécules inhibitrices présentes dans les extraits, a été déterminé comme indiqué dans le chapitre 1, par l'équation 1.5. Bien évidemment, θ augmente avec l'augmentation de la concentration en extrait.

Tableau 4.3 : Paramètres électrochimiques obtenus à partir des courbes de Tafel de l'AI 316L dans HCl 1 M en présence de différentes concentrations des extraits de *H. articulata*

Inhibiteur	C (ppm)	-E _{corr} (mV/ECS)	I _{corr} (µA/cm ²)	R _p (Ω cm ²)	θ	E _I (%)
Blanc	--	312	21,22	4653	--	--
	250	358	9,77	8493	0,539	53,96
CHCl ₃	500	450	4,97	15580	0,7657	76,57
	750	475	3,36	24260	0,841	84,16
	1000	505	2,08	39005	0,895	90,20
	250	286	7,36	11217	0,653	65,31
AcOEt	500	278	2,60	26250	0,877	87,75
	750	233	1,46	47190	0,931	93,12
	1000	251	0,74	67737	0,965	96,51
	250	303	9,92	8247	0,532	53,25
n-BuOH	500	305	3,21	24096	0,848	84,87
	750	309	1,80	45393	0,915	91,52
	1000	307	1,08	60674	0,949	94,91
	250	303	9,92	8247	0,532	53,25

Les valeurs de la résistance de polarisation (R_p) de l'acier dans HCl 1 M en absence et en présence de différentes concentrations des inhibiteurs testés sont également présentées dans le tableau 4.3. La résistance de polarisation étant inversement proportionnelle à la densité de courant de corrosion et augmente avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur.

En général, une première analyse de ces courbes, montre que les réactions sont affectées par l'ajout de l'inhibiteur vert. En effet, les réactions anodique et cathodique d'un acier dans une solution acide aérée sont caractérisées par l'oxydation de l'acier et par la réduction de l'hydrogène dissous dans le milieu.

En plus, l'ajout de l'inhibiteur en solution HCl 1 M réduit la dissolution anodique et retarde également la réaction de dégagement d'hydrogène. Le mécanisme de dissolution anodique du fer qui a été rapporté pour la corrosion de l'acier dans des solutions HCl est présenté dans les réactions suivantes (Moretti *et al.*, 2013) :



Alors que les étapes de dégagement cathodique de l'hydrogène en milieu acide sont :

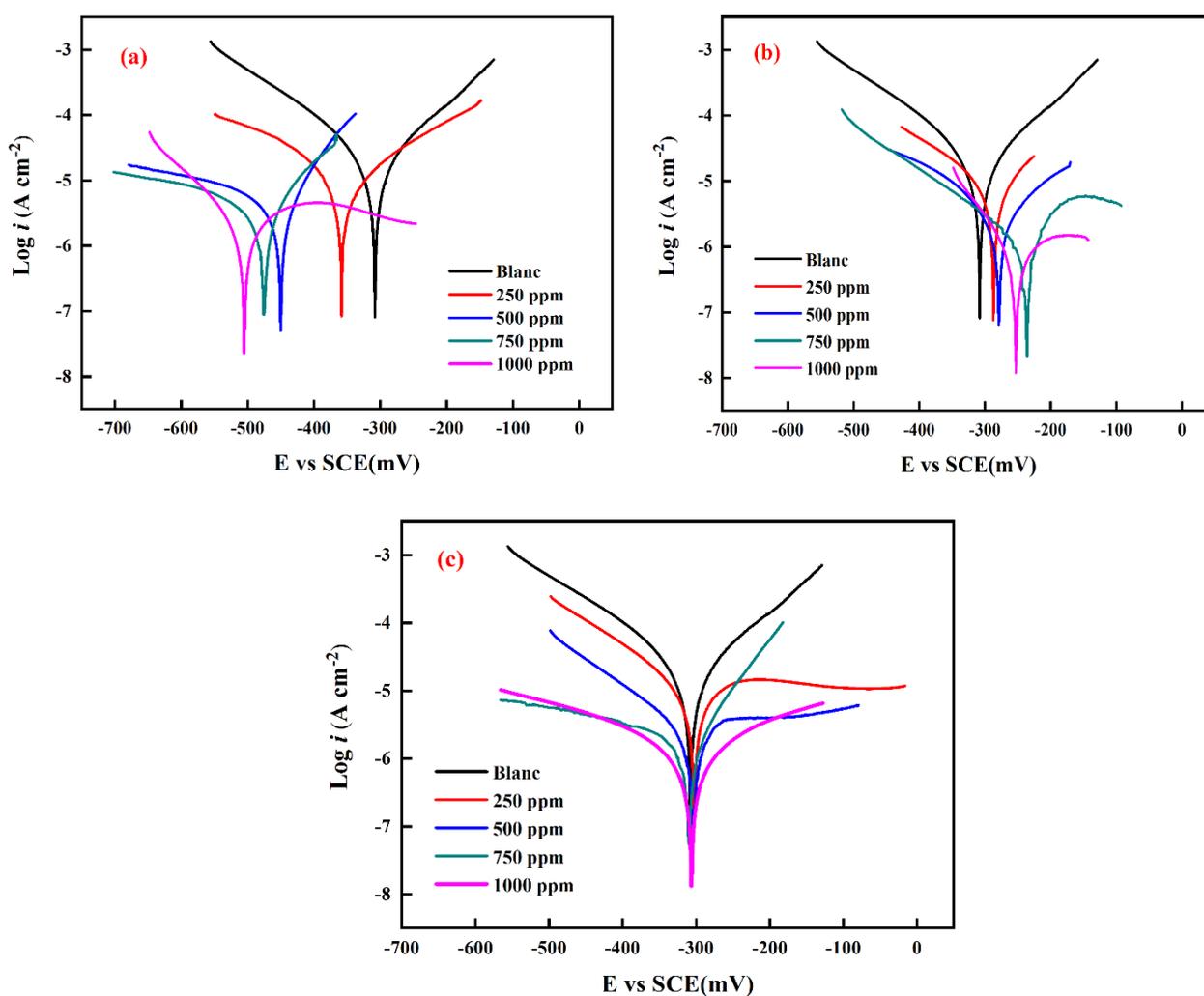


Figure 4.5 : Courbes de polarisation de l'Al 316L en milieu HCl 1 M contenant les extraits : (a) CHCl_3 , (b) AcOEt , (c) $n\text{-BuOH}$ à différentes concentrations

L'inhibiteur cathodique bloque la réaction de réduction ce qui entraîne la diminution de la densité de courant cathodique et le déplacement du potentiel de corrosion dans le sens négatif. Par contre l'inhibiteur anodique bloque la réaction d'oxydation, ce qui conduit à une diminution de la densité de courant de dissolution du métal, et le déplacement du potentiel de corrosion dans le sens positif et l'adsorption a lieu sur les sites anodiques (**Revie *et al.*, 2000 ; Bai and Bai, 2014**).

On relève donc, que nos extraits, réduisent à la fois la dissolution anodique de l'acier et retarde l'évolution de la décharge cathodique en hydrogène. Le phénomène d'inhibition observé est, généralement, décrit comme étant dû à la formation d'une couche d'inhibiteur adsorbée à la surface de l'électrode.

Selon la littérature, un inhibiteur peut être classé comme de type cathodique ou anodique si le déplacement du potentiel de corrosion en présence de l'inhibiteur est supérieur à 85 mV/ECS, en valeur absolue, par rapport à celui en absence de l'inhibiteur (**Alibakhshi *et al.*, 2018**).

D'après les courbes de polarisation de la figure **4.5 (a)**, on peut conclure que l'addition de l'extrait CHCl₃ dans le milieu corrosif déplace le potentiel de corrosion vers des valeurs plus négatives (déplacement cathodique jusqu'à 193 mV/ECS pour la concentration de 1000 ppm). Cela signifie que l'extrait chloroforme peut être classé comme inhibiteur de type cathodique (**Hewlett *et al.*, 2019**).

Les courbes de polarisation de la figure **4.5 (b)** montrent que l'ajout de l'extrait AcOEt à différentes concentrations, provoque un déplacement du potentiel vers des valeurs plus anodiques et conduit à une diminution des densités de courant de corrosion anodiques. D'après les résultats du tableau **4.3**, le déplacement maximal de la valeur E_{corr} était de 61 mV/ECS vers la région anodique. On peut conclure que l'extrait AcOEt peut être classé comme un inhibiteur de type mixte avec une prédominance de caractère anodique.

De plus, il a été observé que la présence de l'extrait *n*-BuOH à différentes concentrations dans la solution acide ne modifie pas le potentiel de corrosion de l'acier (une faible différence entre les potentiels de corrosion avec et sans inhibiteur ne dépasse pas 3 mV) (Figure **4.5 (c)**). On peut dire que l'extrait *n*-butanol peut être classé comme un inhibiteur de type mixte.

En effet, l'inhibiteur joue un rôle important dans la protection de l'acier contre la corrosion. Cette protection est observée dans les trois milieux d'études.

Ce qui suggère que les molécules inhibitrices forment une couche adsorbée sur la surface de l'acier en bloquant ainsi le processus de corrosion. L'allure des courbes de polarisation obtenues dépend des processus physico-chimiques responsables des phénomènes de corrosion (**Hossain et al., 2020**).

Les valeurs de l'efficacité inhibitrice (E_I %) calculées sont en bon accord avec celles obtenues à partir des mesures de perte de masse (Tableau 4.3). Pour les quatre concentrations étudiées, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait *n*-butanol sont légèrement plus efficace que l'extrait chloroforme. Ceci peut être attribué, soit à la teneur la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits AcOEt et *n*-BuOH, soit à la composition chimique riche en alcaloïdes pour l'extrait CHCl_3 . On note d'après nos résultats, que les trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol pourraient être considérés comme de bons inhibiteurs verts de corrosion de l'acier inoxydable 316L en milieu acide.

4.3.1.2.3 Spectroscopie d'impédance électrochimique

Afin d'obtenir des informations sur la cinétique de la corrosion de l'acier en présence des extraits végétaux étudiés, le processus électrochimique se déroulant au potentiel de circuit ouvert a été examiné par spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE).

Dans ce sens, les diagrammes de Nyquist de l'acier 316L immergé dans la solution acide sans et avec addition de différentes concentrations des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sont représentés dans la figure 4.6. Ces diagrammes sont obtenus après 30 minutes d'immersion en circuit ouvert. Les valeurs des paramètres électrochimiques et de l'efficacité inhibitrice E_I (%) des extraits testés pour la même gamme de concentration sont regroupées dans le tableau 4.4.

Selon la figure 4.6 (A), des demi-boucles inachevées ont été observées pour l'acier immergé dans la solution HCl contenant différentes concentrations de l'extrait chloroforme. En revanche, l'introduction progressive de l'inhibiteur dans la solution agressive provoque une augmentation de la taille des boucles qui a été attribué au processus de transfert de charge qui se produit à l'interface métal/électrolyte ou lié à la propriété du film passif de surface (**Ningshen et al., 2009 ; Boudalia et al., 2013**)

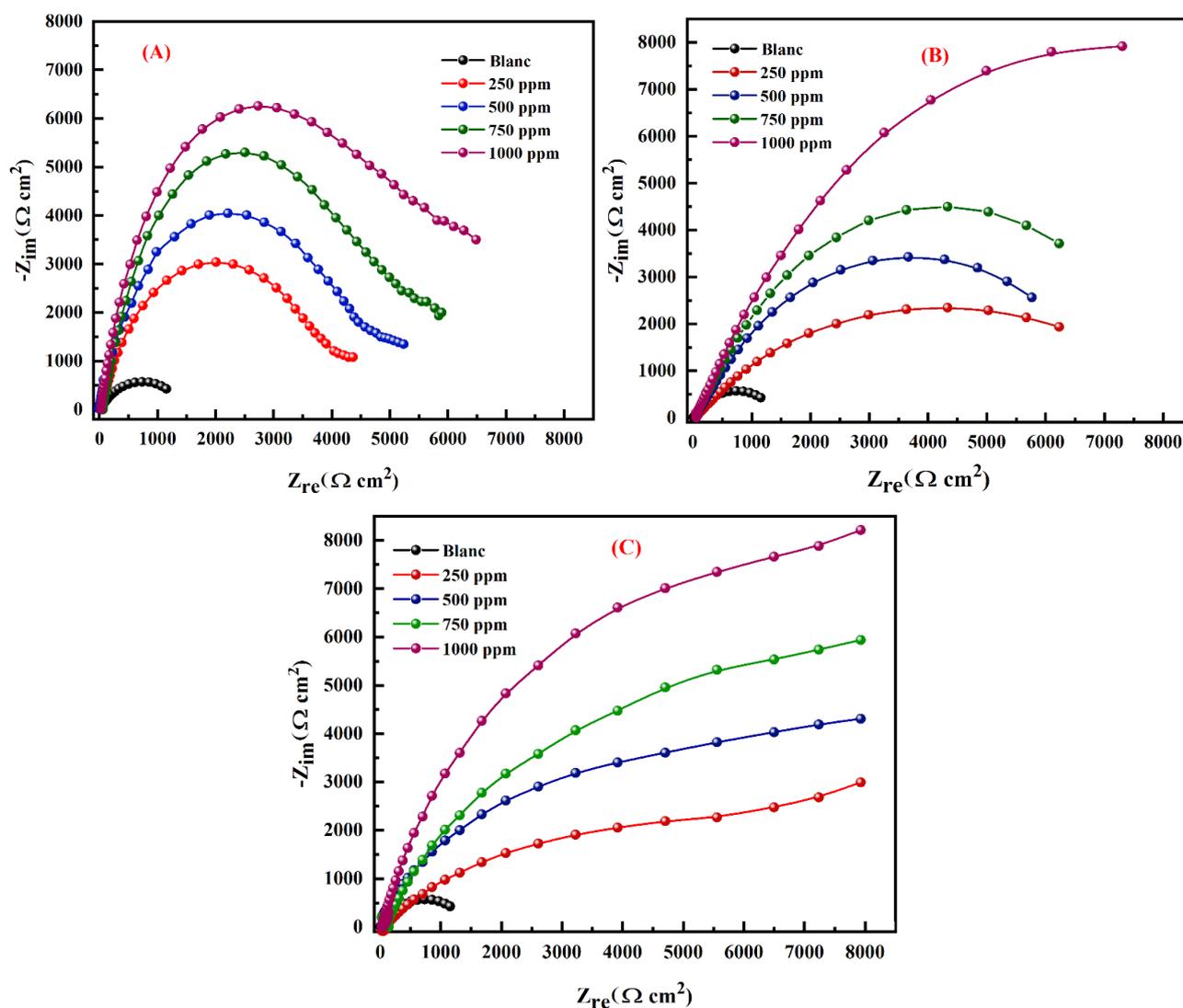


Figure 4.6 : Diagramme de Nyquist de l'acier 316L dans HCl 1 M contenant les extraits : (A) CHCl_3 , (B) AcOEt et (C) $n\text{-BuOH}$ à différentes concentrations

En effet, l'évolution des diagrammes de l'impédance électrochimique en fonction de la concentration en extrait chloroforme a été analysée en simulant les données expérimentales à l'aide d'un circuit électrique équivalent (CEE) approprié.

Un bon ajustement paramétrique des diagrammes d'impédance expérimentaux pour toutes les concentrations utilisées a été obtenu en utilisant le modèle CEE (Figure 4.7).

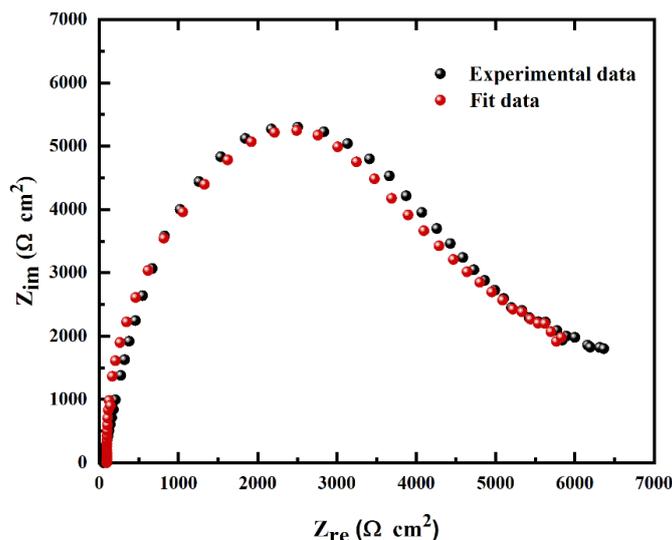


Figure 4.7 : Digramme de Nyquist expérimental et ajusté pour l'interface de l'AI 316L dans HCl 1 M Contenant l'extrait CHCl_3

Les diagrammes de Nyquist de la figure 4.6 (B), obtenus avec l'extrait acétate d'éthyle montre bien la présence d'une seule boucle capacitive semi-circulaire, dont la taille augmente avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur, due à la formation progressive d'un film protecteur sur la surface de l'électrode. Ce processus de corrosion est contrôlé par le phénomène de transfert de charge.

Les diagrammes de Nyquist de la figure 3.6 (C), obtenus avec l'extrait *n*-BuOH montrent la même tendance que celui de l'extrait AcOEt et sont caractérisées par une seule boucle qui indique que la dissolution du métal est principalement contrôlée par un processus de transfert de charge. Dans cette étude, deux circuits équivalents généraux permettant la bonne description de ces types de diagrammes d'impédance ont été proposés et sont illustrés à la figure 4.8.

Sans inhibiteur, la simulation de diagramme de Nyquist peut être modélisée en utilisant un modèle de circuit de Randles standard. L'ensemble est constitué d'un élément à phase constante (CPE), utilisé à la place de la capacité à double couche (C_{dc}) pour rendre compte des impuretés et des inhomogénéités de la surface métallique, une résistance de transfert de charge (R_{tc}) positionnée en parallèle avec une résistance de l'électrolyte (R_s) comme illustré à la figure 4.8 (a).

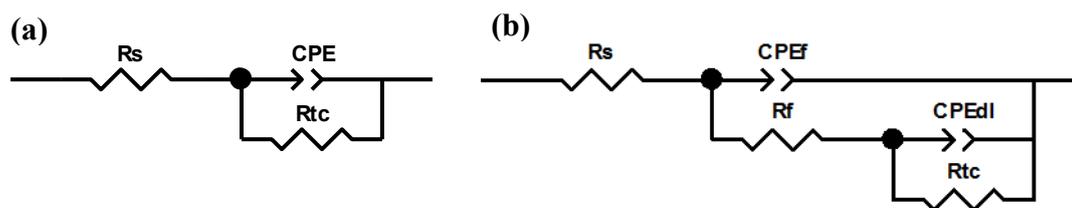


Figure 4.8 : Modèle du circuit équivalent utilisés pour l'acier 316L dans HCl 1M : (a) en absence de l'inhibiteur (extrait) ; (b) en présence de l'extrait

D'autre part et afin de prendre en compte l'aplatissement dans les diagrammes de Nyquist obtenu avec les extraits de *Hammada articulata*, le circuit équivalent de la figure 4.8 (b) a été utilisé.

En présence de l'inhibiteur, le circuit est constitué par une résistance de l'électrolyte (R_s) en série avec un élément de capacité du film (CPE_f), en parallèle avec une résistance du film d'adsorption (R_f) qui est elle-même en série avec un élément formé de la capacité de la double couche (CPE_{dc}) et une résistance de transfert de charge (R_{tc}). Dans ce cas, R_f et CPE_f sont attribués aux réponses des extraits de l'espèce *Hammada articulata*, tandis que R_{tc} et CPE_{dc} sont respectivement attribuées à la résistance de transfert de charge et à la capacité de la double couche.

La résistance de polarisation totale comprend la résistance du film de l'extrait et la résistance de transfert de charge ($R_p = R_f + R_{tc}$). Cette résistance a été utilisée pour calculer l'efficacité d'inhibition (Tao *et al.*, 2020).

En présence des inhibiteurs verts de corrosion (extrait $CHCl_3$, extrait AcOEt et extrait *n*-BuOH), la valeur de la résistance de polarisation obtenue est très élevée que celle obtenue sans inhibiteur (Tableau 4.4), du fait que les molécules inhibitrices occupent les centres les plus efficaces et aussi la valeur de la capacité de la double couche est diminué, ce qui justifie la formation d'un film protecteur agissant par adsorption sur la surface de l'acier (Moretti *et al.*, 2013).

L'augmentation de la résistance de transfert de charges R_{tc} était accompagnée d'une diminution des valeurs de la capacité double couche C_{dc} . Cela suggère que les molécules inhibitrices présentes dans les trois extraits agissent par adsorption à l'interface métal/solution (Satapathy *et al.*, 2009).

Tableau 4.4 : Paramètres d'impédance électrochimique de l'AI 316L immergé dans HCl 1M sans et avec différentes concentrations des extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH

Inhibiteur	C (ppm)	R _s (Ω cm ²)	R _f (Ω cm ²)	CPE _f (μF cm ⁻²)	R _{tc} (Ω cm ²)	CPE _{dc} (μF cm ⁻²)	R _p (Ω cm ²)	E _i (%)
Blanc	--	9,80	--	--	5584	86,5	5584	--
CHCl₃	250	43,25	4001	26,5	7890	63,2	11891	53,04
	500	6,45	9356	14,4	12456	48,4	21812	74,40
	750	57,86	12398	9,8	21567	25,8	33965	83,56
	1000	30,03	21393	6,5	33214	16,1	54607	89,77
AcOEt	250	48,64	5375	8,7	10329	46,5	15704	64,44
	500	49,01	13987	6,4	22764	16,7	36751	84,80
	750	45,63	24307	5,2	41760	11,8	66067	91,55
	1000	41,51	33596	3,1	61237	6,2	94833	94,11
<i>n</i>-BuOH	250	11,17	4607	11,7	6849	42,1	11546	51,64
	500	14,75	15167	8,3	18568	36,3	33735	83,45
	750	24,15	24991	6,3	38560	14,9	63551	91,21
	1000	19,51	28201	4,9	56743	9,4	84944	93,43

L'efficacité inhibitrice des extraits testés augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur jusqu'à atteindre la valeur optimale de 89,77% pour l'extrait CHCl₃, 94,11% pour l'extrait AcOEt et 93,43% pour l'extrait *n*-BuOH. Les résultats obtenus montrent une très bonne concordance entre les trois méthodes utilisées.

4.3.1.3 Isotherme d'adsorption des extraits sur la surface métallique

L'adsorption efficace d'un inhibiteur sur une surface métallique est basée sur l'interaction entre les molécules inhibitrices présentes dans l'extrait et la surface métallique qui peut être fournie par les isothermes d'adsorption (Behpour *et al.*, 2014). Plusieurs isothermes d'adsorption ont été testées et l'isotherme d'adsorption de Langmuir s'est avérée être la meilleure pour fournir la description du comportement d'adsorption des inhibiteurs étudiés.

Pour une température donnée, on peut tracer la courbe C_{inh}/θ en fonction de la concentration massique de l'inhibiteur vert C_{inh} . Le taux de recouvrement de la surface (θ) pour

les quatre concentrations de chacun des trois extraits de la plante étudiée en milieu acide a été calculé à partir des données de perte de masse et reportées dans le tableau 4.2.

Les résultats sont présentés sous forme graphiques dans la figure 4.9. L'analyse de ces courbes montre que pour les trois extraits la variation C_{inh}/θ en fonction de la concentration de l'inhibiteur est linéaire, avec une valeur du coefficient de régression très proche de l'unité (de l'ordre de 0.99). Cela montre que l'adsorption des molécules inhibitrices présentes dans les extraits testés sur la surface de l'AI 316L en milieu HCl obéit à l'isotherme d'adsorption de Langmuir.

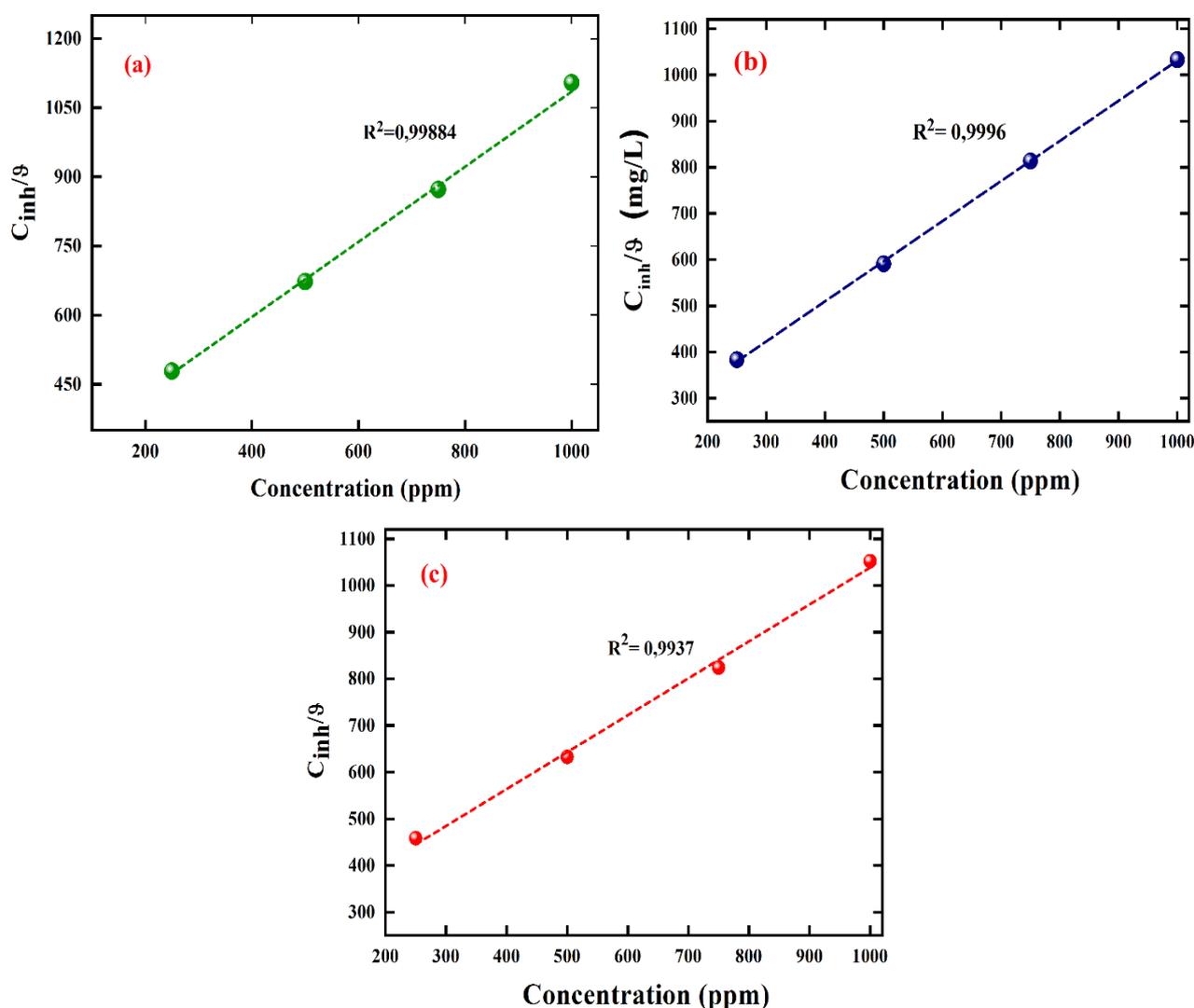


Figure 4.9 : Isothermes d'adsorption de Langmuir pour l'acier 316L dans HCl 1 M en présence des extraits : (a) $CHCl_3$, (b) AcOEt et (c) n -BuOH à $T=298$ K

Ce type d'isotherme implique l'hypothèse, que tous les sites d'adsorption sont équivalents et que l'inhibition de la corrosion est due à la formation d'une monocouche sur la surface métallique, réduisant le contact avec l'électrolyte et que les interactions entre les molécules adsorbées sont négligeables (Kecili, 2018).

Afin de connaître la nature du modèle d'adsorption, nous avons calculé l'énergie libre d'adsorption standard ΔG^0_{ads} . Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 4.5. Généralement, Les valeurs négatives de ΔG^0_{ads} indiquent la spontanéité du processus d'adsorption et la stabilité de la couche adsorbée sur la surface métallique (Bahrami *et al.*, 2010). Pour des valeurs de ΔG^0_{ads} autour de -20 kJ mol^{-1} , les interactions électrostatiques entre les molécules chargées et le métal chargé sont liées aux phénomènes de physisorption. Ceux autour de -40 kJ mol^{-1} sont associés aux phénomènes de chimisorption impliquant un transfert de charges entre les molécules organiques et la surface métallique (Behpour *et al.*, 2014).

Tableau 4.5 : Paramètres d'adsorption de l'isotherme de Langmuir pour l'AI 316L dans HCl 1 M contenant les extraits CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH à différentes concentrations

Inhibiteur	Pente	K_{ads} (L/g)	R^2	ΔG^0_{ads} (kJ mol⁻¹)
Extrait CHCl_3	0,83	3,80	0,99884	-20,42
Extrait AcOEt	0,87	6,16	0,9996	-21,62
Extrait <i>n</i>-BuOH	0,80	4,03	0,9937	-20,57

Les valeurs calculées de l'énergie libre d'adsorption résultant de la méthode de perte de masse sont $-20,42$; $-21,62$ et $-20,57 \text{ kJ mol}^{-1}$ pour les extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol, respectivement (Tableau 4.5). Par conséquent, il est clair que les composants phytochimiques présents dans les extraits testés sont physiquement adsorbés sur la surface de l'acier inoxydable 316L.

4.3.1.3.1 Mécanisme d'inhibition par les molécules présentes dans les extraits organiques de *H. articulata*

Les constituants phytochimiques présents dans les extraits de plantes sont utilisés comme inhibiteurs de corrosion car l'effet inhibiteur est dû à l'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface du métal, donnant au métal un film protecteur en bloquant les sites

actifs (**Bourazmi et al., 2018**). Plusieurs composés organiques provenant des extraits de plantes, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les polyphénols, les stéroïdes et les tannins ont été proposés car leurs structures présentent certaines propriétés avancées pour agir comme inhibiteurs de corrosion (**Ali, 2016 ; Fouda et al., 2017**). Ces composés contiennent des hétéroatomes et des cycles aromatiques substitués qui favorisent l'adsorption de ces molécules sur la surface métallique (**Chauhan and Gunasekaran, 2007 ; Bouammali et al., 2013 ; Chaubey et al., 2017 ; Rodríguez-Torres et al., 2018**).

La méthode gravimétrique et les méthodes électrochimiques confirment le caractère inhibiteur des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *Hammada articulata* en solution acide. Le processus d'inhibition de l'acier inoxydable 316L dans l'environnement étudié peut s'expliquer par l'adsorption des constituants phytochimiques actifs présents dans les extraits testés sur la surface de l'acier, ce qui diminue le processus de la corrosion de la surface métallique contre l'attaque du milieu agressif. Néanmoins, l'adsorption des molécules inhibitrices sur l'interface métal/solution est généralement considérée comme un processus de substitution entre les molécules organiques en solution aqueuse $\text{Org}_{(\text{sol})}$ et les molécules d'eau du solvant $\text{H}_2\text{O}_{(\text{ads})}$ adsorbées sur la surface de l'électrode selon l'équation suivante (**Moretti et al., 2013 ; Deyab, 2015**) :



Où x est le nombre de molécules d'eau déplacées par une molécule d'inhibiteur organique.

La présente étude montre que les extraits organiques de *Hammada articulata* inhibent la corrosion de l'acier inoxydable 316L en milieu acide par l'intermédiaire de leurs constituants chimiques. Ces molécules se sont avérées être les flavonoïdes et les alcaloïdes majoritaires présents dans les extraits. En effet, les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol sont riches en composés phénoliques, en particulier en flavonoïdes, connus pour leurs activités antioxydantes. Cependant, la propriété inhibitrice de l'extrait chloroforme était également due à la présence d'inhibiteurs de type alcaloïde (tableau 2.6).

En milieu acide, les composés naturels peuvent être protonés car ils sont souvent très riches en hétéroatomes (O et N) présents dans des groupes fonctionnels (O–H, C=O, C–O, N–H), et les électrons π des cycles aromatiques. Les expérimentations menées dans le cadre de notre travail ont montré par la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance

électrochimique que la corrosion de l'acier 316L en milieu acide est diminuée en présence de différentes concentrations de l'extrait CHCl_3 , AcOEt et *n*-BuOH de *H. articulata* et que cette inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en extrait. Ainsi nos résultats montrent clairement que le mécanisme d'inhibition implique le blocage des sites anodiques et cathodiques de la surface de l'acier par les molécules inhibitrices est de type physisorption. Le processus d'adsorption physique exige la présence d'une surface métallique électriquement chargée et des espèces chargées dans la solution.

De plus, des études antérieures menées sur l'espèce qui a fait l'objet de nos travaux ont montré que le métabolisme secondaire de cette plante est connu pour sa richesse en alcaloïdes avec notamment des molécules comme la salsolidine, l'isosalsoline, la carnégine, la tryptamine et d'autres alcaloïdes appartenant à la famille du β -carboline (Tableau 1.1).

La salsolidine est un simple alcaloïde, appartenant à la famille des isoquinolines mais comme elle n'est pas le seul alcaloïde accumulé par l'espèce étudiée, dans l'état actuel de notre recherche, il s'agit de savoir si c'est effectivement la salsolidine ou un autre constituant qui est responsable de cet effet inhibiteur par adsorption sur la surface de l'acier. En revanche, en milieu acide, l'amine secondaire qu'est la salsolidine peut être facilement protonée en raison du doublet libre présent sur l'atome d'azote, conduisant à la formation de l'espèce inhibitrice de charge positive (Figure 4.10).

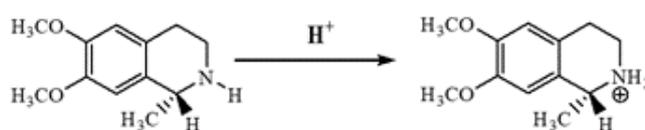


Figure 4.10 : Forme protonée de salsolidine en milieu acide

De plus, en solution acide, la forme protonée de la carnégine est préférentiellement obtenue pour les mêmes raisons que celle de salsolidine à savoir que le doublet de l'azote. L'amine tertiaire du noyau carnégine est plus encombrée que celle de la salsolidine, et est en général légèrement plus basique. Tandis que la forme protonée est un sel d'ammonium quaternaire est plus stable à cause de l'effet inductif donneur (+I) du groupement méthyle (Figure 4.11).

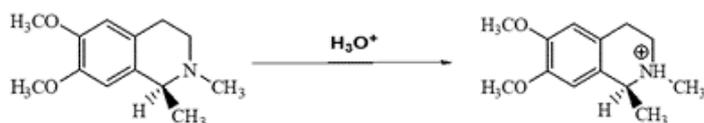


Figure 4.11 Forme protonée de la carnéine

La tryptamine est un composé chimique très répand dans la nature, constitué d'un noyau indole sur lequel est rattaché une éthylamine. C'est un composé très basique ($pK_a = 9,52$). D'autre part, le pH des milieux corrosifs en absence et en présence d'inhibiteurs s'est avéré très acide. Dans ces conditions, la quasi-totalité de la tryptamine est protonée au niveau du groupe amine primaire comme indiqué dans la figure 4.12.

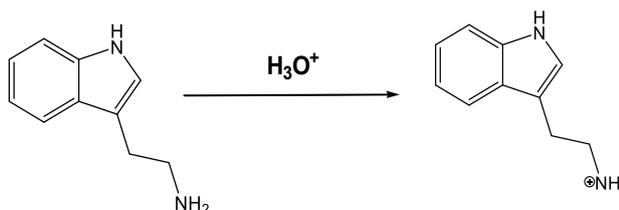


Figure 4.12 : Formes cationique de tryptamine

Étant donné que la surface de l'acier est chargée positivement en milieu acide, il y a donc deux possibilités pour que la tryptamine protonée puisse agir. Elle peut entrer en compétition avec les ions chlorure pour les positions sur la surface métallique recouverte d'eau ou être électrostatiquement adsorbée sur la surface métallique *via* du chlorure adsorbé. Dans le premier cas, les molécules d'eau seront déplacées de la surface métallique et l'adsorption se produira très probablement à travers l'azote indole. (Eq 4.8). De plus, l'interaction des électrons π entre le noyau aromatique et la surface métallique chargée positivement joue également un rôle (Lowmunkhong *et al.*, 2010). En outre, Il faut noter aussi que la molécule inhibitrice s'adsorbe verticalement sur la surface de l'acier *via* des interactions latérales importantes (Khadraoui *et al.*, 2014). Ces interactions conduisent à la formation d'un film protecteur en raison de l'espace occupée par les cycles aromatiques. Par ailleurs, l'amine secondaire du cycle indole est conjuguée avec le système d'électrons π du cycle aromatique et donc moins disponible et moins basique.

En milieu acide chlorhydrique, la surface du métal est chargée négativement en raison de la présence des ions chlorures spécifiquement adsorbés sur la surface du métal (Figure 4.13) (Ahamad *et al.*, 2011; Darriet *et al.*, 2013).

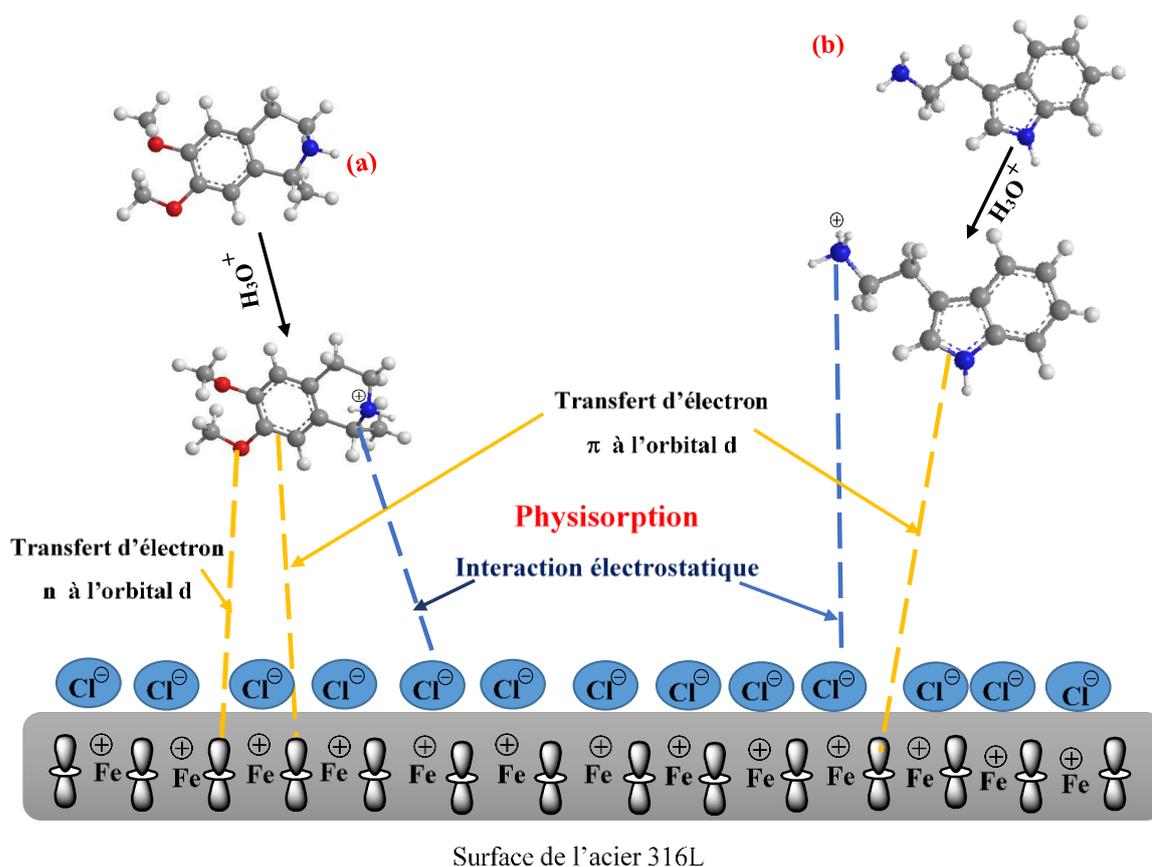


Figure 4.13 : Mécanisme d'adsorption de la salsolidine (a) et de tryptamine (b) sur la surface de l'Al 316L dans une solution acide

L'interaction entre la surface métallique et les composés présents dans l'extrait de *H. articulata* peut se faire de plusieurs manières :

- Ces molécules existent sous forme cationique et peuvent interagir avec la surface métallique chargée négativement suite à l'adsorption des ions chlorures « Cl⁻ » sur la surface de l'acier.
- Interactions entre les doublets non liants de l'hétéroatome de la molécule inhibitrice et les orbitales vacantes (d) des atomes de fer sur la surface métalliques (Bhatt *et al.*, 2021)

Il est important de signaler que l'inhibition de la corrosion de l'acier pourra être renforcée par synergie entre les molécules présentes dans l'extrait (Znini *et al.*, 2012 ; Darriet *et al.*, 2013), mais pour préciser la nature du constituant responsable de l'inhibition, une étude plus spécifique est nécessaire .

4.3.2 Étude de l'efficacité inhibitrice de l'huile essentielle vis-à-vis de la corrosion de l'acier 316L en milieu acide

Pour cette étude, nous avons utilisé trois techniques expérimentales : la méthode gravimétrique, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) et la méthode de polarisation potentiodynamique.

4.3.2.1 Etude gravimétrique

L'effet de l'ajout de l'huile essentielle de *Hammada articulata* testée à différentes concentrations sur la corrosion de l'acier inoxydable en milieu HCl 0,5 M a été évalué par des mesures de perte de masse à 25°C après 72 h d'immersion. Les valeurs du pourcentage de l'efficacité inhibitrice (E_I) et de la vitesse de corrosion (V_{corr}) sont répertoriées dans le tableau 4.6.

Tableau 4.6 : Influence de la concentration de l'huile sur V_{corr} de l'AI 316L et sur E_I après une durée d'immersion de 72 h

Inhibiteur	Concentration de HE (ppm)	V_{Corr} (mg cm ⁻¹ h ⁻¹)	θ	E_I (%)
Blanc	0	0,178	--	--
	300	0,059	0,667	66,75
<i>H. articulata</i>	600	0,025	0,859	85,97
HE	800	0,015	0,914	91,43
	1000	0,008	0,955	95,51

On peut constater que l'augmentation de la concentration de l'huile s'accompagne par une diminution de la vitesse de corrosion. Cette diminution est importante même pour des concentrations faibles en huile (Tableau 4.6).

La vitesse de corrosion diminue de 0,178 à 0,008 mg cm⁻¹ h⁻¹, tandis que l'efficacité inhibitrice croît avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur, atteignant une valeur maximale de 95,51% à une concentration de 1000 ppm (Figure 4.14).

Ce comportement pourrait être attribué à l'adsorption des composants naturels présents dans l'huile sur la surface en acier inoxydable entraînant le blocage des sites de réaction, et la protection de cette surface contre l'attaque des ions agressifs (Verma *et al.*, 2014). Par conséquent, nous pouvons conclure que l'huile essentielle de *H. articulata* est un bon inhibiteur de corrosion pour l'acier inoxydable dans une solution de HCl 0,5 M.

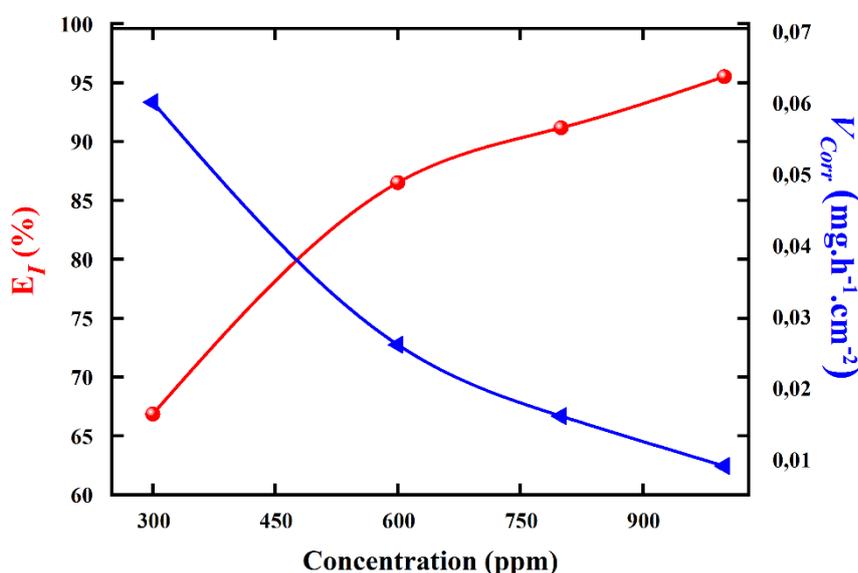


Figure 4.14 : Variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité inhibitrice de l'AI 316L en présence de l'huile

4.3.2.2 Techniques électrochimiques

4.3.2.2.1 Suivi du potentiel de corrosion au cours du temps

Les courbes de potentiel en circuit ouvert (OCP) en fonction du temps pour l'AI 316L dans des solutions acides contenant l'HE à différentes concentrations ont donné un potentiel assez stable pendant 30 minutes de balayage (Figure 4.15).

La présence des composés phytochimiques dans l'HE de *H. articulata* déplace progressivement le potentiel à l'état d'équilibre vers une direction positive avec l'augmentation de la concentration en huile.

Les courbes OCP pour l'acier 316L en milieu HCl 0,5 M en absence et en présence de différentes concentrations en huile sont presque des lignes droites, suggérant que le potentiel à l'état d'équilibre avait été atteint. Les valeurs de E_{corr} étaient comprises entre -300 et -210 mV/ECS.

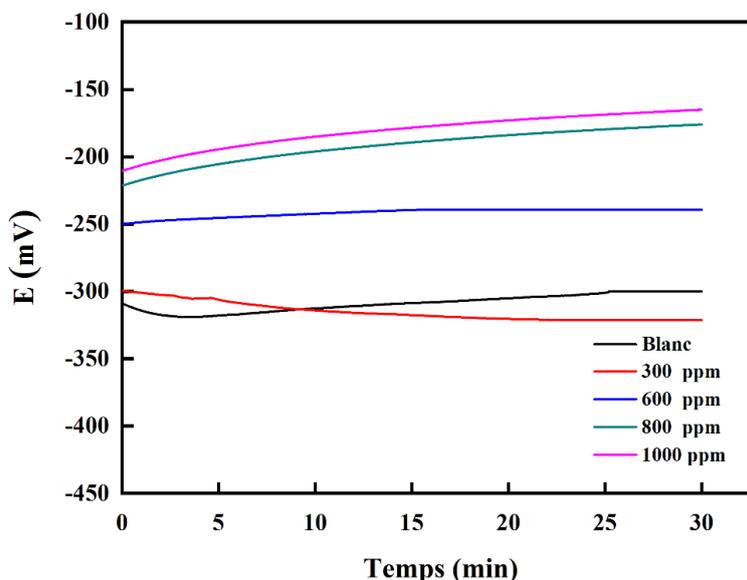


Figure 4.15 : Evolution du potentiel libre en fonction du temps d'immersion pour l'AI 316L

4.3.2.2 Polarisation potentiodynamique

Les courbes courant-potentiel pour la polarisation cathodique et anodique de l'AI 316L dans HCl 0.5 M avec et sans inhibiteur (HE) sont présentées dans la figure 4.16. Les données du tableau 4.7 montrent que lorsque la concentration de l'huile essentielle augmente, la densité de courant de corrosion (I_{corr}) diminue de manière significative, déplaçant le potentiel de corrosion vers une direction positive.

Cela peut également être attribué au dépôt de composés présents dans l'huile sur la surface métallique, qui peut efficacement sceller la surface contre une réaction ultérieure due à l'interaction entre l'inhibiteur et la surface métallique.

De même, l'efficacité inhibitrice augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile, atteignant 96,68% à 1000 ppm. Les données de polarisation potentiodynamique concordent bien avec les tests de perte de masse.

Tableau 4.7 : Paramètres électrochimiques obtenus à partir des courbes de polarisation de l'acier dans HCl 0,5 M en présence et en absence de différentes concentrations de l'huile

Concentration De l'HE (ppm)	$-E_{corr}$ (mV/ECS)	I_{corr} ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	R_p ($\text{k}\Omega \text{cm}^2$)	E_I (%)
Blanc	308	16,98	1,215	--
300	291	5,53	4,035	67,43
600	260	2,25	8,702	86,74
800	225	1,17	13,164	93,11
1000	210	0,56	25,322	96,68

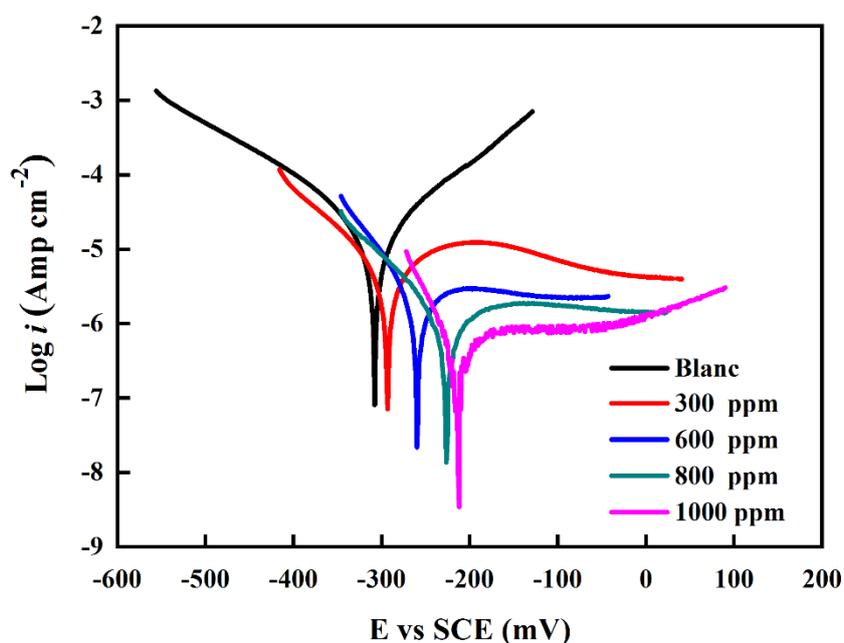


Figure 4.16 : Courbe de polarisation de l'acier inoxydable dans HCl 0,5 M avec et sans différentes concentrations de l'HE

De plus, on peut remarquer que les courbes de polarisation cathodique ne sont pas affectées par la présence de l'huile testée, ce qui met en évidence le caractère anodique de l'huile étudiée.

Selon la littérature, un inhibiteur peut être classé comme de type cathodique ou anodique si le déplacement du potentiel de corrosion en présence de l'inhibiteur est supérieur à 85 mV/ECS, en valeur absolue, par rapport à celui en absence de l'inhibiteur (**Alibakhshi et al.,**

2018). D'après les résultats du tableau 4.7, le déplacement le plus élevé de l'huile était de 98 mV à la concentration de 1000 ppm vers la zone anodique. On peut dire que l'huile peut être classée comme un inhibiteur de type mixte à fort caractère anodique.

4.3.2.2.3 Méthode d'impédance électrochimique (EIS)

La figure 4.17 et le tableau 4.8 représentent respectivement les diagrammes de Nyquist et les paramètres d'impédance de l'acier 316L dans HCl 0,5 M en présence et en absence de différentes concentrations de l'huile essentielle de l'espèce *Hammada articulata*.

Le diagramme de Nyquist obtenu montre bien la présence d'une seule boucle capacitive semi-circulaire parfaite, dont la taille augmente avec l'augmentation de la concentration en huile, due à la formation progressive d'un film protecteur sur la surface de l'électrode. Ce processus de corrosion est contrôlé par le phénomène de transfert de charge sur une électrode à surface hétérogène et irrégulière (Bammou *et al.*, 2011).

Tableau 4.8 Paramètres d'impédance électrochimique de l'AI 316L dans HCl 0,5 M sans et avec différentes concentrations de l'huile

Concentration de l'HE (ppm)	R_s ($\Omega \text{ cm}^2$)	R_{tc} ($\text{k}\Omega \text{ cm}^2$)	C_{dc} ($\mu\text{F cm}^{-2}$)	E_I (%)
Blanc	12,18	1,082	12,32	--
300	15,31	3,896	4,63	72,23
600	4,52	6,494	1,95	83,34
800	2,91	11,965	1,81	90,96
1000	0,72	18,883	0,61	94,27

En effet, l'augmentation de la concentration de l'huile est accompagnée par une augmentation de la résistance du métal, indiquant que l'efficacité de l'inhibition est fonction de la concentration en inhibiteur.

Les valeurs de l'efficacité inhibitrice E_I (%) et les paramètres électrochimiques associés sont présentés dans le tableau 4.8.

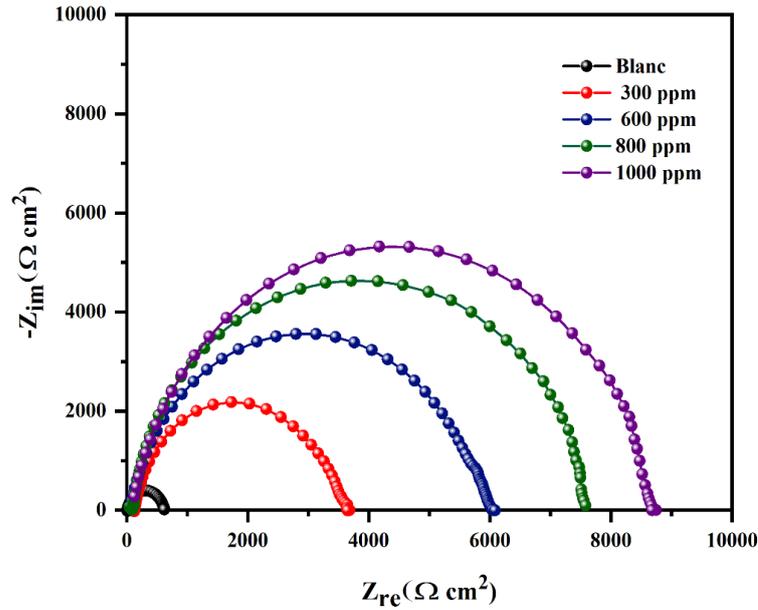


Figure 4.17 : Diagrammes de Nyquist de l'acier 316L dans HCl 0,5 M en absence et en présence des différentes concentrations de l'HE *H. articulata*

Selon les paramètres issus de diagrammes de Nyquist, l'augmentation de la résistance de transfert de charge R_{tc} est accompagnée par une diminution de la valeur de la capacité de la double couche C_{dc} , qui peut être attribuée à une augmentation de l'épaisseur de la double couche électrique. Cela peut s'expliquer par l'adsorption des composants de l'HE à l'interface métal/solution (Moretti *et al.*, 2013).

Le circuit électrique équivalent utilisé pour traduire l'adsorption de l'inhibiteur sur la surface de l'acier 316L est représenté sur la figure 4.18. L'interface électrochimique métal/électrolyte est équivalente à un circuit électrique constitué par une résistance de l'électrolyte (R_s) reliée en série avec un élément à phase constante (CPE), le tout est en parallèle avec une résistance de transfert de charge (R_{tc}) (Figure 4.18).

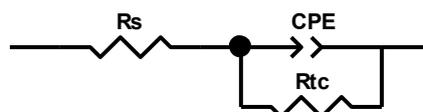


Figure 4.18 : Circuit électrique équivalent utilisé pour interpréter les données SIE

Pour tenir compte des impuretés, de la rugosité de surface et de l'inhomogénéité de l'acier, le CPE est utilisé à la place de la capacité (C) (Znini *et al.*, 2011). D'autre part, la double couche formée à l'interface électrode-solution est considérée comme un condensateur électrique, qui diminue du fait du déplacement des molécules d'eau présentes dans l'électrolyte par des molécules adsorbées à la surface de l'acier, formant une couche protectrice qui diminue le nombre de sites de corrosion actifs selon l'équation (4.8). L'efficacité inhibitrice a été augmentée de 72,23% à 94,27% avec l'accroissement de la concentration.

4.3.2.2.4 Etude comparative

Une étude comparative a été réalisée en comparant les valeurs de l'efficacité inhibitrice obtenues par les différentes méthodes utilisées précédemment (la perte de masse, la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique). La figure 4.19 montre un histogramme qui compare les valeurs E_I (%) obtenues.

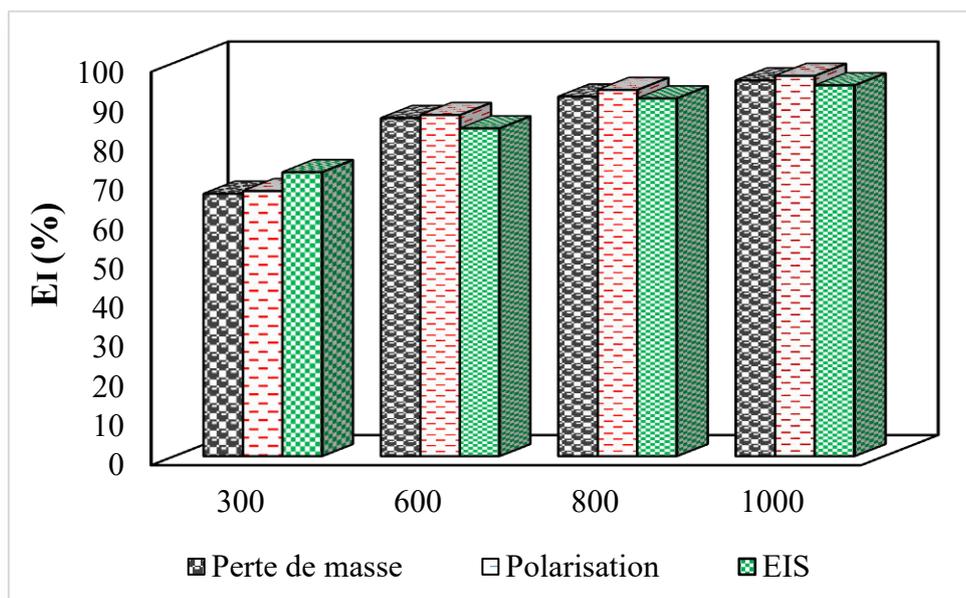


Figure 4.19 : Comparaison des valeurs de E_I obtenues par les méthodes de perte de masse, de courbes de polarisation et de la SIE

On peut voir clairement que quelle que soit la méthode utilisée, aucun changement significatif n'est observé dans les valeurs de l'efficacité inhibitrice.

Nous pouvons alors conclure qu'il existe une bonne corrélation avec les trois méthodes utilisées dans cette étude pour toutes les concentrations testées et que l'huile de *Hammada articulata* est un inhibiteur de corrosion efficace. Cette corrélation entre trois techniques indépendantes, prouve la validité des résultats.

4.3.2.3 Isotherme d'adsorption de l'huile sur la surface de l'acier

Une ligne droite a été obtenue lorsque nous avons tracé C_{inh}/θ en fonction de C_{inh} , avec un facteur de corrélation égal à l'unité (0,9997) (Figure 4.20), suggérant que l'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface de l'acier 316L obéit à l'isotherme d'adsorption de Langmuir.

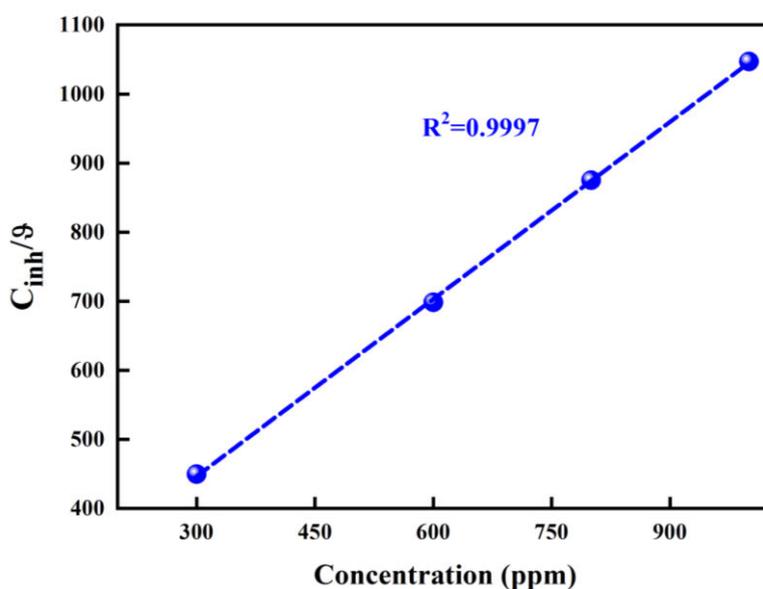


Figure 4.20 : Courbe de l'isotherme d'adsorption de Langmuir de l'huile pour l'AI 316L

Ce modèle suggère que les composants présents dans l'huile essentielle adsorbés sur la surface métallique suivent l'isotherme d'adsorption de Langmuir. Le fait que ΔG_{ads}^0 soit négatif implique que les composants de l'HE de *H. articulata* s'adsorbent spontanément sur la surface métallique (El Ouadi *et al.*, 2015).

Tableau 4.9 : Valeurs des paramètres issus du modèle d'isotherme d'adsorption de Langmuir pour l'adsorption de l'HE à la surface de l'acier inoxydable dans HCl 0,5 M

Inhibiteur	Pente	K_{ads} (L g ⁻¹)	R^2	ΔG_{ads}^0 (kJ mol ⁻¹)
HE de <i>H. articulata</i>	0,86	5,26	0,9997	-21,23

La valeur calculée de l'énergie libre d'adsorption résultant de la méthode de perte de masse est de -21,23 kJ mol⁻¹ (Tableau 4.9). Par conséquent, il est clair que les composants de l'HE sont physiquement adsorbés sur la surface de l'acier inoxydable.

4.3.2.3.1 Mécanisme d'adsorption

La méthode gravimétrique et les techniques électrochimiques confirment le caractère inhibiteur de l'huile en milieu agressive. L'huile essentielle de *Hammada articulata* a été dominée par des composants organiques plus ou moins complexes tels que les monoterpènes oxygénés, les sesquiterpènes et les composés carbonylés (plus de 50 % de la totalité de l'huile). Ces composés contiennent des hétéroatomes dans des groupes fonctionnels (O–H, C=O, C–O et C–N), qui répondent aux caractéristiques générales des inhibiteurs de corrosion typiques (Darriet *et al.*, 2013 ; Hossain *et al.*, 2020).

Dans une solution aqueuse et acide, ces molécules organiques peuvent être protonées, et les formes cationiques peuvent s'adsorber directement sur les sites superficiels de l'acier en réduisant la réaction de dissolution du métal. La surface métallique exposée à la solution agressive est chargée positivement et peut attirer les ions chlorure, qui à leur tour attireront les molécules présentes dans l'huile par le biais d'interactions électrostatiques.

L'eugénol est l'un des composés majoritaire présent dans l'huile essentielle de *Hammada articulata*, un composé aromatique de la famille des phénylpropènes.

La molécule de l'eugénol comporte un cycle aromatique conjugué avec un vinyle, un groupement hydroxyle et une fonction éther qui répond aux critères généraux des inhibiteurs de corrosion.

En milieu acide, l'atome d'oxygène de la fonction hydroxyle de l'eugénol peut être facilement protoné, en raison de la densité électronique, conduisant à la formation d'une espèce

inhibitrice de charge positive stable par effet mésomère. L'adsorption peut se produire donc, par interaction électrostatique entre l'inhibiteur de charge positive et les ions chlorures chargés négativement sur la surface métallique conduisant à une physisorption (Figure 4.21).

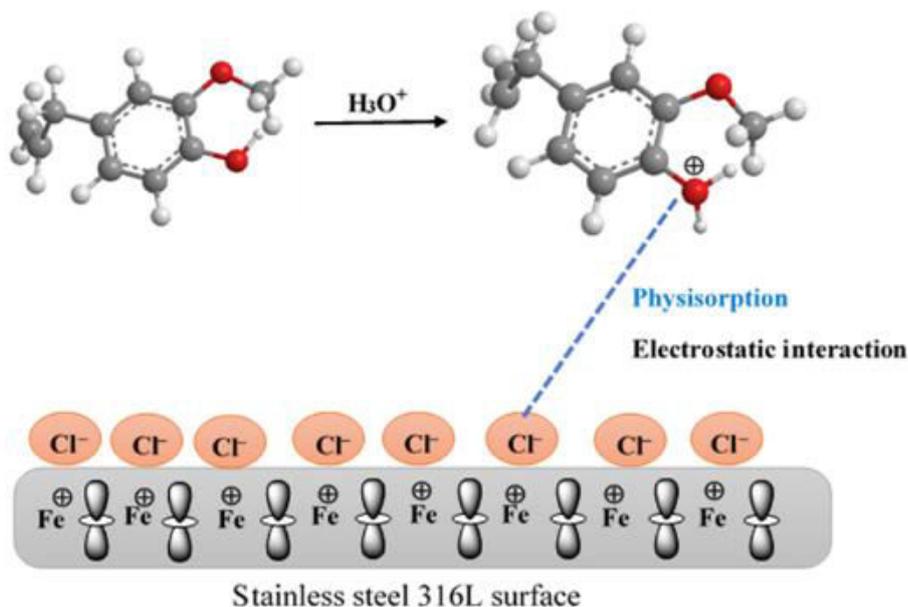


Figure 4.21 : Schéma du comportement d'adsorption de l'eugénol sur la surface de l'acier inoxydable en milieu acide

4.4 Conclusion et perspectives

Ce travail nous a permis de montrer que l'espèce *Hammada articulata* possède des capacités élevées en matière de lutte contre la corrosion de l'acier, et que l'huile essentielle de la même plante, possède les mêmes capacités inhibitrices que celle des extraits en jouant un rôle important dans la protection de l'AI 316L contre la corrosion en milieu acide.

Nous pouvons envisager quelques perspectives pour la poursuite de ce travail :

- Utiliser des techniques analytiques pouvant caractériser l'état de surface telles que : la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS) qui nous permet de voir que l'inhibition est due à la formation d'un dépôt du film adhérent et stable qui limite la corrosion.
- Elargir le champ d'étude à d'autres familles de métabolites secondaires telles que les flavonoïdes, et les alcaloïdes en améliorant les méthodes de séparation et de détection.

- Elargir le travail pour différents types de matériaux dans différents milieux corrosifs, en tenant compte des conditions hydrodynamiques.
- Réaliser une corrélation entre la structure moléculaire des inhibiteurs et leur efficacité inhibitrice vis-à-vis de la corrosion de l'acier en utilisant des calculs quantiques basés principalement sur la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT.

Conclusion générale

Les plantes médicinales sont d'une grande importance, surtout avec les vertus thérapeutiques et les activités biologiques qu'elles présentent et qui sont connues depuis l'antiquité, ces dernières continuent à faire l'objet de plusieurs recherches scientifiques à travers le monde. *Hammada articulata (scoparia)* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et dans certains pays d'Afrique.

Notre thématique de recherche s'articule autour de trois axes. En premier nous nous sommes intéressés au criblage phytochimique des extraits organiques et à l'analyse de l'huile essentielle de *Hammada articulata* par chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse. Le deuxième axe a été consacré à l'étude biologique des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce sélectionnée. Dans ce cadre, différentes activités ont été étudiées à savoir : l'activité antioxydante *in vitro*, l'activité anti-inflammatoire, l'activité diurétique et l'effet hypoglycémiant *in vivo*, dont certaines sont connues pour leur importance en médecine traditionnelle. Enfin, le troisième axe a porté sur l'étude de l'efficacité inhibitrice de l'huile et des extraits de *H. articulata* contre la corrosion de l'acier inoxydable 316L en milieu acide.

Le screening phytochimique de *Hammada articulata* démontre une composition riche et variée en métabolites secondaires, où les extraits hydro-alcoolique, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol renferment un large éventail de métabolites secondaires à savoir les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpènes, les saponines, les tanins, et les stérols.

L'analyse chromatographique par HPLC-DAD des composés phénoliques nous a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs flavonoïdes principalement : la catéchine, la quercétine, le kaempférol, la naringénine, la myricétine et la rutine ainsi que des acides phénoliques : caféique, chlorogénique, vanillique, *p*-coumarique, ascorbique et un stilbène le resvératrol. Les chromatogrammes obtenus montrent que les fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol sont les mieux dotées en composés phénoliques. Par ailleurs, les meilleures teneurs en polyphénols totaux ont été obtenues pour les extraits AcOEt et *n*-BuOH de *Hammada articulata* avec respectivement $343,6 \pm 0,08$ mg EAG/g d'extrait sec et $226,3 \pm 0,06$ mg EAG/g d'extrait sec. Tandis que pour les flavonoïdes totaux, les teneurs sont $90,3 \pm 0,21$ mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait *n*-BuOH et $57,9 \pm 0,43$ mg/EQ g d'extrait sec pour l'extrait AcOEt.

Les principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles et des fleurs de *Hammada articulata* obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, ont été identifiés par CPG/FID et

CPG/SM. Cette étude révèle la présence de 46 composés représentant 97% de la totalité de l'huile. Les sesquiterpènes et les monoterpènes oxygénés sont prédominants dans cette huile. Les composés majoritaires sont : l'hexahydrofarnesyl acétone (11,9%), le β -bisabolène (10,7%), le l'eugénol (7,7%), et la 2-méthyldécane (5,3%). La capacité de l'huile à piéger le radical DPPH peut être due au fort pourcentage de composés oxygénés (mono et sesquiterpène).

L'évaluation des propriétés antioxydantes révèle que tous nos extraits manifestent une forte capacité antioxydante et plus particulièrement l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait *n*-butanol. La meilleure capacité à piéger le radical DPPH est de $9,48 \pm 0,42$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait AcOEt et de $13,03 \pm 1,03$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait *n*-BuOH. Tandis que la plus forte capacité à inhiber le radical cation ABTS a été enregistrée pour l'extrait AcOEt avec $8,46 \pm 0,91$ $\mu\text{g/ml}$ et $10,03 \pm 1,12$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait *n*-BuOH. Par ailleurs, l'extrait AcOEt a enregistré le pouvoir réducteur le plus important ($0,20 \pm 0,11$ mg/ml). Ceci pourrait être justifié par la présence d'un contenu relativement important en composés phénoliques, comme il a été révélé auparavant par les analyses phytochimiques. L'extrait chloroforme a montré un pouvoir antioxydant moins important mais intéressant.

De même, les trois extraits de *H. articulata* ont montré une activité anti-inflammatoire importante à la dose de 200 mg/kg, inhibant l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine de façon significative en comparaison avec le groupe ayant reçu du sérum physiologique. En effet, l'extrait *n*-BuOH a montré un pourcentage d'inhibition de l'inflammation important, comparable à celui du diclofénac, anti-inflammatoire de référence.

Les résultats de l'évaluation de l'activité diurétique ont révélé quelques résultats inattendus. En effet, ce sont les constituants de l'extrait chloroforme qui semblent les plus actifs et montrent une action diurétique et une excrétion électrolytique importante par rapport aux rats normaux.

L'étude de l'effet anti-hyperglycémiant a été réalisée sur les trois extraits organiques de *H. articulata* administrés par voie orale à la dose de 200 mg/kg, p.c, en utilisant deux procédures : la première consiste à tester l'effet à court terme des extraits de la plante, sur la glycémie à jeun des rats normaux. Alors que dans la deuxième, les animaux ont subi un test de tolérance au glucose après un gavage par les extraits. Les extraits AcOEt et *n*-BuOH ont montré une activité anti-hyperglycémiant significative, en améliorant la tolérance orale au glucose chez les rats normaux.

Cette propriété peut être expliquée par trois mécanismes d'action possibles ; une inhibition de l'absorption intestinale du glucose, une stimulation de la sécrétion de l'insuline, ou une amélioration du transport périphérique du glucose, ou une stimulation de stockage de glucose au niveau du foie.

Le troisième axe de notre travail a été consacré à l'étude de l'inhibition de la corrosion de l'acier AI 316L dans l'acide chlorhydrique par l'huile et par les trois extraits issus de la plante *Hammada articulata*. Dans la première partie du travail, l'effet de la concentration des trois extraits sur la corrosion du métal en milieu HCl 1 M a été étudié par gravimétrie, polarisation potentiodynamique et spectroscopie d'impédance électrochimique. L'ajout de ces extraits réduit la dissolution anodique et retarde la réaction de dégagement d'hydrogène. En revanche, les courbes de polarisation ont révélé que les constituants de l'extrait CHCl₃ agissent essentiellement comme inhibiteurs cathodiques, alors que l'extrait AcOEt a été classé comme inhibiteur mixte à fort caractère anodique par contre que l'extrait *n*-BuOH est classé comme inhibiteur mixte. L'efficacité inhibitrice des inhibiteurs étudiés augmente avec l'augmentation la concentration en inhibiteur. Pour une concentration de 1000 ppm, un maximum d'efficacité est atteint pour l'extrait AcOEt avec un pourcentage de 96,51% et de 94,91% pour l'extrait *n*-BuOH et de 90,20% pour l'extrait CHCl₃. La SIE a montré que la capacité de la double couche diminue avec l'augmentation de la concentration en extrait. L'étude thermodynamique de l'adsorption de ces inhibiteurs verts prouve qu'il s'agit d'une physisorption et que le processus correspondant est spontané et suit l'isotherme de Langmuir.

Le deuxième volet de ce travail a été consacré à l'étude de l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de notre plante sur le même métal mais dans le milieu acide chlorhydrique 0,5 M. Les tests électrochimiques effectués sur les différentes concentrations ont révélé que l'huile présente une efficacité inhibitrice très importante allant jusqu'à 96,68% à 1000 ppm. Les diagrammes d'impédance ont montré qu'il s'agit d'un processus de transfert de charges sur une surface hétérogène pour toute la gamme de concentration étudiée. L'adsorption de cette huile sur la surface de l'acier en milieu acide suit l'isotherme de Langmuir. L'inhibition se déroule selon un caractère mixte avec une prédominance anodique.

Finalement, vue la diversité des résultats, on conclut que les résultats obtenus à travers ce travail sont très favorables pour la valorisation des ressources végétales (huiles essentielles et extraits végétaux) de plantes sahariennes vu sa richesse en molécules bioactives.

Ces résultats ne constituent bien évidemment qu'une première étape de recherche des molécules biologiquement actives. En effet, ce travail apporte une contribution à la connaissance de l'espèce *Hammada articulata* à travers l'étude de son potentiel antioxydant, diurétique, anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiant et ouvre ainsi de nombreuses autres voies d'études intéressantes à explorer. Cette étude valide scientifiquement l'usage de cette plante en médecine traditionnelle. Ce travail a permis aussi de mettre en valeurs les propriétés inhibitrices des extraits et de l'huile qui peuvent être une source d'inhibiteurs verts non toxique et respectueux de l'environnement. Nous souhaiterons que cette étude contribue d'une manière ou d'une autre à la valorisation des produits naturels en tant qu'inhibiteurs biodégradables.

Références bibliographiques

A

- Abdelgawad, S., Elsherif, F. E., Khader, S., Abdelrahman, A. (2022). Rams (Haloxylon salicornicum) Powder and Extract in Diets of Male Albino Rats to Cope Hyperglycemia. *مجلة البحوث البيئية والطاقة*, 11(19), 1-25.
- Adams, R.P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4th Edition Allured Publishing Corporation, Carol Stream.
- Adamski, Z., Blythe, L. L., Milella, L., Bufo, S. A. (2020). Biological activities of alkaloids: from toxicology to pharmacology. *Toxins*, 12(4), 210.
- Adegoke, A.A., Iberi, P. A., Akinpelu, D.A., Aiyegoro, O.A., Mbotto, C.I. (2010). Studies on phytochemical screening and antimicrobial potentials of Phyllanthus amarus against multiple antibiotic resistant bacteria. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 3(3), 6-12.
- Afia, L., Salghi, R., Bazzi, E., Bazzi, L., Errami, M., Jbara, O., Al-Deyab, S.S., Hammouti, B., (2011). Testing Natural compounds : Argania spinosa Kernels Extract and Cosmetic Oil as Ecofriendly Inhibitors for Steel Corrosion in 1 M HCl. *International Journal Electrochemistry Science*, 6(11), 5918-5939.
- Afia, L., Benali, O., Salghi, R., Ebenso, E. E., Jodeh, S., Zougagh, M., Hammouti, B. (2014). Steel corrosion inhibition by acid garlic essential oil as a green corrosion inhibitor and sorption behavior. *International Journal Electrochemistry Science*, 9, 8392-8406.
- Afnor, N. (1992). Recueil des Normes Françaises : Huiles Essentielles. *AFNOR: Paris*.
- Agrawal, P.K., (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. Amsterdam: Elsevier. 152–153.
- Ahamad, I., Khan, S., Ansari, K.R., Quraishi, M.A. (2011). Primaquine: A pharmaceutically active compound as corrosion inhibitor for mild steel in hydrochloric acid solution. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2), 703-717.
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K.M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4), 875-877.
- Akin, M., Nalbantoglu, S., Cuhadar, O., Uzun, D., Saki, N. (2013). Juglans regia L. extract as green inhibitor for stainless steel and aluminium in acidic media. *Research on Chemical Intermediates*, 41(2), 899-912.
- Alaoui, K., Lagorce, J.F., Cherrah, Y., Hassar, M., Amarouch, H., Roquebert, J. (1998). Analgesic and anti-inflammatory activity of Argania spinosa saponins. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 56(5), 220-228.
- Alawhibi, M.S., AlSubeie, M.S., Bukhari, N.A., Soliman, D.A. (2020). Molecular characterization of Haloxylon salicornicum Moq. in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(7), 1824-1829.
- Ali, I.H. (2016). Inhibitory Effect of Leaf Extract of Khaya senegalensis (Mahogany) on C-steel Corrosion in 1.0 M Hydrochloric Acid Solution. *International Journal of electrochemical science*, 10(3), 2130-2141.

Alibakhshi, E., Ramezanzadeh, M., Bahlakeh, G., Ramezanzadeh, B., Mahdavian, M., Motamedi, M. (2018). Glycyrrhiza glabra leaves extract as a green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution: Experimental, molecular dynamics, Monte Carlo and quantum mechanics study. *Journal of Molecular Liquids*, 255, 185-198.

Aliouche, L., Zater, H., Zama, D., Bentamene, A., Seghiri, R., Mekkiou, R., Benayache, F. (2007). Flavonoids of Serratula cichoracea and their antioxidant activity. *Chemistry of natural compounds*, 43(5), 618-619.

Alsaadi, J.H.H. (2018). Extraction, isolation and identification of some alkaloids compounds from iraqi medicinal plant *Haloxylon salicornicum* and study antihyperglycemic effect in alloxan-induced diabetic rabbits. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 17(3).

Alsahli, M., Gerich, J. E. (2010). 10 Abnormalities of Insulin Secretion and β -Cell Defects in Type 2 Diabetes.

Alsahli, M., Gerich, J.E. (2017). Renal glucose metabolism in normal physiological conditions and in diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 133, 1-9.

Altinier, G., Sosa, S., Aquino, R.P., Mencherini, T., Loggia, R.D., Tubaro, A. (2007). Characterization of Topical Anti-inflammatory Compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1718–1723.

Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J.A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84, 551–562.

Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica chemica acta*, 76. 55–61.

Andreani, S., Znini, M., Paolini, J., Majidi, L., Hammouti, B., Costa, J., Muselli, A. (2013). Application of Senecio inaequidens essential oil and its fractions as eco-friendly inhibitors of mild steel corrosion in 1M HCl solution. *International Journal of Electrochemical Science*, 8. 11896-11915.

Ashraf, M.A., Mahmood, K., Wajid, A., Qureshi, A.K., Gharibreza, M. (2013). Chemical constituents of Haloxylon salicornicum plant from Cholistan Desert, Bahawalpur, Pakistan. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(5), 1718-1723.

Ayoola, G.A., Coker, H.A., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obawe, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O, 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024.

Azizuddin, A., Khan, A.M., Mustafa, S. (2013). An update on secondary metabolites from Haloxylon species. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 35(6), 1551-1572.

B

Bahrami, M.J., Hosseini, S.M.A., Pilvar, P., (2010). Experimental and theoretical investigation of organic compounds as inhibitors for mild steel corrosion in sulfuric acid medium. *Corrosion science*, 52(9), 2793-2803.

Bai, L., Li, X., He, L., Zheng, Y., Lu, H., Li, J., Li, J. (2019). Antidiabetic potential of flavonoids from traditional Chinese medicine: A review. *The American journal of Chinese medicine*, 47(05), 933-957.

Bai, Q., Bai, Y. (2014). Corrosion Prevention and Advanced CP Design, Subsea pipeline design, analysis, and installation. *Gulf Professional Publishing*. Boston, 451–464.

Balдим, J.L., Alcântara, B.G.V.D., Domingos, O.D.S., Soares, M.G., Caldas, I.S., Novaes, R.D., Chagas-Paula, D.A. (2017). The correlation between chemical structures and antioxidant, prooxidant, and antitrypanosomatid properties of flavonoids. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 12 pages.

Bakhouch, A., Lozano-Sánchez, J, Ballus, C, Martínez-García M, González Velasco M, Olavarría G. (2015). Monitoring the moisture reduction and status of bioactive compounds in extra-virgin olive oil over the industrial filtration process. *Food Control*. 40,292–299.

Bammou, L., Mihit, M., Salghi, R., Bouyanzer, A., Al-Deyab, S.S., Bazzi, L., Hammouti, B., (2011). Inhibition Effect of Natural Artemisia Oils Towards Tinplate Corrosion in HCl solution: Chemical Characterization and Electrochemical Study. *International Journal of Electrochemical Science*, 6(5), 14.

Banerjee, S., Srivastava, V., Singh, M.M. (2012). Chemically modified natural polysaccharide as green corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium. *Corrosion Science*, 59, 35-41.

Barreca, D., Gattuso, G., Bellocco, E., Calderaro, A., Trombetta, D., Smeriglio, A., Nabavi, S.M. (2017). Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors*, 43(4), 495-506.

Bedi, G., Tonzibo, Z.F., Chopard, C., Mahy, J.P.N., Guessan, T.Y. (2004). Etude des effets anti douleurs des huiles essentielles de *Chromolaena Odorata* et de *Mikania Cordata*, par action sur la lipoxgénase L-1 de soja. *Physical and Chemical News*, 15, 124-127.

Behpour, M., Mohammadi, N., Alian, E. (2014). Electrochemical and Mass Loss Investigations of New Schiff Base as Corrosion Inhibitor for Mild Steel. *Journal of Iron and Steel Research International*, 21(1), 121-124.

Belhadj-Tahar, S., Hadj-Mahammed, M., Yousfi, M. (2015). Study of the antioxidant activity of phenolic extracts of *A. halimus L* and *Haloxylon scoparium Pomel* northern Sahara. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(11), 258-264.

Ben Hmamou, D., Salghi, R., Zarrouk, A., Hammouti, B., Al-Deyab, S.S., Bazzi, L., Bammou, L. (2012). Corrosion inhibition of steel in 1 M hydrochloric acid medium by chamomile essential oils. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(3), 2361-2373.

Benjilali, B., (2004), Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements, Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation, 17-59.

Benkrief, R., Brum-Bousquet, M., Tillequin, F., Koch, M. (1990). Alkaloids and flavonoid from aerial parts of *Hammada articulata* ssp. *scoparia*. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 48, No. 4, pp. 219-224).

Ben Salah, H., Jarraya, R., Martin, M.-T., Veitch, N.C., Grayer, R.J., Simmonds, M.S.J., Damak, M., (2002). Flavonol Triglycosides from the Leaves of *Hammada scoparia* (POMEL) ILJIN. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. (Tokyo) 50, 1268–1270.

Bénard, J., Michel, A., Philibert, J., Talbot, J. (1969). *Métallurgie Générale*, Masson et Cie. *Editeurs, Paris VI*, 49-52.

Benmessaoud Left, D., Zertoubi, M., Irhzo, A., Azzi, M., (2013). Review: oils and extracts plants as corrosion inhibitors for different metals and alloys in hydrochloric acid medium. *Journal Material Environmental Science*, 4(6) 855-866.

Benov, L.C., Antonov, P.A., Ribarov, S.R., (1994). Oxidative damage of the membrane lipids after electroporation. *General physiology and biophysics*, 13, 85–97.

Bhatt, Y., Kumari, P., Sunil, D., Rao, S.A., Shetty, P., Kagatkar, S. (2021). The impact of naphthalimide derivative on the mitigation of mild steel corrosion in sulfamic acid medium: experimental and theoretical insights. *Chemical Papers*, 75, 3831–3845.

Bouammali, H., Ousslim, A., Bekkouch, K., Bouammali, B., Aouniti, A., Al-Deyab, S.S., Jama, C., Bentiss, F., Hammouti, B. (2013). The Anti-Corrosion Behavior of *Lavandula dentata* Aqueous Extract on Mild Steel in 1M HCl. *International Journal of Electrochemical Science*, 8, 6005-6013

Boucherit, H., Benabdeli, K., Benaradj, A., Boughalem, M. (2018). Phytoecologie de *Hammada scoparia* dans la region de Naama (Algerie occidentale)/Phytoecology of *Hammada scoparia* in the region of Naama (Western Algeria). *Botanica Complutensis*, 93-100.

Boudalia, M., Guenbour, A., Bellaouchou, A., Laqhaili, A., Mousaddak, M., Hakiki, A., Hammouti, B., Ebenso, E.E. (2013). Corrosion Inhibition of Organic Oil Extract of Leaves Of *Lavandula Stoeckas* on Stainless Steel in Concentrated Phosphoric Acid Solution. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(5), 7414.

Bourazmi, H., Tabyaoui, M., Hattabi, L.E., Aoufir, Y.E., Taleb, M. (2018). Methanolic Extract of *Salvia Officinalis* plant as a green inhibitor for the corrosion of carbon steel in 1 M HCl. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9, 928-938.

Bourogaa, E., Bertrand, J., Despeaux, M., Jarraya, R., Fabre, N., Payrastra, L., Racaud-Sultan, C. (2011). *Hammada scoparia* flavonoids and rutin kill adherent and chemoresistant leukemic cells. *Leukemia research*, 35(8), 1093-1101.

Bouraoui, M. M., Chettouh, S., Chouchane, T., Khellaf, N. (2019). Inhibition efficiency of cinnamon oil as a green corrosion inhibitor. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*, 5(1), 1-9.

- Boutennoun, H., Boussouf, L., Kebieche, M., Al-Qaoud, K., Madani, K. (2017). In vivo analgesic, anti-inflammatory and antioxidant potentials of *Achillea odorata* from north Algeria. *South African Journal of Botany*, 112, 307-313.
- Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L. (2006). Pennyroyal oil from *Mentha pulegium* as corrosion inhibitor for steel in 1 M HCl. *Materials Letters*, 60(23), 2840-2843.
- Boxi M, Rajesh Y, Raja Kumar V, Praveen B, Mangamma K. (2010). Extraction, phytochemical screening and *in vitro* evaluation of antioxidant properties of *Commicarpus chinensis* (aqueous leaf extract). *International Journal of pharma and bio sciences*, 1, 537-547.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Breitmaier, E. (2006). *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*. John Wiley & Sons. pp. 24–51
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie-phytochimie et plantes médicinales. 4^{ème} édition. Technique et Documentation. Lavoisier.
- Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., Kinneary, J. F. (1996). The Merck Index Twelfth Edition, Merck & Co. Inc., New Jersey, 259.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Bystrom, L.M., Lewis, B.A., Brown, D.L., Rodriguez, E., Obendorf, R.L. (2008). Characterisation of phenolics by LC–UV/Vis, LC–MS/MS and sugars by GC in *Melicoccus bijugatus* Jacq. 'Montgomery' fruits. *Food chemistry*, 111(4), 1017-1024.

C

- Cardoso-Ugarte, G.A., Juárez-Becerra, G.P., SosaMorales, M.E., López-Malo, A. (2013). Microwave-assisted extraction of essential oils from herbs. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 47(1), 63-72.
- Casciaro, B., Mangiardi, L., Cappiello, F., Romeo, I., Loffredo, M.R., Iazzetti, A., Quaglio, D. (2020). Naturally-occurring alkaloids of plant origin as potential antimicrobials against antibiotic-resistant infections. *Molecules*, 25(16), 3619.
- Cassel, E., Vargas, R. M. F., Martinez, N., Lorenzo, D., Dellacassa, E. (2009). Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Industrial crops and products*, 29(1), 171-176.
- Chang, C.C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., Chern, J.-C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chao, H.C., Najjaa, H., Villareal, M.O., Ksouri, R., Han, J., Neffati, M., Isoda, H. (2013). *A rthropytum scoparium* inhibits melanogenesis through the down-regulation of tyrosinase and melanogenic gene expressions in B 16 melanoma cells. *Experimental dermatology*, 22(2), 131-136.

- Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Atik-Bekkara, F. (2014). Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *Journal of the Chinese Medical Association*, 77(6), 302-307.
- Chaubey, N., Yadav, D. K., Singh, V. K., Quraishi, M. A. (2017). A comparative study of leaves extracts for corrosion inhibition effect on aluminium alloy in alkaline medium. *Ain Shams Engineering Journal*, 8(4), 673-682.
- Chauhan, L. R., Gunasekaran, G. (2007). Corrosion inhibition of mild steel by plant extract in dilute HCl medium. *Corrosion science*, 49(3), 1143-1161.
- Chen, Z., Bertin, R., Frolidi, G. (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry*, 138(1), 414-420.
- Chetouani, A., Hammouti, B., Benkaddour, M. (2004). Corrosion inhibition of iron in hydrochloric acid solution by jojoba oil. *Pigment & resin technology*, 33(1) 26-31
- Chopra, I.C., Abrol, B.K., Handa, K.L., Paris, R., Dillemann, G. (1960). Medicinal plants of the arid zones. Part 1. With particular reference to the botanical aspects. Part 2. With particular reference to the pharmacological aspects. *Medicinal plants of the arid zones. Part 1. With particular reference to the botanical aspects. Part 2. With particular reference to the pharmacological aspects.* 13.
- Choudhary, S., Garg, A., Mondal, K. (2016). Relation between open circuit potential and polarization resistance with rust and corrosion monitoring of mild steel. *Journal of Materials Engineering and Performance*, 25(7), 2969-2976.
- Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., Chou, S.-T., (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454-2458.
- Clevenger, J.F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912)*, 17(4), 345-349.
- Costa, T.D.S.A., Vieira, R.F., Bizzo, H.R., Silveira, D., Gimenes, M.A. (2012). Secondary metabolites. *Chromatography and Its Applications*, 132-164.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cristofari, G., Znini, M., Majidi, L., Bouyanzer, A., Al-Deyab, S. S., Paolini, J., Costa, J. (2011). Chemical composition and anti-corrosive activity of *Pulicaria mauritanica* essential oil against the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄. *International Journal Electrochemistry Science*, 6, 6699-6717.
- Cristofari, G., Znini, M., Majidi, L., Costa, J., Hammouti, B., Paolini, J. (2012). *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* essential oil as environmentally friendly inhibitor on the corrosion of mild steel in hydrochloric acid. *International Journal Electrochemistry Science*, 7, 9024-9041.
- Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. (2006). *Plant Secondary Metabolites*, Blackwell Publishing, Oxford UK.

D

- Dahmani, M., Et-Touhami, A., Al-Deyab, S. S., Hammouti, B., Bouyanzer, A. (2010). Corrosion inhibition of C38 steel in 1 M HCl: A comparative study of black pepper extract and its isolated piperine. *International Journal Electrochemistry Science*, 5(8), 1060-1069.
- Dangles, O., Deluzarche, M. (1994). Flavonoïdes et anthocyanes. *Bulletin de l'Union des Physiciens*, 88(768), 1609-1617.
- Darriet, F., Znini, M., Majidi, L., Muselli, A., Hammouti, B., Bouyanzer, A., Costa, J. (2013). Evaluation of Eryngium maritimum essential oil as environmentally friendly corrosion inhibitor for mild steel in hydrochloric acid solution. *International Journal Electrochemistry Science*, 8, 4328-4345.
- Dawidowicz, A.L., Szewczyk, J., Dybowski, M.P. (2016). Modified application of HS-SPME for quality evaluation of essential oil plant materials. *Talanta*, 146, 195-202.
- De Almeida, L.F.R., Portella, R.O., Bufalo, J., Marques, M.O.M., Facanali, R., Frei, F. (2016). Non-Oxygenated Sesquiterpenes in the Essential Oil of *Copaifera langsdorffii* Desf. Increase during the Day in the Dry Season. *PLOS ONE* 11, e0149332.
- De Oliveira, A.M., Tirapelli, C.R., Ambrosio, S.R., da Costa, F.B. (2008). Diterpenes: a therapeutic promise for cardiovascular diseases. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery (Discontinued)*, 3(1), 1-8.
- De Sousa, I.P., Sousa Teixeira, M.V., Jacometti Cardoso Furtado, N.A. (2018). An overview of biotransformation and toxicity of diterpenes. *Molecules*, 23(6), 1387.
- Deodhar, M., Black, D.S., Kumar, N. (2007). Acid catalyzed stereoselective rearrangement and dimerization of flavenes: synthesis of dependensin. *Tetrahedron*, 63(24), 5227-5235.
- Deyab, M. A. (2015). Egyptian licorice extract as a green corrosion inhibitor for copper in hydrochloric acid solution. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 22, 384-389.
- Dewick, P.M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W. (2016). Essential Oils Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25.
- Dieter, L. (1993). Corrosion et chimie de surface des métaux. *Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne*.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Do Nascimento L.D., De Moraes A.A.B, Da Costa K.S., Galucio J.M.P., Taube P.S., Costa C.M.L., Cruz J.N., Andrade E.H.A., De Faria L.J.G., (2020). Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: new findings and potential applications. *Biomolecules* 10(7):988.
- Drioiche, A., Benhlima, N., Kharchouf, S., El Makhoukhi, F., Mehanned, S., Adadi, I., Aaziz, H., Kouh Elombo, F., Gressier, B., Eto, B., Zair, T. (2020). Antimicrobial and antiradical properties

of Hammada scoparia (POMEL) ILJIN. *Afr. J. Tradit. Complementary and Alternative Medicines*, 16(2), 1-14.

E

Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.L., Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*, 82(2-3), 97-103.

Egan, D., O'Kennedy, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E., Thornes, R.D. (1990). The pharmacology, metabolism, analysis, and applications of coumarin and coumarin-related compounds. *Drug metabolism reviews*, 22(5), 503-529.

El-Etre, A. Y. (2006). Khillah extract as inhibitor for acid corrosion of SX 316 steel. *Applied Surface Science*, 252(24), 8521-8525.

El-Etre, A. Y. (2007). Inhibition of acid corrosion of carbon steel using aqueous extract of olive leaves. *Journal of Colloid and Interface Science*, 314(2), 578-583.

El-Etre, A. Y. (2008). Inhibition of C-steel corrosion in acidic solution using the aqueous extract of zallouh root. *Materials Chemistry and Physics*, 108(2-3), 278-282.

El-Shazly, A., Wink, M., (2003). Tetrahydroisoquinoline and β -Carboline Alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(7-8), 477-480.

El Ouadi, Y., Lahhit, N., Bouyanzer, A., Majidi, L., Elmsellem, H., Cherrak, K., Costa, J. (2015). Chemical Composition and Inhibitory Effect of Essential Oil of Lavande (*Lavandula Dentata*) LD on the Corrosion of Mild Steel in Hydrochloric Acid (1M). *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*, 1(2), 49-65.

F

Fan, S., Chang, J., Zong, Y., Hu, G., Jia, J. (2018). GC-MS Analysis of the Composition of the Essential Oil from *Dendranthema indicum* Var. *Aromaticum* Using Three Extraction Methods and Two Columns. *Molecules*, 23(3), 576.

Faustin, M., Lebrini, M., Robert, F., Roos, C. (2011). Corrosion studies of C38 steel by alkaloids extract of a tropical plant type. *International Journal of Electrochemical Science*, 6(9), 4095-4113.

Fdil, R., Tourabi, M., Derhali, S., Mouzdahir, A., Sraidi, K., Zarrouk, A., Bentiss, F. (2018). Evaluation of alkaloids extract of *Retama monosperma* (L.) Boiss. stems as a green corrosion inhibitor for carbon steel in pickling acidic medium by means of gravimetric, AC impedance and surface studies. *Journal of Materials and Environmental Science*, 9(1) 358.

Fekadu, N., Basha, H., Meresa, A., Degu, S., Girma, B., Geleta, B. (2017). Diuretic activity of the aqueous crude extract and hot tea infusion of *Moringa stenopetala* (Baker f.) Cufod. Leaves in rats. *Journal of experimental pharmacology*, 9, 73.

Filipiak-Szok, A., Kurzawa, M., Szłyk, E. (2018). Simultaneous Determination of Isoquinoline Alkaloids in Medicinal Asiatic Plants by Ultrasound-Assisted Extraction and High-Performance

Liquid Chromatography–Mass Spectrometry with Principal Component Analysis. *Analytical Letters*, 51(16), 2577-2587.

Forkmann, G. (1999). Biosynthesis of flavonoids. *Polyketides and other secondary metabolites including fatty acids and their derivatives*, 713-748.

Fouda, A.S., Emam, A., Refat, R., Nageeb, M. (2017). Cascabela thevetia plant extract as corrosion inhibitor for carbon steel in polluted sodium chloride solution. *Journal of Analytical of Pharmaceutical Research*, 6(1), 154-168.

Fournet, A., Hocquemiller, R., Roblot, F., Cavé, A., Richomme, P., Bruneton, J. (1993). Les chimanines, nouvelles quinoléines substituées en 2, isolées d'une plante bolivienne antiparasitaire: Galipea Longiflora. *Journal of natural products*, 56(9), 1547-1552.

G

Galati, E.M., Monforte, M.T., Kirjavainen, S., Forestieri, A.M., Trovato, A., Tripodo, M.M. (1994). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco (Societa chimica italiana: 1989)*, 40(11), 709-712.

Garverick, L. (Ed.). (1994). *Corrosion in the petrochemical industry*. ASM international.

Gavahian, M., Farahnaky, A. (2018). Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 153-161.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

Ghetta, V., Fouletier, J., Taxil, P. (2009). *Sels fondus à haute température*. PPUR Presses polytechniques.

Gonny, M., Bradesi, P., Casanova, J. (2004). Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour and fragrance journal*, 19(5), 424-433.

Grele, K., Houari Adli, D.E., Slimani, M., Houari, H., Kourat, D., Kahloula, K. (2021). Evaluation of the nephroprotective effect of the essential oil of *Haloxylon articulatum* in Wistar rats intoxicated by Nickel. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(2), 96-105.

Grigonis, D., Venskutonis, P.R., Sivik, B., Sandahl, M., Eskilsson, C.S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloa odorata*). *The Journal of supercritical fluids*, 33(3), 223-233.

Gülçin, İ. (2011). Antioxidant Activity of Eugenol: A Structure–Activity Relationship Study. *Journal of medicinal food*, 14(9), 975-985.

H

Haddouchi, F., Chaouche, T.M., Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités anti-oxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

- Haida, S., Kribii, A., Kribii, A. (2020). Chemical composition, phenolic content and antioxidant capacity of Haloxylon scoparium extracts. *South African Journal of Botany*, 131, 151-160.
- Hailu, W., Engidawork, E. (2014). Evaluation of the diuretic activity of the aqueous and 80% methanol extracts of *Ajuga remota* Benth (Lamiaceae) leaves in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-8.
- Hale, A.L., Reddivari, L., Nzaramba, M.N., Bamberg, J.B., Miller, J.C. (2008). Interspecific variability for antioxidant activity and phenolic content among *Solanum* species. *American journal of potato research*, 85(5), 332-341.
- Hamadi, L., Benbouta, S., Kareche, A., Mansouri, S. *Opuntia Ficus Indica* (2022). Extract as a Corrosion Inhibitor for 304 Stainless Steel in Sulfuric Acid Solution. *International Journal of Science and Research*, 11(7), 359-365.
- Hanifi, N. (1991). Importance des ressources phytogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. *Publication des Actes éditions*, 16, 47-49.
- Haque, J., Srivastava, V., Chauhan, D.S., Quraishi, M.A., Madhan Kumar, A., Lgaz, H. (2020). Electrochemical and surface studies on chemically modified glucose derivatives as environmentally benign corrosion inhibitors. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 16, 100260.
- Harborne, J.B. (1986). *The Flavonoids, Advances in Research*, 1^{ère} Ed Chapman & Hall, London.
- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods-A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman and Hall, London. pp. 182-190.
- Harborne JB, Willams CA. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Hassanpour, S., MaheriSis, N., Eshratkhah, B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1).
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Hewlett, P.C., Justnes, H., Edmeades, R.M. (2019). Cement and concrete admixtures. *LEA'S Chemistry of Cement and Concrete*, 5.
- Hinneburg, I., Damien Dorman, H.J., Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food chemistry*, 97(1), 122-129.
- Heller, W., Forkmann, G. (2017). Biosynthesis of flavonoids. In *The flavonoids*. Routledge, 499-535.
- Hossain S.M.Z, Razzak S.A, Hossain M.M. (2020). Application of essential oils as green corrosion inhibitors. *The Arabian Journal for Science and Engineering*, 45(9):7137–7159.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Zhang, Y. (2009). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, 62(1), 1-20.

I

Ibn Tattou, M., Fennane, M. (1989). Aperçu historique et état actuel des connaissances sur la flore vasculaire du Maroc. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, 85-94.

Ishisaka, A., Ichikawa, S., Sakakibara, H., Piskula, M.K., Nakamura, T., Kato, Y., Terao, J. (2011). Accumulation of orally administered quercetin in brain tissue and its antioxidative effects in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(7), 1329-1336.

J

Jain, P. K., Joshi, H. (2012). Coumarin: chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(06), 236-240.

Jaradat, N.A., Al-Masri, M., Hussen, F., Zaid, A.N., Ali, I., Tammam, A., Rajabi, A. (2017). Preliminary phytochemical and biological screening of Cyclamen coum a member of palestinian flora. *Pharmaceutical Sciences*, 23(3), 231-237.

Jarraya, R., Damak, M. (2001). Alcaloïdes des feuilles de Hammada scoparia (POMEL) ILJIN. *Journal-societe chimique de tunisie*, 4(9), 941-948.

Jdey, A., Falleh, H., Ben Jannet, S., Mkadmini Hammi, K., Dauvergne, X., Magné, C., Ksouri, R. (2017). Anti-aging activities of extracts from Tunisian medicinal halophytes and their aromatic constituents. *EXCLI journal*, 16, 755.

Jean, V., Jiri, S. (1983). Plantes médicinales. 250 illustrations en couleurs. *Larousse, Paris*, 319.

Jk, K., Pm, N. (2016). Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Leaf Extract of Kigelia Africana (Lam.) Benth and Stem Bark Extract of Acacia Hockii De Wild in Mice. *J Dev Drugs*, 5(2), 1-8.

Jurd, L. (1962). Spectral properties of flavonoid compounds. In: Geissman Ta, ed. The chemistry of flavonoid compounds. Oxford: Pergamon Press. 107–155.

K

Kadham, M.A. (2008). Some pharmacological and toxicological investigation of Haloxylon salicornicum in rabbits. *Al Qadisiya J Vet Med Sci*, 7, 25-31.

Kairi, N. I., Kassim, J. (2013). The effect of temperature on the corrosion inhibition of mild steel in 1 M HCl solution by Curcuma longa extract. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(5), 7138-7155.

Kalemba, D., Kunicka, A., (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Curr. Med. Chem.* 10, 813–829.

Kalaiselvi, P., Chellammal, S., Palanichamy, S., Subramanian, G. (2010). Artemisia pallens as corrosion inhibitor for mild steel in HCl medium. *Materials Chemistry and Physics*, 120(2-3), 643-648.

- Kandasamy, N., Ashokkumar, N. (2014). Protective effect of bioflavonoid myricetin enhances carbohydrate metabolic enzymes and insulin signaling molecules in streptozotocin–cadmium induced diabetic nephrotoxic rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 279(2), 173-185.
- Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4), 1567-1574.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpo, J., Traore, A.S. (2006). Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African journal of biotechnology*, 5(2), 195-200
- Kavitha, D., Namasivayam, C. (2007). Experimental and kinetic studies on methylene blue adsorption by coir pith carbon. *Bioresource technology*, 98(1), 14-21.
- Kecili, R., Hussain, C. M. (2018). Mechanism of adsorption on nanomaterials. In *Nanomaterials in Chromatography* (pp. 89-115). Elsevier.
- Kelly, R.G., Scully, J.R., Shoesmith, D., Buchheit, R.G. (2002). *Electrochemical techniques in corrosion science and engineering*. CRC Press.
- Khadraoui, A., Khelifa, A., Boutoumi, H., Hamitouche, H., Mehdaoui, R., Hammouti, B., Al-Deyab, S.S. (2014). Adsorption and inhibitive properties of *Ruta chalepensis* L. oil as a green inhibitor of steel in 1 M hydrochloric acid medium. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 3334-3348.
- Khaled, K.F., Al-Qahtani, M.M. (2009). The inhibitive effect of some tetrazole derivatives towards Al corrosion in acid solution: Chemical, electrochemical and theoretical studies. *Materials Chemistry and Physics*, 113(1), 150-158.
- Khan, M. K., Huma, Z.-E., and Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33, 85–104.
- Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D. H., Lee, H. S., Ahn, Y. J. (2003). Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored products research*, 39(3), 293-303.
- Kikuchi, H., Yuan, B., Hu, X., Okazaki, M. (2019). Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. *American journal of cancer research*, 9(8), 1517.
- Koffi, A.J., Bla, K.B., Yapi, H.F., Bidie, A.P., Djaman, A.J. (2015). Phytochemical screening of some medicinal plants in Côte D’ivoire and evaluation of their extraction efficiency. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(3), 563-569.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.
- Korinko, P. S., Malene, S. H. (2001). Considerations for the weldability of types 304L and 316L stainless steel. *Practical failure analysis*, 1, 61-68.
- Kouider, H., Mohammed, B., Mohammed, M., Abdelkader, O., Abdelkarim, R. (2019). Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de djebel aissa (sud-ouest algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique*.

Kouki, T., Kishitake, M., Okamoto, M., Oosuka, I., Takebe, M., Yamanouchi, K. (2003). Effects of neonatal treatment with phytoestrogens, genistein and daidzein, on sex difference in female rat brain function: estrous cycle and lordosis. *Hormones and Behavior*, 44(2), 140-145.

Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Zasoski, R.J. (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems-a review. *Plant and soil*, 256(1), 41-66.

Kumar, R., Tripathi, Y. C. (2011). Getting fragrance from plants. *Training manual on extraction technology of natural dyes & aroma therapy and cultivation value addition of medicinal plants*, 1, 77-102.

Kumari, P. P., Shetty, P., Rao, S. A. (2017). Electrochemical measurements for the corrosion inhibition of mild steel in 1 M hydrochloric acid by using an aromatic hydrazide derivative. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(5), 653-663.

Kuznetsov, Y. I., Redkina, G.V. (2022). Thin Protective Coatings on Metals Formed by Organic Corrosion Inhibitors in Neutral Media. *Coatings*, 12(2), 149.

L

Lahhit, N., Bouyanzer, A., Desjobert, J. M., Hammouti, B., Salghi, R., Costa, J., Majidi, L. (2011). Fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil as green corrosion inhibitor of carbon steel in hydrochloric acid solution. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 29(2), 127-138.

Lamchouri, F., Benali, T., Bennani, B., Toufik, H., Hassani, L.I.M., Lyoussi, B. (2012). Preliminary phytochemical and antimicrobial investigations of extracts of *Haloxylon scoparium*. *Journal of Materials and Environmental Science*, 3(4), 754-759.

Landolt, D. (2003). Corrosion et chimie de surfaces des métaux (Vol. 12). PPUR presses polytechniques.

Lebrini, M., Robert, F., Roos, C. (2010). Inhibition effect of alkaloids extract from *Annona squamosa* plant on the corrosion of C38 steel in normal hydrochloric acid medium. *International Journal of Electrochemical Science*, 5(11), 1698-1712.

Lebrini, M., Robert, F., Blandinières, P.A., Roos, C. (2011). Corrosion inhibition by *Isertia coccinea* plant extract in hydrochloric acid solution. *International Journal of Electrochemical Science*, 6(7), 2443-2460.

Lecante, A., Robert, F., Blandinières, P.A., Roos, C. (2011). Anti-corrosive properties of *S. tinctoria* and *G. ouregou* alkaloid extracts on low carbon steel. *Current Applied Physics*, 11(3), 714-724.

Leduc C, Coonishish J, Haddad P, Currier A. (2006). Plants used by Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ehtnopharmacology*, 105(1-2): 55-63.

Lee, Y.E., Kim, J.-W., Lee, E.-M., Ahn, Y.-B., Song, K.-H., Yoon, K.-H., Kim, H.-W., Park, C.-W., Li, G., Liu, Z., Ko, S.-H., (2012). Chronic Resveratrol Treatment Protects Pancreatic Islets against Oxidative Stress in db/db Mice. *PLoS ONE*, 7(11), e50412.

Li, X. H., Deng, S. D., Fu, H. (2010). Inhibition by *Jasminum nudiflorum* Lindl. leaves extract of the corrosion of cold rolled steel in hydrochloric acid solution. *Journal of Applied Electrochemistry*, 40(9), 1641-1649.

Li, Y., Plitzko, I., Zaugg, J., Hering, S., Hamburger, M. (2010). HPLC-based activity profiling for GABAA receptor modulators: a new dihydroisocoumarin from *Haloxylon scoparium*. *Journal of natural products*, 73(4), 768-770.

Lipschitz, W.L., Hadidian, Z., Kerpcsar, A. (1943). Bioassay of Diuretics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 79(2), 97-110.

Lis-Balchin, M., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(2), 98-104.

Lorigooini, Z., Jamshidi-kia, F., Dodman, S. (2020). Analysis of sesquiterpenes and sesquiterpenoids. In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 289-312). Elsevier.

Lorke, D. (1983). A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of toxicology*, 54(4), 275-287.

Lowmunkhong, P., Ungtharak, D., Sutthivaiyakit, P. (2010). Tryptamine as a corrosion inhibitor of mild steel in hydrochloric acid solution. *Corrosion Science*, 52(1), 30-36.

Loza-Tavera, H. (1999). Monoterpenes in essential oils. *Chemicals via higher plant bioengineering*, 49-62.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Sarni-Manchado, P. (2006). Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. *Les polyphénols en agroalimentaire. Coordonnatrices Sarni-Manchado P et Cheynier V, TEC et DOC.(Eds), Lavoisier, Paris, 390, 399.*

Madhan, B., Muralidharan, C., Jayakumar, R. (2002). Study on the stabilisation of collagen with vegetable tannins in the presence of acrylic polymer. *Biomaterials*, 23(14), 2841-2847.

Mahross, M.H., Naggar, A.H., Elnasr, T.A.S., Abdel-Hakim, M. (2016). Effect of rice straw extract as an environmental waste corrosion inhibitor on mild steel in an acidic media. *Chemistry of Advanced Materials*, 1(1).

Merfort, I. (2002). Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*, 967(1), 115-130.

Meshko, V., Markovska, L., Mincheva, M., Rodrigues, A. E. (2001). Adsorption of basic dyes on granular activated carbon and natural zeolite. *Water research*, 35(14), 3357-3366.

Mezghani-Jarraya R, Hammami H, Ayadi A, Damak M. (2009). Molluscicidal activity of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin leaf extracts and the principal alkaloids isolated from them against *Galba truncatula*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 104(7), 1035-1038.

Meyer-Warnod, B. (1984). Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils. *Perfumer & flavorist*, 9(2), 93-104.

Migahid, A.M., El-Sharkawi, H.M., Batanouny, K.H., Shalaby, A.F. (1975). Phytosociological and Ecological Studies of Maktala Sector of Sidi-Barrani IV. Range potentialities of the communities. *Feddes Repertorium*, 86(9-10), 579-587.

Milane, H.A., Ubeaud, G., Vandamme, T.F., Jung, L. (2004). Isolation of quercetin's salts and studies of their physicochemical properties and antioxidant relationships. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(13), 3627-3635.

Mira, B., Blasco, M., Subirats, S., Berna, A. (1996). Supercritical CO₂ extraction of essential oils from orange peel. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9(4), 238-243.

Morel, I., Lescoat, G., Cogrel, P., Sergent, O., Padeloup, N., Brissot, P., Cillard, J. (1993). Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochemical pharmacology*, 45(1), 13-19.

Moretti, G., Guidi, F., Fabris, F. (2013). Corrosion inhibition of the mild steel in 0.5 M HCl by 2-butyl-hexahydropyrrolo [1, 2-b][1, 2] oxazole. *Corrosion Science*, 76, 206-218.

Mroczek, A. (2015). Phytochemistry and bioactivity of triterpene saponins from Amaranthaceae family. *Phytochemistry Reviews*, 14(4), 577-605.

Munro, I.C., Harwood, M., Hlywka, J.J., Stephen, A.M., Doull, J., Flamm, W.G., Adlercreutz, H. (2003). Soy isoflavones: a safety review. *Nutrition reviews*, 61(1), 1-33.

Muñoz, A.I., Antón, J.G., Guiñón, J.L., Herranz, V.P. (2006). The effect of chromate in the corrosion behavior of duplex stainless steel in LiBr solutions. *Corrosion science*, 48(12), 4127-4151.

N

Nabli, M.A. (1991). Diversité floristique en Tunisie. *Conservation des ressources végétales, (Eds.), Rejdali M. et Heywood VH Actes Editions Rabat, Maroc.*

Nagai, S., Ohara, K., Mukai, K. (2005). Kinetic study of the quenching reaction of singlet oxygen by flavonoids in ethanol solution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(9), 4234-4240.

Nenadis, N., Tsimidou, M.Z., (2010). Assessing the activity of natural food antioxidants, in: Decker, E.A. (Ed.), *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 332–367.

Ningshen, S., Mudali, U. K., Amarendra, G., Raj, B. (2009). Corrosion assessment of nitric acid grade austenitic stainless steels. *Corrosion Science*, 51(2), 322-329.

Norman, E. H. (1965). NACE glossary of corrosion terms. *Materials Protection*, 4(1), 79.

Nounah, I., Hajib, A., Oubihi, A., Harhar, H., Gharby, S., Kartah, B., Charrouf, Z. (2019). Phytochemical Screening and Biological Activity of Leaves and stems extract of Hammada Scoparia. *Moroccan Journal of Chemistry*. 7(1) 1-9.

O

Obot, I. B., Ebenso, E. E., Gasem, Z. M. (2012). Eco-friendly corrosion inhibitors: adsorption and inhibitive action of ethanol extracts of *Chromolaena odorata* L. For the corrosion of mild steel in H₂SO₄ solutions. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(3), 1997-2008.

Omoboyowa, D.A., Afolabi, F.O., Aribigbola, T.C. (2018). Pharmacological potential of methanol extract of *Anacardium occidentale* stem bark on alloxan-induced diabetic rats. *Biomedical Research and Therapy*, 5(7), 2440-2454.

Ostovari, A., Hoseinie, S. M., Peikari, M., Shadizadeh, S. R., & Hashemi, S. J. (2009). Corrosion inhibition of mild steel in 1 M HCl solution by henna extract: A comparative study of the inhibition by henna and its constituents (Lawsonic acid, Gallic acid, α -D-Glucose and Tannic acid). *Corrosion Science*, 51(9), 1935-1949.

Oyaizu, M. (1986). Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

Ozenda P. (1983)

Ozenda P. (1991). Flore de saharas (3 édition mise à jour et augmentée) Paris, Editions du CNRS, 662p.

P

Palsamy, P., Subramanian, S. (2008). Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 62(9), 598-605.

Panda, S., Kar, A. (2007). Apigenin (4', 5,7-trihydroxyflavone) regulates hyperglycaemia, thyroid dysfunction and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(11), 1543-1548.

Pandarinathan, V., Lepkova, K., Bailey, S. I., Becker, T., Gubner, R. (2014). Adsorption of corrosion inhibitor 1-dodecylpyridinium chloride on carbon steel studied by in situ AFM and electrochemical methods. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(14), 5858-5865.

Patel, U., Kulkarni, M., Undale, V., Bhosale, A. (2009). Evaluation of Diuretic Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Lepidium sativum* Garden Cress (Cruciferae) in Rats. *Journal of Pharmaceutical Research*, 8(3).

Pillot, S. (2016). Fusion laser sélective de lit de poudres métalliques. *Technique de l'ingénieur BM7900*.

Pradeep Kumar, C.B., Mohana, K.N. (2014). Phytochemical screening and corrosion inhibitive behavior of *Pterolobium hexapetalum* and *Celosia argentea* plant extracts on mild steel in industrial water medium. *Egyptian Journal of Petroleum*, 23(2), 201-211.

Popoola, L.T. (2019). Organic green corrosion inhibitors (OGCIs): a critical review. *Corrosion Reviews*, 37(2), 71-102.

Popova, A., Christov, M., Vasilev, A. (2007). Inhibitive properties of quaternary ammonium bromides of N-containing heterocycles on acid mild steel corrosion. Part I: Gravimetric and voltammetric results. *Corrosion Science*, 49(8), 3276-3289.

Q

Quezel P, Santa S (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

R

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.

Refaey, S. A. M., Taha, F., Shehata, H. S. (2004). Corrosion protection of mild steel by formation of iron oxide polybithiophene composite films. *Journal of applied electrochemistry*, 34(9), 891-897.

Revie, R.W., Uhlig, H.H., Uhlig, H.H. (Eds.), 2000. Uhlig's corrosion handbook, 2nd ed, Electrochemical Society series. Wiley, New York.

Riskin, J., (2008). Corrosion Behavior Investigations of Traditional Structural Metallic Materials in Electrochemical Plant Media, Chapter 5, Electrocorrosion and Protection of Metals. Elsevier, Amsterdam, pp. 69–78.

Rodríguez-Torres, A., Olivares-Xometl, O., Valladares-Cisneros, M.G., González-Rodríguez, J. G. (2018). Effect of green corrosion inhibition by *Prunus persica* on AISI 1018 carbon steel in 0.5 M H₂SO₄. *International Journal of Electrochemical Science*, 13, 3023-3049.

Rokia, S., Halimatou, K.A., Ouassa, D., Drissa, D. (2009). Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension artérielle. *Mali Médical*, 24(4).

Roze, L.V., Chanda, A., Linz, J. E. (2011). Compartmentalization and molecular traffic in secondary metabolism: a new understanding of established cellular processes. *Fungal Genetics and Biology*, 48(1), 35-48.

Rozmer, Z., Perjési, P. (2016). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry reviews*, 15(1), 87-120.

S

Sahu, N. P., Achari, B., Banerjee, S. (1998). 7, 3'-Dihydroxy-4'-methoxyflavone from seeds of *Acacia farnesiana*. *Phytochemistry*, 49(5), 1425-1426.

Salghi, R., Hmamou, D. B., Benali, O., Ebenso, E., Oukacha, A., Tahrouch, S., Hammouti, B. (2015). Study of the corrosion inhibition effect of Pistachio Essential Oils in 0.5 M H₂SO₄. *International Journal of Electrochemical Science*, 10, 8403-8411.

- Sanogo, R., Halimatou, K. A., Ouassa, D., Drissa, D. (2009). Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en Médecine Traditionnelle Pour Le Traitement De L'hypertension artérielle. *Mali medical*, 24(4).
- Saratha, R., Priya, S.V., Thilagavathy, P. (2009). Investigation of Citrus aurantiifolia leaves extract as corrosion inhibitor for mild steel in 1 M HCl. *E-Journal of chemistry*, 6(3), 785-795.
- Satapathy, A.K., Gunasekaran, G., Sahoo, S.C., Amit, K., Rodrigues, P.V. (2009). Corrosion inhibition by Justicia gendarussa plant extract in hydrochloric acid solution. *Corrosion Science*, 51, 2848–2856.
- Sathiyamoorthy, P., Lugasi-Evgi, H., Van Damme, P., Abu-Rabia, A., Gopas, J., Pollack, Y., (1997). *International Journal of Pharmacognosy*, 35, 265.
- Sathiyamoorthy, P., Lugasi-Evgi, H., Schlesinger, P., Kedar, I., Gopas, J., Pollack, Y. (1999) *Pharmaceutical Biology*, 37, 188.
- Sayana, S.B. (2014). Evaluation of Diuretic Activity of Alcoholic Extract of Roots of Pharmacology Section Cissampelos Pareira in Albino Rats. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(7), HC01.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 287-306.
- Schaschl, E. (1973). Methods for evaluation and testing of corrosion inhibitors. *Ed. By CC Nathan, Houston, NACE Corrosion Inhibitors, USA, National Association of Corrosion Engineers*, 28-41.
- Shehata, O.S., Korshed, L.A., Attia, A. (2018). Green corrosion inhibitors, past, present, and future. *Corrosion inhibitors, principles and recent applications*, 121.
- Shraim, A.M., Ahmed, T.A., Rahman, M.M., Hijji, Y.M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT* 150, 111932.
- Siddiqui, S., Verma, A., Rather, A.A., Jabeen, F., Meghvansi, M.K. (2009). Preliminary phytochemicals analysis of some important medicinal and aromatic plants. *Advances in biological research*, 3(5-6), 188-195.
- Singh, A., Singh, V. K., Quraishi, M. A. (2010_a). Aqueous extract of Kalmegh (*Andrographis paniculata*) leaves as green inhibitor for mild steel in hydrochloric acid solution. *International journal of Corrosion*, Volume 2010.
- Singh, A., Singh, V.K., Quraishi, M.A. (2010_b). Effect of fruit extracts of some environmentally benign green corrosion inhibitors on corrosion of mild steel in hydrochloric acid solution. *Journal of materials and environmental science*, 1(3), 162-174.
- Singh, D., Mathela, C.S., Panwar, A., Pande, V. (2014). Sesquiterpene hydrocarbon rich essential oils of *Caryopteris odorata* (D. Don) Robin: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of essential oil research*, 26, 274–281.
- Slimani, N., Chehma, A., Mahboub, A., Hallis, Y. (2015). Richesse et intérêt des plantes spontanées des zones humides de la région de l'oued right (Algérie). *Revue des Bioressources*, 5(2).

Soltani, N., Tavakkoli, N., Khayatkashani, M., Jalali, M. R., Mosavizade, A. (2012). Green approach to corrosion inhibition of 304 stainless steel in hydrochloric acid solution by the extract of *Salvia officinalis* leaves. *Corrosion Science*, 62, 122-135.

Sosa, S., Balick, M.J., Arvigo, R., Esposito, R.G., Pizza, C., Altinier, G., Tubaro, A. (2002). Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 211-215.

Stratakos, A.C., Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press (31-38).

Svobodová, A., Psotová, J., Walterová, D. (2003). Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 147(2), 137-145.

T

Tamma, N.E., Gherraf N.E., Laouini, S.E., Kefi, S., Limam, F. (2017). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Phenolic Extracts from *Haloxylon articulatum* Bioss Growth in Oued Souf –Algeria. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(2), 86-92.

Tang, Y.C., Katsuma, S., Fujimoto, S., Hiromoto, S. (2006). Electrochemical study of Type 304 and 316L stainless steels in simulated body fluids and cell cultures. *Acta biomaterialia*, 2(6), 709-715.

Tao, Z., Li, Y., Peng, Y. X., Su, H., Han, L., Liu, G. (2020). Electrochemical studies of prothioconazole as a novel corrosion inhibitor for copper in acidic solutions. *RSC advances*, 10(36), 21517-21529.

Tazi, S., Raissouni, I., Chaoukat, F., Bouchta, D., Dahdouh, A., Elkhamlichi, R., Douhri, H. (2016). L'effet Inhibiteur d'Eugénol sur la corrosion du Laiton dans NaCl 3% (The Inhibition effect of Brass corrosion in NaCl 3% by Eugenol). *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(5), 1642-1652.

Torres, V.V., Amado, R. S., De Sá, C.F., Fernandez, T.L., da Silva Riehl, C.A., Torres, A.G., D'Elia, E. (2011). Inhibitory action of aqueous coffee ground extracts on the corrosion of carbon steel in HCl solution. *Corrosion Science*, 53(7), 2385-2392.

Trease, G.E. and Evans, W.C. (2002). *Pharmacognosy*. 15th Edition. Saunders Publishers, London.

V

Van Acker, S.A., Tromp, M.N., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van Der Vijgh, W.J., Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331-342.

Verma, C.B., Quraishi, M.A., Singh, A. (2015). 2-Aminobenzene-1,3-dicarbonitriles as green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M HCl: Electrochemical, thermodynamic, surface and quantum chemical investigation. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 49, 229-239.

Verma, C., Olasunkanmi, L.O., Obot, I.B., Ebenso, E.E., Quraishi, M.A. (2016). 2, 4-Diamino-5-(phenylthio)-5 H-chromeno [2, 3-b] pyridine-3-carbonitriles as green and effective corrosion inhibitors: gravimetric, electrochemical, surface morphology and theoretical studies. *RSC advances*, 6(59), 53933-53948.

Vessal, M., Hemmati, M., Vasei, M. (2003). Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comp. Biochem. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 357-364.

Villalba, M., Barderas, R., Mas, S., Colás, S., Batanero, E., Rodríguez García, R. (2014). Amaranthaceae pollens: review of an emerging allergy in the mediterranean area.

Vinayagam, R., Xu, B. (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & metabolism*, 12(1), 1-20.

Visht, S., Chaturvedi, S. (2012). Isolation of natural products. *Journal of Current Pharma Research*, 2(3), 584.

W

Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Chang, Y. C., Booren, A. M., Gray, J. I., DeWitt, D. L. (1999). Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of natural products*, 62(2), 294-296.

White, F. (1986). *La végétation de l'Afrique : mémoire accompagnant la carte de végétation de l'Afrique Unesco/AETFAT/UNSO* (Vol. 20). IRD Editions.

Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 111(3), 544-547.

Y

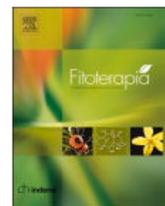
Yuliana, N.D., Khatib, A., Link-Struensee, A.M., Ijzerman, A.P., Rungkat-Zakaria, F., Choi, Y.H., Verpoorte, R. (2009). Adenosine A1 receptor binding activity of methoxy flavonoids from *Orthosiphon stamineus*. *Planta Medica*, 75(02), 132–136.

Yinyang, J., Mpondo, E.M., Tchatat, M., Ndjib, R.C., Ottou, P.M., Dibong, S. D. (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6600-6619.

Z

- Zaffora, A., Di Franco, F., Santamaria, M. (2021). Corrosion of stainless steel in food and pharmaceutical industry. *Current Opinion in Electrochemistry*, 29, 100760.
- Zea, C., Alcántara, J., Barranco-García, R., Morcillo, M., De la Fuente, D. (2018). Synthesis and characterization of hollow mesoporous silica nanoparticles for smart corrosion protection. *Nanomaterials*, 8(7), 478.
- Zeb, A. (2015). A reversed phase HPLC-DAD method for the determination of phenolic compounds in plant leaves. *Analytical Methods*, 7(18), 7753-7757.
- Zhao, R., Yu, Q., Niu, L. (2022). Corrosion inhibition of amino acids for 316L stainless steel and synergistic effect of I⁻ ions: Experimental and theoretical studies. *Materials and Corrosion*. 73, 31–44.
- Zhuang, X. L., Fu, Y. C., Xu, J. J., Kong, X. X., Chen, Z. G., Luo, L. L. (2010). Effects of genistein on ovarian follicular development and ovarian life span in rats. *Fitoterapia*, 81(8), 998-1002.
- Zielinski, A., Renauld, E., Puiggali, M., Olive, J. M., Cid, M., Desjardins, D. (1995). Effects of tempers on environmental-assisted failure of an Al-Zn-Mg-Cu alloy. *Journal of materials processing technology*, 53(1-2), 491-498.
- Znini, M., Bouklah, M., Majidi, L., Kharchouf, S., Aouniti, A., Bouyanzer, A., Al-Deyab, S.S. (2011_a). Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. *International Journal of Electrochemical Science*, 6(3), 691-704
- Znini, M., Majidi, L., Laghchimi, A., Paolini, J., Hammouti, B., Costa, J., Al-Deyab, S.S. (2011_b). Chemical composition and anticorrosive activity of *Warionia saharea* essential oil against the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄. *International Journal of Electrochemical Science*, 6, 5940-5955.
- Znini, M., Cristofari, G., Majidi, L., Ansari, A., Bouyanzer, A., Paolini, J., Hammouti, B. (2012_a). Green approach to corrosion inhibition of mild steel by essential oil leaves of *Asteriscus graveolens* (Forssk.) in sulphuric acid medium. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(5), 3959-3981.
- Znini, M., Majidi, L., Bouyanzer, A., Paolini, J., Desjobert, J.M., Costa, J., Hammouti, B. (2012_b). Essential oil of *Salvia aucheri mesatlantica* as a green inhibitor for the corrosion of steel in 0.5 M H₂SO₄. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 467-474.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 58(1), 45-54.
- Zuiter, A.S. (2014). Proanthocyanidin: Chemistry and biology: From phenolic compounds to proanthocyanidins. Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier Inc.

Publications internationales



Evaluation of anti-inflammatory, diuretic and oral glucose tolerance activities of phenolic compound-rich fractions of *Hammada articulata* in Albino Wistar rats

Meriem Kemel^{a,b,*}, Asma Lahouel^b, Djamila Zama^a, Samir Benayache^a, Fadila Benayache^a

^a Unité de Recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques, Université Frères Mentouri, Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 250017 Constantine, Algeria

^b Laboratoire de Phytochimie et de Pharmacologie, Département de Chimie, Faculté des Sciences Exactes et Informatique, Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel, B. P. 98, Ouled Aïssa, 18000 Jijel, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Hammada articulata

RP-HPLC-DAD

Phenolic compounds

Anti-inflammatory activity

Diuretic activity

Anti-hyperglycemic effect

ABSTRACT

Hammada articulata is a plant widely used by the locals of the Algerian Sahara for multiple medicinal purposes. However, little was known about its chemical composition and the mechanisms of its bioactivity. For this purpose, the derived extracts [chloroform (CHCl₃), ethyl acetate (EtOAc) and *n*-butanol (*n*-BuOH)] of the 80% ethanol extract of its aerial parts, were evaluated for their anti-inflammatory, diuretic, and anti-hyperglycemic activities *in vivo*. A preliminary phytochemical screening of *H. articulata* extracts showed the presence of a variety of secondary metabolites. RP-HPLC/DAD was used to analyze some fractions obtained by fractionation of the three derived extracts, by column chromatography and chosen because of the abundance and simplicity of their chemical composition. The fractions obtained from EtOAc and *n*-BuOH extracts showed a particular richness in phenolic compounds mainly naringenin, quercetin, kaempferol, myricetin, and rutin, which were known for their many interesting biological activities. The three derived extracts from *H. articulata* were assessed for their anti-inflammatory activity in the carrageenan-induced edema model in rats and their diuretic activity using hydrochlorothiazide (HCTZ) as a diuretic reference. All extracts showed considerable anti-inflammatory activity; the highest was registered in the group treated with the *n*-BuOH extract. However, for the diuretic activity, only the chloroform extract was active, with a diuretic spectrum similar to that of the standard diuretic HCTZ. The anti-hyperglycemic effect was carried out on the three derived extracts administered orally at a dose of 200 mg/kg, using the glucose tolerance test after gavage with the extracts. The EtOAc and *n*-BuOH extracts showed significant anti-hyperglycemic activity, improving oral glucose tolerance in normal rats.

1. Introduction

Medicinal plants have been used for thousands of years in the treatment of various diseases [1,2]. These plants contain many important phytochemical compounds that are biologically active, like flavonoids, saponins, alkaloids, tannins, terpenoids, stilbenes, steroids, and some other endogenous metabolites with potential therapeutic effects [3]. Saharan plants are a research reservoir for new bioactive molecules, given the use of many of them in traditional medicine. Indeed, given their ecosystem, these plants are subject to intense oxidative stress and water shortages. These conditions mean that they are probably going to develop defense mechanisms, leading to the accumulation of specific

secondary metabolites from a structural and biological point of view. The traditional use of plants in the Algerian Sahara is common but poorly recognized by the scientific community. The genus *Hammada* presents one of the most important genera in the Amaranthaceae family, which consists of approximately 25 species. *Hammada articulata*, synonyms: *Hammada scoparia* (Pomel), *Haloxylon tamariscifolium* (L.) Pau., *Haloxylon articulatum* Bonn. et Barr., *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin, is a shrub or small tree that grows especially in the desert and semi-desert areas in soils containing much salt [4]. This plant has been used in traditional medicine for the treatment of diabetes, diseases related to joint problems, vision disorders, scorpion stings, and various skin lesions. It also has been used to treat early-stage cancers and hepatitis, as

* Corresponding author at: Unité de Recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques, Université Frères Mentouri, Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 250017 Constantine, Algeria.

E-mail address: kemelmeriem@gmail.com (M. Kemel).

<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105477>

Received 6 January 2023; Received in revised form 16 March 2023; Accepted 21 March 2023

0367-326X/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.



Chemical Composition, Antioxidant and Anticorrosive Activities of *Hammada articulata* Essential Oil

Meriem Kemel^{1,2} · Djamila Zama¹ · Samir Benayache¹ · Jean-Claude Chalchat³ · Gilles Figueredo⁴ · Pierre Chalard⁵ · Fadila Benayache¹

Received: 12 April 2022 / Accepted: 28 May 2022
© The Tunisian Chemical Society and Springer Nature Switzerland AG 2022

Abstract

The objective of this research was to investigate the chemical composition of the essential oil of *Hammada articulata* obtained by steam distillation and to investigate its antioxidant and anticorrosive activities. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of this oil resulted in the identification of 46 compounds, which accounted for 97.0% of the total oil. The major components found in this oil were hexahydrofarnesyl acetone (11.9%), β -bisabolene (10.7%), eugenol (7.7%) and 2-methyldecalin (5.3%). The DPPH radical scavenging technique was used to assess antioxidant activity. The sample of essential oil presented good antioxidant activity. This oil was tested as a corrosion inhibitor of stainless steel in 0.5 M HCl using weight loss measurements and electrochemical polarization methods. The corrosion rate of stainless steel was decreased in the presence of essential oil. The inhibition efficiency was found to increase with oil concentration to attain 96.68% at 1000 ppm. The adsorption of inhibitor on the stainless steel surface was found to be a spontaneous process and obeys Langmuir's adsorption isotherm.

Keywords *Hammada articulata* · Essential oil · Antioxidant activity · Corrosion inhibition · Polarization method · GC–MS

1 Introduction

The hunt for natural inhibitors that are also non-toxic has resulted in a large number of studies on the anticorrosive potential of plants. This is particularly relevant because it is believed that synthetic inhibitors are potentially harmful to

the environment. Among these natural inhibitors, we highlight the essential oils (EOs), which are increasingly attracting the attention of various research segments due to their multiple functions [1].

Several studies have shown that structural parameters such as the geometric structure, the presence of heteroatoms (N, O, S, etc.), the length of the carbon chain, the type of bonding through the molecule, and the molecular ability to form a continuous layer on the metal surface can influence the effectiveness of organic inhibitors. [2, 3]. The essential oils contain a wide variety of organic compounds that can be easily adsorbed onto the metal surface, forming protective films. Among other things, these include monoterpenes, sesquiterpenes, carboxylic compounds, etc., which play various roles during the life of the plant [1].

Stainless steels, in particular Type 316L, are widely used in the food and pharmaceutical industries because of their high corrosion resistance.

They are also employed in medical implants such as stents and orthopedic replacements because of their superior mechanical properties. Internal parts of reactor vessels in the pharmaceutical and chemical industries are often made of stainless steel and exposed to oxidizing media under

✉ Meriem Kemel
kemelmeriem@gmail.com

¹ Unité de Recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques, Université Frères Mentouri, Constantine 1, Route d'Aïn El Bey, 250017 Constantine, Algérie

² Laboratoire de Phytochimie et de Pharmacologie, Département de Chimie, Faculté des Sciences Exactes et Informatique, Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel, Ouled Aïssa, B.P. 98, 18000 Jijel, Algérie

³ Association de Valorisation des Huiles Essentielles et des Arômes (AVAHEA), La Laye 7, 63500 Saint Babel, France

⁴ Laboratoire d'Analyses des Extraits Végétaux et des Arômes (LEXVA Analytique), 460 Rue du Montant, 63110 Beaumont, France

⁵ Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, ICCF, 63000 Clermont-Ferrand, France

Résumé

Dans le présent travail, les parties aériennes (1200 g) de la plante saharienne *Hammada articulata* ont subi à une macération dans l'éthanol à 80%. Après filtration, la solution obtenue est concentrée (37°C) puis additionnée d'eau distillée (480 ml). Après un repos d'une nuit à 4°C et filtration, la solution obtenue est extraite successivement avec l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol. Les phases organiques sont séchées avec Na₂SO₄, filtrées et concentrées donnant les extraits dérivés correspondants. Le criblage phytochimique des extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH a permis de mettre en évidence leurs classes de métabolites secondaires. Leurs teneurs totales en composés phénoliques et en flavonoïdes ont également été évaluées par des méthodes spectrophotométriques. Les résultats des dosages montrent la richesse des extraits AcOEt et *n*-BuOH en polyphénols et en flavonoïdes. La détermination de la composition phénolique de plusieurs fractions des trois extraits a été réalisée par HPLC-DAD. On y relève la présence de composés phénoliques principalement des acides phénoliques et des flavonoïdes. L'analyse par CPG/FID et CPG/SM de l'huile essentielle de *Hammada articulata* a montré que cette huile est dominée par les sesquiterpènes comme classe majeure. Les principaux composants trouvés dans cette huile étaient l'hexahydrofarnesyl acétone, le β-bisabolène et l'eugénol. Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits a été évaluée par trois méthodes : DPPH, ABTS et FRAP. Les résultats soulignent que les extraits AcOEt et *n*-BuOH, montrent les meilleures capacités antioxydantes, dépendantes du contenu en polyphénols et en flavonoïdes totaux. Concernant les travaux *in vivo*, les trois extraits de *H. articulata* ont été évalués pour leur activité anti-inflammatoire sur un modèle d'œdème induit par la carragénine chez le rat. Tous les extraits ont montré une activité anti-inflammatoire considérable, la plus élevée a été enregistrée dans le groupe traité avec l'extrait *n*-BuOH ce qui concerne l'activité diurétique, seul l'extrait CHCl₃ était actif et montre un spectre diurétique similaire à celui de l'hydrochlorothiazide. En outre, les extraits AcOEt et *n*-BuOH de *Hammada articulata* réduisent significativement le taux de glucose sanguin des rats normaux et des rats soumis à une hyperglycémie temporaire. La deuxième partie a été consacrée à l'étude des propriétés inhibitrices de l'huile et des extraits de la plante sélectionnée contre la corrosion de l'acier inoxydable en milieu acide en utilisant plusieurs techniques telles que : l'étude gravimétrique, la méthode potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique. Les résultats ont montré que ces inhibiteurs verts possèdent des performances inhibitrices pertinentes.

L'adsorption des composés naturels sur la surface de l'acier obéit à l'isotherme de Langmuir et elle est du type physisorption. Des mécanismes d'adsorption de ces composés à la surface ont été proposés.

Mots clés : Polyphénols ; Flavonoïdes ; HPLC-DAD ; CPG/FID et CPG/SM ; Activité antioxydante ; Activité anti-inflammatoire ; Activité diurétique ; Acier inoxydable ; Corrosion ; Inhibiteur vert.

Summary

In the present work, the aerial parts (1200 g) of the Saharan plant *Hammada articulata* underwent maceration in 80% ethanol. After filtration, the solution obtained was concentrated (37°C) then added with distilled water (480 mL). After standing overnight at 4°C and filtration, the solution obtained is extracted successively with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol. The organic phases were dried with Na₂SO₄, filtered and concentrated giving the corresponding derived extracts. Phytochemical screening of the CHCl₃, AcOEt and *n*-BuOH extracts revealed their classes of secondary metabolites. Their total contents of phenolic compounds and flavonoids were also evaluated by spectrophotometric methods. The assay results showed the richness of the AcOEt and *n*-BuOH extracts in polyphenols and flavonoids. The determination of the phenolic composition of several fractions of the three extracts was carried out by HPLC-DAD. We note the presence of phenolic compounds, mainly phenolic acids and flavonoids. GC/FID and GC/MS analysis of *Hammada articulata* essential oil showed that this oil is dominated by sesquiterpenes as a major class. The main components found in this oil were hexahydrofarnesyl acetone, β -bisabolene and eugenol. In addition, the antioxidant activity of the extracts was evaluated by three methods: DPPH, ABTS and FRAP. The results underline that the AcOEt and *n*-BuOH extracts showed the best antioxidant capacities, depending on polyphenol and flavonoid contents. Concerning *in vivo* work, the three extracts of *H. articulata* were evaluated for their anti-inflammatory activity on a model of edema induced by carrageenan in rats. All extracts showed considerable anti-inflammatory activity, the highest was recorded in the group treated with *n*-BuOH extract. Regarding diuretic activity, only the CHCl₃ extract was active and showed a diuretic spectrum similar to that of hydrochlorothiazide. In addition, AcOEt and *n*-BuOH extracts of *Hammada articulata* significantly reduced blood glucose levels in normal rats and rats subjected to temporary hyperglycemia. The second part was devoted to the study of the inhibiting properties of the oil and the extracts of the selected plant against the corrosion of stainless steel in an acid medium using several techniques such as the gravimetric study, the potentiodynamic method and electrochemical impedance spectroscopy. The results showed that these green inhibitors possess relevant inhibitory performance. The adsorption of natural compounds on the steel surface obeys the Langmuir isotherm and is of the physisorption type. Mechanisms of adsorption of these compounds on the surface have been proposed.

Keywords: Polyphenols; Flavonoids; HPLC-DAD; GC/FID and GC/MS; Antioxidant activity; Anti-inflammatory activity; Diuretic activity; Stainless steel; Corrosion; Green inhibitor.

ملخص

في هذا العمل، خضعت الأجزاء الهوائية لنبته حمادة الصحراوية (1200 غ) إلى النقع ثم الاستخلاص باستخدام ثلاثة مذيبات عضوية: الكلوروفورم ، الأسيتات الايثيل والبوتانول النظامي. أتاح الفحص الكيميائي النباتي إمكانية تسليط الضوء على وجود بعض المستقلبات الثانوية التي تخبرنا عن المحتوى الكيميائي النباتي لمستخلصاتنا. تم تقييم المحتوى الكلي للمركبات الفينولية والفلافونويد باستخدام طريقة التحليل الطيفي. تظهر نتائج الفحص غنى مستخلصي الأسيتات الايثيل والبوتانول النظامي بالبولىفينولات والفلافونويدات، والتي تعتمد على طبيعة مذيب الاستخلاص. تم تحديد التركيبة الفينولية بواسطة HPLC-DAD حيث سمح لنا التحليل الكروماتوغرافي بتحديد وجود بعض المركبات الفينولية بشكل رئيسي الأحماض الفينولية والفلافونويدات. أظهر تحليل الكروماتوغرافيا الغازية للزيت *Hammada articulata* أن هذا الأخير يهيمن عليه *sesquiterpenes* كفئة رئيسية. المكونات الرئيسية الموجودة في هذا الزيت هي هيكساهايدرووفارنيسيل أسيتون وبيتا-بيسابولين والأوجينول. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات بثلاث طرق : DPPH و ABTS و FRAP. تؤكد النتائج أن مستخلصات الأسيتات الايثيل والبوتانول النظامي وتغطي أفضل القدرات المضادة للأكسدة ، اعتماداً على محتوى البولىفينول وإجمالي مركبات الفلافونويد. في الجسم الحي، تم تقييم المستخلصات الثلاثة لنبته *H. articulata* لنشاطها المضاد للالتهابات وفق نموذج الودمة التي يسببها الكاراجينان في الجرذان. أظهرت النتائج أن جميع المستخلصات لها فعالية معتبرة كمضاد للالتهابات، حيث سجلت أعلى نسبة في المجموعة التي عولجت بمستخلص البوتانول النظامي. فيما يتعلق بالنشاط المدر للبول، كان مستخلص الكلوروفورم فقط نشطاً وأظهر طيفاً مدرّاً للبول مماثلاً لهيدروكلوروثيازيد. بالإضافة إلى ذلك، فإن مستخلصات الأسيتات الايثيل والبوتانول النظامي لفصيلة حمادة خفضت بشكل ملحوظ مستويات الجلوكوز في الدم في الجرذان العادية والجرذان المعرضة لفرط سكر الدم المؤقت. خصص الجزء الثاني لدراسة الخواص المثبطة للزيت ومستخلصات للنبته المختارة ضد تآكل الفولاذ المقاوم للصدأ في وسط حمضي باستخدام عدة تقنيات مثل: الكتلة الضائعة، طريقة الاستقطاب عند جهد ديناميكي، والتحليل الطيفي للممانعة الكهروكيميائية. أظهرت النتائج أن هذه المثبطات الخضراء تتمتع بقدرات تثبيطية عالية. يخضع امتزاز المركبات الطبيعية على سطح الفولاذ لارتباط لانجميرر وهو من نوع الامتزاز الفيزيائي حيث تم اقتراح آليات الامتصاص هذه المركبات على السطح .

الكلمات المفتاحية: البولىفينولات، الفلافونويدات، HPLC-DAD ، GC/MS ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط مدر للبول ، فولاذ مقاوم للصدأ ، تآكل ، مثبت أخضر.