



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID.TLEMCEN
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de
Docteur ès sciences physiques
Option
CHIMIE PHYSIQUE
Par
SELLES Chaouki

Thème

**Valorisation d'une plante médicinale à activité
antidiabétique de la région de Tlemcen :
Anacyclus pyrethrum L.
Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion
d'un acier doux dans H_2SO_4 0.5M**

Soutenue le : 30 Juin 2012 devant le jury composé de :

Président	BENABADJI Noury	Professeur	UABB. Tlemcen
Examineur	AINAD TABET Driss	Professeur	UDL.Sidi Belabbes
Examineur	LAZOUNI Hammadi Abderrahmane	M.C.A	UABB. Tlemcen
Examineur	BENALI Omar	M.C.A	UMT.Saida
Directeur de thèse	TABTI Boufeldja	Professeur	UABB. Tlemcen
Co-directeur de thèse	DIB Mohamed El Amine	M.C.A	UABB. Tlemcen

www.oxpdf.com

Dédicaces

Dédicaces

A ma femme

A mes deux filles

A mes parents

A tous ceux ou celles qui me sont chers

www.oxford.com

www.xpdf.com

Remerciements

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) et au laboratoire d'électrochimie et de chimie analytique (LECA) de l'Université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen.

Je profite de l'occasion qui m'est ainsi présentée pour exprimer à Monsieur le Professeur **Boufeldja TABTI** ma respectueuse gratitude. J'ai été très sensible à sa grande disponibilité en dépit de ses responsabilités multiples et à la totale confiance qu'il m'a toujours accordée. Ses précieux conseils et ses encouragements ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse. J'ai trouvé en lui un directeur ouvert qui m'a guidé dans mon travail tout au long de ces années.

Je remercie sincèrement Monsieur le Docteur **Mohamed El Amine DIB**, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son intérêt au sujet de ma thèse que pour sa collaboration sans faille pour sa finalisation.

Je veux exprimer ici, ma respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur **Noury BENABADJI** pour avoir bien voulu présider ce jury et aussi pour sa disponibilité et l'accueil qu'il m'a toujours réservé dans son laboratoire. Vous, avec qui, j'ai tant de fois eu des discussions longues et enrichissantes.

Que Monsieur le Professeur **Driss AINAD TABET** (Université Djillali Liabes de Sidi Belabbes) trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour l'intérêt qu'il a bien voulu apporter à ce travail en acceptant de participer à ce jury.

Je remercie vivement Monsieur **Omar BENALI**, Maître de conférences (Université Moulay Tahar de Saida) pour sa collaboration et pour m'avoir intéressé à la corrosion et ses applications ainsi que pour ses encouragements et sa bonne humeur.

Monsieur le Docteur **Hammadi Abderrahmane LAZOUNI**, c'est une grande joie de vous compter parmi les membres de mon jury de thèse. Je vous adresse mes plus chaleureux remerciements.

Professeur **Sid Ahmed TALEB BENDIAB**, je le remercie chaleureusement de s'être soucié de mon devenir, je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt, pour ses grandes qualités humaines et pour avoir guidé mes premiers pas dans la recherche.

J'ai eu la chance d'effectuer l'analyse des huiles essentielles dans le laboratoire de "Chimie des Produits Naturels" de Corte, de l'Université de Corse (France) sous la direction de Messieurs les professeurs **Jean COSTA** et **Alain MUSELLI**. Qu'ils trouvent ici mes remerciements les plus distingués.

Je tiens à remercier Mademoiselle **H.MEDJDOUB** chargée de cours à l'Université de Mascara, pour m'avoir effectué l'activité antidiabétique.

Je tiens également à remercier Mademoiselle **F.BEDDOU**, doctorante du laboratoire des produits naturels, pour m'avoir aidé dans les tests antimicrobiens.

Que Monsieur **B.KHALDI**, Ingénieur de laboratoire, trouve ici ma vive reconnaissance pour son aide technique si précieuse.

J'exprime également mes sincères remerciements à tous mes collègues du département de chimie.

Je ne saurais oublier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

www.oxpdf.com

Abréviations utiles

www.expdf.com

Abréviations utiles

A	:	Facteur pré exponentiel
b_a	:	Pente anodique de Tafel
b_c	:	Pente cathodique de Tafel
C_{dl}	:	Capacité de la double couche
CEE	:	Circuit électrique équivalent
Conc.	:	Concentration
CPE	:	Elément constant de phase
CR	:	Contre électrode
CCM	:	Chromatographie sur couche mince
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
CPG	:	Chromatographie en phase gazeuse
DD	:	Diamètre de la diffusion du disque
ΔG°_{ads}	:	Energie libre standard d'adsorption
ΔH°_a	:	Enthalpie standard d'activation
ΔS°_{ads}	:	Entropie standard d'activation
EI-MS	:	Impact électronique- spectre de masse
E_a	:	Energie d'activation
E_{corr}	:	Potentiel de corrosion
ECS	:	Electrode au calomel saturé
ER	:	Electrode de référence
ET	:	Electrode de travail
F	:	Fleurs
Gen	:	Gentamicine
HE	:	Huile essentielle
I_{corr}	:	Densité de courant de corrosion
LS	:	Feuilles/tiges de l'anglais Leaves and Stems
m	:	Masse
MEB	:	Microscope Electronique à balayage
P%	:	Efficacité inhibitrice de corrosion
Q	:	Facteur de proportionnalité
R	:	Racine
R_p	:	Résistance de polarisation
R_t	:	Résistance de transfert de charge
RMN	:	Résonance Magnétique Nucléaire
S.I.E	:	Spectroscopie d'impédance électrochimique
SM	:	Spectrométrie de Masse
SPME	:	Micro extraction en phase solide
St	:	Station
STZ	:	Streptozotocine
T	:	Température absolue
τ	:	Rendement
θ	:	Taux de recouvrement
U.V	:	Ultrat – Violet
XPS	:	Spectroscopie des photo-électrons

Sommaire

Remerciements

Abréviations utiles

Introduction générale 1

PREMIERE PARTIE : Valorisation phytochimique et activités biologiques de *Anacyclus pyrethrum* L.

Introduction 3

CHAPITRE I : PARTIE THEORIQUE

I.1- Plantes médicinales et phytothérapie	5
I.1.1- Introduction	5
I.1.2- Médecine traditionnelle classique africaine, arabe et nord africaine	5
I.1.3- Ethnobotanique, Ethnopharmacologie au service de la médecine	6
I.1.4- Métabolites végétaux secondaires dans la découverte de médicaments	7
I.2- Généralités sur le diabète	15
I.2.1- Définition et classification	15
I.2.2- Causes du diabète et diagnostic	17
I.2.3- Prévention et traitement du diabète	18
I.2.4- Les remèdes traditionnels : une alternative ?	20
I.3- Présentation de la plante étudiée : <i>Anacyclus pyrethrum</i>	22
I.3.1- Présentation des astéracées (composées)	22
I.3.2- Applications médicinales des astéracées	24
I.3.3- Caractérisation et présentation de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	24
I.3.4- Description botanique de la plante	25
I.3.5- Classification	26
I.3.6- Usage thérapeutique et toxicité	26
I.3.7- Travaux scientifiques réalisés sur <i>Anacyclus pyrethrum</i>	27
I.4- Huiles essentielles : extraction et analyses	30
I.4.1- Historique	30
I.4.2- Définition et caractéristiques	31
I.4.3- Composition chimique et facteurs de variabilité d'une huile essentielle	33
I.4.4- Huiles essentielles dans la plante : localisation, rôles et actions	37
I.4.5- Huiles essentielles : toxicités et effets indésirables	42
I.4.6- Méthodes d'obtention des huiles essentielles	43
I.4.7- Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles	47

CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE

II.1. Introduction 51

II.2. Matériel et méthodes	51
II.2.1-Provenance du matériel végétal et identification	51
II.2.2- Conservation	51
II.2.3- Criblage phytochimique	53
II.2.4- Extraction des huiles essentielles de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	54
II.2.4.1- Technique d'extraction : L'hydrodistillation	54
II.2.4.2- Paramètres d'études	55
II.2.5- Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	56
II.2.5.1- Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)	56
II.2.5.2- Couplage CPG/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)	57
II.2.6- Activité anti diabétique de l'extrait aqueux des racines de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	57
II.2.7- Activité antimicrobienne des huiles essentielles	62
II.3. Résultats et discussions	65
II.3.1- Criblage phytochimique	65
II.3.2- Huiles essentielles : extraction et analyses	66
II.3.2.1- Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	66
II.3.2.2- Paramètres d'études	66
II.3.2.3- Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles/tiges LS de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	70
II.3.3- Activité antidiabétique de l'extrait aqueux des racines de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	77
II.3.3.1 Recherche de la toxicité aiguë	77
II.3.3.2 Dosage du glucose	77
II.3.3.3 Evolution du poids des rats	79
II.3.3.4 Dosage des protéines	80
II.3.3.5 Test de tolérance orale au glucose	81
II.3.4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Anacyclus pyrethrum</i>	83
Conclusion	87
Références bibliographiques	89

**DEUXIEMME PARTIE : Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de
corrosion d'un acier doux en milieu acide H₂SO₄ 0.5M**

Introduction	97
CHAPITRE I : PARTIE THEORIQUE	
I.1- Corrosion des métaux	100
I.2- Inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides	104
I.3- Comportement des inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides	108
I.4- Méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion	114
I.4.1- Méthodes stationnaires : courbes de polarisation	115
I.4.2- Méthodes transitoires: la spectroscopie d'impédance électrochimique	
I.5- Modes d'expression de l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion	118
I.6- Techniques d'analyse de surface	119
CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE	
II.1. Introduction	121
II.2. Matériel et méthodes	121
II.2.1. Inhibiteurs testés	121
II.2.2. Matériau utilisé	122
II.2.3. Préparation des solutions	122
II.2.4. Mesures électrochimiques	122
II.3. Résultats et discussions	127
II.3.1. Influence de la concentration de l'inhibiteur	127
II.3.2. Isothermes d'adsorption	132
II.3.3. Etude de l'influence de quelques paramètres sur l'inhibition de corrosion de l'extrait aqueux des feuilles/tiges LS	136
II.3.3.1 Influence du temps d'immersion	136
II.3.3.2 Influence de la température	140
II.3.3.3 Isothermes d'adsorption	146
II.3.3.4 Etude de l'effet des ions iodures	149
II.3.3.5 Etude de la surface du métal par microscopie électronique à balayage (MEB)	155
Conclusion	157
Références bibliographiques	159
Conclusion générale	162
Annexes	167
Publications et communications	175

INTRODUCTION GENERALE

www.oxpof.com

Introduction générale

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie [1].

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque, romaine. Le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres de façon empirique [2] Ainsi, on ignorait tout de la composition chimique des remèdes utilisés tous les jours par de nombreuses populations, pour les soins de santé.

Dans les pays en voie de développement, entre 70 et 95% de la population a recours aux plantes médicinales pour les soins primaires par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. Il est estimé qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes sont dérivés, directement ou indirectement, à partir de plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux connaissances traditionnelles [3].

De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques [4].

La région méditerranéenne, en dépit de sa localisation dans une zone tempérée loin de la biodiversité des hotspots "points chauds", possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique [5]. Près de 25 000 espèces sont présentes dans la région, ce qui correspond à 9.2% des espèces identifiées de par le monde sur un territoire représentant seulement 1.5% de la surface terrestre et un pourcentage très élevé de ces dernières sont endémiques [6-8].

De par sa situation géographique et la diversité de son climat, l'Algérie est un pays riche en substances naturelles, mais l'exploitation anarchique et excessive de ses ressources peut entraîner leur épuisement. En outre, de nombreuses personnes possèdent encore une connaissance remarquable des propriétés curatives ou préventives des plantes médicinales notamment en milieu rural.

En associant la recherche scientifique sur les constituants actifs, l'observation clinique et la connaissance traditionnelle des plantes, il est possible de dresser un inventaire de leurs usages thérapeutiques.

Notre travail s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles d'origine végétale à activité hypoglycémiant de l'ouest algérien.

L'étude chimique et pharmacologique des plantes à potentialités antidiabétiques est donc aujourd'hui une étape inévitable en vue de la mise au point de médicaments efficaces et mieux tolérés.

D'autre part, en plus des activités biologiques des plantes, au cours des dernières années, l'attention des chercheurs s'est focalisée sur les propriétés anti corrosives des produits naturels d'origine végétale. En effet, étant donné l'utilisation de plus en plus croissante des métaux et alliages dans la vie moderne, la corrosion constitue un problème énorme dont les conséquences sont néfastes et inestimables.

L'utilisation des inhibiteurs est l'une des méthodes les plus pratiques pour la protection contre la corrosion en particulier dans des solutions acides. Toutefois, les composés synthétiques utilisés comme inhibiteurs, sont coûteux et pour la plupart très dangereux. La nature non-toxique et biodégradable des produits naturels a conduit à leur utilisation en tant qu'inhibiteurs verts.

Les produits naturels tels que les composés extraits de plantes semblent être une alternative écologique idéale pour remplacer les traditionnels inhibiteurs de corrosion.

Un fait qui se dégage de notre revue bibliographique, montre que l'ère des inhibiteurs verts a déjà commencé.

Une plante médicinale locale appartenant à la famille des astéracées (composées) a retenu notre attention, il s'agit du pyrèthre d'Afrique (*Anacyclus pyrethrum L*). La sélection de cette espèce résulte d'une enquête ethnobotanique réalisée par l'équipe des substances naturelles de notre laboratoire sur les plantes à activité antidiabétique de la région de Tlemcen [9].

Par ailleurs, les recherches bibliographiques sur les travaux effectuées sur cette plante ont montré que la chimie de l'espèce reste insuffisamment étudiée.

PREMIERE PARTIE

Valorisation phytochimique et activités biologiques de *Anacyclus pyrethrum* L.

www.oxpdf.com

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme s'est appuyé sur la nature pour subvenir à ses nécessités de base à savoir la nourriture, l'habillement, l'abri et également pour ses besoins médicamenteux. En effet, la plupart des moyens découverts pour soigner et soulager les maux sont d'origine végétale.

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps dans le traitement du diabète et la lutte contre les maladies infectieuses. En effet, ces plantes sont souvent caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles connues depuis longtemps pour leurs activités antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. Par ailleurs, les plantes médicinales sont prometteuses et constituent, une grande source d'antibactériens naturels.

Pour parvenir à une amélioration de cette médecine traditionnelle, Les investigations phytochimiques doivent être faites, afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelle des substances naturelles.

C'est dans le but d'une meilleure valorisation des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète que la présente étude est réalisée.

Ce sujet nous a semblé d'autant plus intéressant que la flore de la région de Tlemcen contient toujours des plantes endémiques. La plante dont nous nous sommes intéressés appartient à la famille des astéracées ; il s'agit de *Anacyclus pyrethrum* L. appelée communément « tiguentast ».

Cette première partie de la thèse est composée de deux chapitres principaux :

➤ Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique où nous présenterons un aperçu général sur les plantes médicinales et leurs utilisations pour le traitement du diabète.

Ensuite, nous présenterons la plante sous investigation où nous donnerons sa description botanique, ses utilisations thérapeutiques ainsi que tous les travaux antérieurs réalisés sur l'espèce en question.

Nous mettrons en évidence la classe des huiles essentielles tout en recensant leurs caractéristiques et leurs actions. Nous y aborderons une esquisse sur la composition chimique et les facteurs responsables de la variabilité des huiles essentielles.

D'autre part, les différents procédés d'extraction des huiles essentielles ainsi que les méthodes d'analyse utilisées sont succinctement décrits.

- Dans le deuxième chapitre, nous exposerons le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude ainsi que les résultats obtenus.

Nous avons jugé logique de commencer l'étude par un screening phytochimique de *Anacyclus pyrethrum* L.

L'extraction des huiles essentielles des différentes parties de la plante a été effectuée par hydrodistillation. Afin d'optimiser le procédé d'extraction, deux paramètres ont été retenus, à savoir le temps d'extraction et la quantité du matériel végétal introduit.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) ainsi que la CPG couplée à la spectrométrie de masse (SM) ont été utilisées pour l'identification des huiles essentielles des feuilles/tiges de deux stations différentes.

Le travail expérimental est poursuivi par la mise en évidence de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la racine de la plante.

Enfin, c'est l'étude antimicrobienne des huiles essentielles des différentes parties de la plante qui sera traitée en effectuant des tests microbiologiques sur une multitude de souches (neuf bactéries et trois levures).

Une conclusion résumera l'ensemble du travail réalisé et présentera les perspectives que nous envisagerons de réaliser.

www.oxford.com

I.1. Plantes médicinales et phytothérapie

I.1.1. Introduction

Les découvertes fortuites et la transmission des informations de génération en génération sont à l'origine du choix des plantes et leurs utilisations comme remèdes. Quoique l'efficacité des divers remèdes utilisés ne soit pas absolue, la guérison est rapide et le mal disparaît. La recette est souvent restée secrète et n'a été transmise que par fragments. Considérées dans un premier temps comme curiosités, les plantes médicinales ont été valorisées par des recherches botaniques, chimiques et pharmacodynamiques importantes. De nos jours, les résultats deviennent de plus en plus probants, compte tenu des techniques et de l'appareillage performant dont disposent les chercheurs [10].

Par ailleurs et en dépit de la concurrence des produits de synthèse, certaines plantes médicinales dont les principes actifs restent non reproductibles, sont toujours d'un intérêt certain sur le marché. D'autre part, l'intéressement des pays industrialisés vis-à-vis des substances naturelles ne pourrait qu'encourager les recherches en cours.

I.1.2. Médecine traditionnelle classique africaine, arabe et nord africaine

L'Afrique est considérée comme le berceau de l'humanité. Elle est d'une diversité biologique et culturelle très riche. La médecine traditionnelle africaine est la plus ancienne et peut-être la plus diversifiée de tous les systèmes de médecine. Le continent africain est reconnu pour avoir un taux d'endémisme élevé contre l'un des taux de déforestation les plus élevés dans le monde. Malheureusement et jusqu'à ce jour, les systèmes médicamenteux sont mal enregistrés [11].

La médecine traditionnelle africaine dont l'usage est très répandue en Afrique et sous ses formes variées, est une approche holistique impliquant à la fois le corps et l'esprit. Le guérisseur généralement diagnostique et traite la base psychologique d'une maladie avant de prescrire des médicaments pour traiter les symptômes [12]. Contrairement aux soins modernes, la médecine traditionnelle est accessible, disponible et populaire, dans la mesure où environ 80 % d'Africains y ont recours pour leurs besoins de santé (OMS 2003)

Malgré la place large qu'occupe la médecine moderne dans le monde arabe, les soins primaires de la majorité des gens sont constitués par une médecine traditionnelle omniprésente dans la culture populaire [13].

La médecine traditionnelle arabe est issue de deux courants majeurs; l'un, ayant reçu les influences des médecines indienne et mésopotamienne, l'autre, appelé la Médecine du Prophète.

Il semblerait que ce soit les Egyptiens, dont l'histoire remonte à plus de 4 000 ans qui furent les premiers à tirer profit du règne végétal dans un souci esthétique et spirituel. Plus tard, la civilisation Arabe dont Bagdad, Bassora et Damas été les principaux centres commerciaux, développa le commerce des épices et des aromates en particulier et les plantes médicinales en général.

Dans le Maghreb-Machrek, la médecine traditionnelle et la médecine moderne ont souffert de rapports problématiques et conflictuels à cause d'un héritage colonial douloureux. En dépit des défis de la médecine moderne, la médecine traditionnelle est largement plébiscitée tant son efficacité est prouvée dans de nombreux domaines. En plus, les soins traditionnels sont très peu coûteux et peuvent bénéficier à des populations qui n'ont pas de couverture médico-sociale [14].

1.1.3. Ethnobotanique, Ethnopharmacologie au service de la médecine

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie sont des domaines interdisciplinaires de recherche qui examinent spécifiquement les connaissances empiriques des peuples autochtones concernant les plantes médicinales.

Il a été rapporté que de nombreux phytomédicaments actuellement en usage, ont été utilisés par les peuples autochtones du monde entier. Certaines de ces connaissances ont été documentées et codifiées ou étudiées scientifiquement.

Les enquêtes ethnobotaniques ont permis de découvrir la plupart des métabolites secondaires des plantes employées dans la médecine moderne. De nombreux médicaments qui sont couramment utilisés aujourd'hui (comme l'aspirine, l'éphédrine, l'ergométrine, la digoxine, la réserpine, l'atropine...) sont issus de la médecine indigène en passant par des enquêtes bioscientifiques appropriées [15].

Lorsque l'on considère l'importance des plantes médicinales dans les pays en voie de développement, il n'est pas surprenant que la plupart des populations du monde dépend toujours de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé primaires. Elle est relativement peu coûteuse et disponible localement et est facilement acceptée. Dans de nombreux cas, ces pays dépensent des millions de dollars sur les médicaments importés. Plusieurs pays africains et asiatiques encouragent désormais les médecines traditionnelles comme une composante intégrale de leurs programmes de santé publique [15].

I.1.4. Métabolites végétaux secondaires dans la découverte de médicaments

Les plantes synthétisent une gamme très vaste de composés organiques qui sont traditionnellement considérés comme métabolites primaires et secondaires, bien que les limites précises entre les deux groupes peuvent, dans certains cas, être un peu ambiguës [16].

Les métabolites primaires sont les composés qui ont des rôles essentiels liés à la photosynthèse, la respiration et la croissance et le développement. Il s'agit notamment des phytostérols, des lipides acylés, des nucléotides, des acides aminés et les acides organiques.

Les autres composés phytochimiques, dont beaucoup s'accumulent en concentrations étonnamment élevées chez certaines espèces, sont considérés comme des métabolites secondaires. Ceux-ci ont des structures diverses et nombreuses et sont répartis entre un nombre très limité d'espèces dans le règne végétal. Le nombre de structures décrites dépasse 100 000 et le nombre réel dans la nature est certainement beaucoup plus élevé parce que jusqu'à présent, seulement 20-30% des plantes ont été étudiées en phytochimie [17].

Bien ignoré pendant longtemps, leur fonction dans les plantes attire de plus en plus l'attention car certains métabolites semblent avoir un rôle clé dans la protection des plantes contre les herbivores et les infections microbiennes, comme attractifs pour les pollinisateurs.

Les métabolites secondaires sont également d'un intérêt en raison de leur utilisation comme colorants, fibres, colles, huiles, cires, agents aromatisants, des médicaments et des parfums, et ils sont considérés comme des sources potentielles de nouveaux médicaments naturels, des antibiotiques, insecticides et les herbicides [18, 19].

Ces dernières années, le rôle de certains métabolites secondaires comme conservateur des produits alimentaires est devenu un domaine de plus en plus important de la recherche en nutrition humaine. En outre, ils peuvent avoir des effets favorables dans la prévention de cancers et de nombreuses maladies chroniques, tels que les maladies cardiovasculaires et le diabète de type II, qui touchent les populations à une fréquence croissante et inquiétante.

Un certain nombre de méthodes sont disponibles dans la littérature pour la quantification des métabolites secondaires des plantes.

Basé sur leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois grands groupes:

- Flavonoïdes et composés phénoliques et polyphénoliques.
- Terpénoïdes
- Alcaloïdes et composés soufrés.

I.1.4.1. Phénols, polyphénols et tanins :

Les composés phénoliques sont caractérisés par au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés. Plus de 8000 structures phénoliques ont été rapportées et ils sont largement dispersés dans le règne végétal [20]. Les composés phénoliques vont du simple, de faible poids moléculaire, à un seul cycle aromatique jusqu'aux tanins volumineux et complexes et les dérivés polyphénoliques.

Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de l'arrangement de leurs atomes de carbone et on les trouve couramment conjugués à des sucres et des acides organiques. Les composés phénoliques peuvent être classés en deux groupes: les flavonoïdes et les non flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comportant quinze atomes de carbone, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones.

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, sont présents en concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation [21]. Ils forment une sous-classe des polyphénols. Il y en a plus de 6000 à avoir été décrits chez les plantes [22]; c'est la famille des composés phénoliques la plus nombreuse. Chez les plantes, les flavonoïdes jouent un rôle dans la protection de la plante contre les UV et de défense contre les pathogènes et les insectes ravageurs. Elles sont aussi impliquées dans la pigmentation, la stimulation de fixation de l'azote et la résistance aux maladies [23,24].

Les sous-classes principales de flavonoïdes sont les flavones, les flavonols, flavane-3-ols, les isoflavones, flavanones et anthocyanidines (figure I.1)

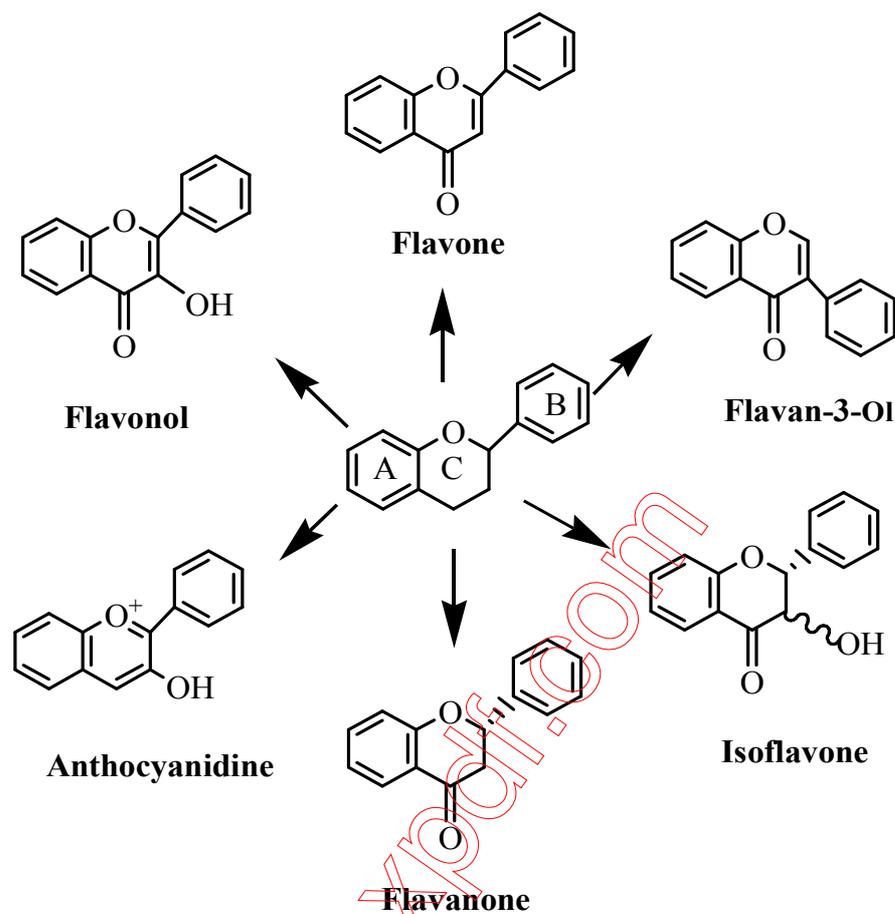
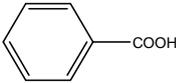
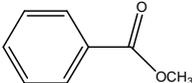
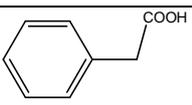
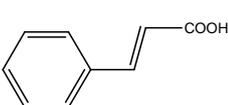
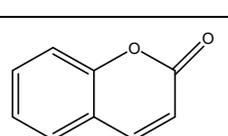
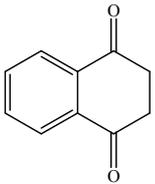
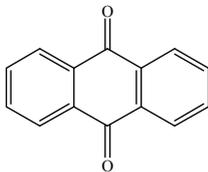
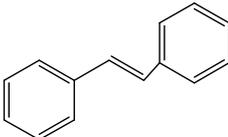
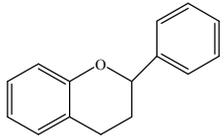


Figure I.1 : Les structures génériques des flavonoïdes majeurs.

Les non flavonoïdes principaux sont les acides phénoliques de type C₆-C₁ et l'acide gallique est le précurseur des tanins hydrolysables, des hydroxycinnammates C₆-C₃ et leurs dérivés ainsi que les composés polyphénoliques de type C₆-C₂-C₆ (tableau I.1).

Tableau I.1 : Squelettes structuraux des composés phénoliques et polyphénoliques

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	Acétophénonnes	Gallacétophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculetin	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferin	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Résveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

I.1.4.2. Terpènes

Les terpènes, ou isoprénoïdes, ou terpénoïdes sont l'une des classes les plus diverses de métabolites. Il a été répertorié plus de 30 000 composés dont la très grande majorité est spécifique du règne végétal et qui englobe les arômes et parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides des membranes... [25]

Les terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. La plupart des terpènes ont des structures cycliques. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8)

Les divers squelettes terpéniques (Figure I.2) sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent :

- monoterpènes C_{10}
- sesquiterpènes C_{15}
- diterpènes C_{20}
- triterpènes C_{30}

Ainsi, les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles [26].

Sur le plan économique et santé humaine, l'importance des terpènes des plantes ne cesse de croître [27]. La culture du matériel végétal spécifiquement pour sa teneur en terpènes est maintenant une activité économique majeure [28]. D'autre part, Fraser et coll. rapportent qu'un nombre croissant de terpènes ont une activité antibactérienne et des propriétés anticancéreuses. La toxicité des monoterpènes et des caroténoïdes notamment est relativement faible et leur biodisponibilité dans le régime alimentaire est élevée, ce qui rend ces composés intéressants comme agents thérapeutiques potentiels.

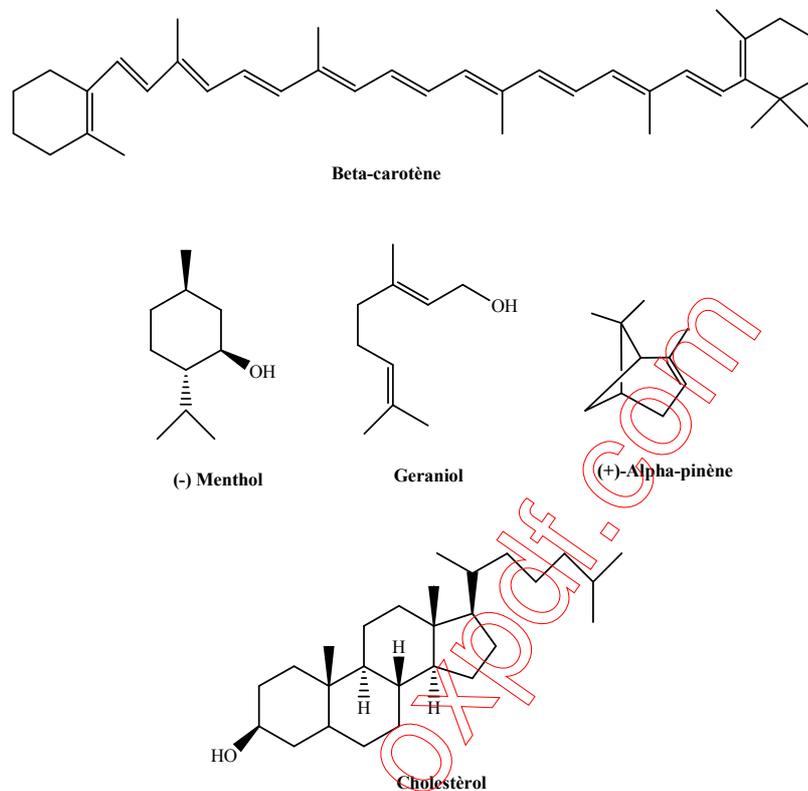


Figure I.2 : Squelettes structuraux de quelques terpènes

I.1.4.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de substances organiques azotés d'origine végétale, à caractère alcalin, de faibles poids moléculaires et présentant des structures complexes. La plupart des alcaloïdes sont issus des acides aminés et se trouvent dans environ 20% des espèces végétales [29].

Comme métabolites secondaires, les alcaloïdes sont supposés jouer un rôle défensif dans la plante contre les prédateurs (herbivores et carnivores) et à un degré moindre contre les bactéries, les champignons et les virus. En raison de leurs activités physiologiques et pharmacologiques remarquables, bon nombre des quelques 12000 alcaloïdes connus, ont été exploités en tant que produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et comme poisons [30].

Si la morphine et la codéine sont actuellement utilisées comme analgésiques, la vinblastine est un agent anti néoplasique. Parmi les alcaloïdes d'origine végétale largement connus, on peut noter la caféine, la nicotine et la cocaïne ainsi que l'héroïne dérivée de la morphine.

Dans la famille des astéracées, les alcaloïdes ne sont pas rares mais beaucoup sont de structure inconnue. Ils comprennent les amides, trouvés dans plusieurs genres, qui ont été considérées comme alcaloïdes au sens large.

Certaines des lactones sesquiterpéniques trouvées dans cette famille, peuvent être responsables des tests positifs d'alcaloïdes, dans la mesure où leurs caractéristiques structurales peuvent donner des réactions positives avec le réactif Dragendorff [31].

I.1.4.4. Composés acétyléniques et psoralènes

En plus des vitamines, des minéraux et des antioxydants qui ont des effets notables sur la santé humaine, il semblerait que d'autres composés bioactifs appartenant aux métabolites secondaires protègent contre plusieurs maladies [32].

En effet, certains de ces composés se produisent aussi dans les plantes alimentaires dont beaucoup sont normalement considérés comme indésirables en raison de leur toxicité. Parmi ces composés, on cite les composés acétyléniques et les furanocoumarines linéaires (psoralènes). Ces derniers irritent la peau et possèdent, à faibles concentrations, des effets neurotoxiques.

Cependant, ils ont montré une activité cytotoxique sélective prononcée contre différentes cellules cancéreuses. D'autres, sont considérés comme pesticides naturels.

Les psoralènes qui sont des métabolites secondaires photo actives, ont été utilisés depuis l'Antiquité pour traiter les troubles de la peau humaine. L'utilisation de ces furanocoumarines en médecine a été associée aux cancers de la peau, plusieurs études ont également démontré qu'ils peuvent être cancérigènes et mutagènes.

Les composés acétyléniques ont été retrouvés dans environ 24 familles de plantes supérieures, bien qu'ils semblent se produire régulièrement dans seulement sept familles [33].

La majorité de ces composés ont été isolés de la famille des Astéracées [34]. Aujourd'hui plus de 1400 composés acétyléniques différents et des composés apparentés ont été isolés à partir des plantes supérieures, y compris les thiophènes, les thioéthers, les sulfoxydes, les alkamides, les lactones, les furannes, les isocoumarines...

Malgré la diversité structurelle des composés acétyléniques naturels, une comparaison de leurs structures avec celles des acides oléique, linoléique, crepenynique et dehydrocrepenynique, montre que ces derniers peuvent être considérés comme les précurseurs de leur synthèse (Figure I.3).

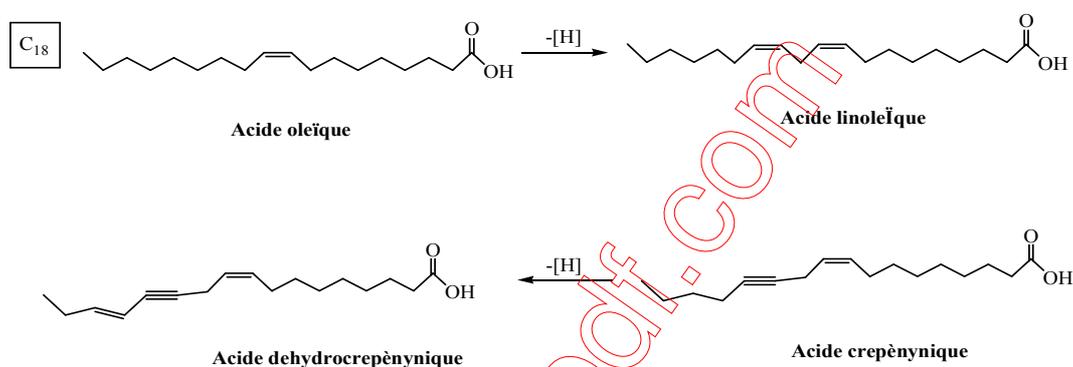


Figure I.3 : Structures de quelques acides acétyléniques

Dans la famille des astéracées, les composés acétyléniques sont largement distribués et ont des structures très diverses (Figure I.4), on y trouve les aliphatiques, les aromatiques, les thiophènes acétyléniques, les iso coumarines et les éthers d'énol spiroacétal [35]

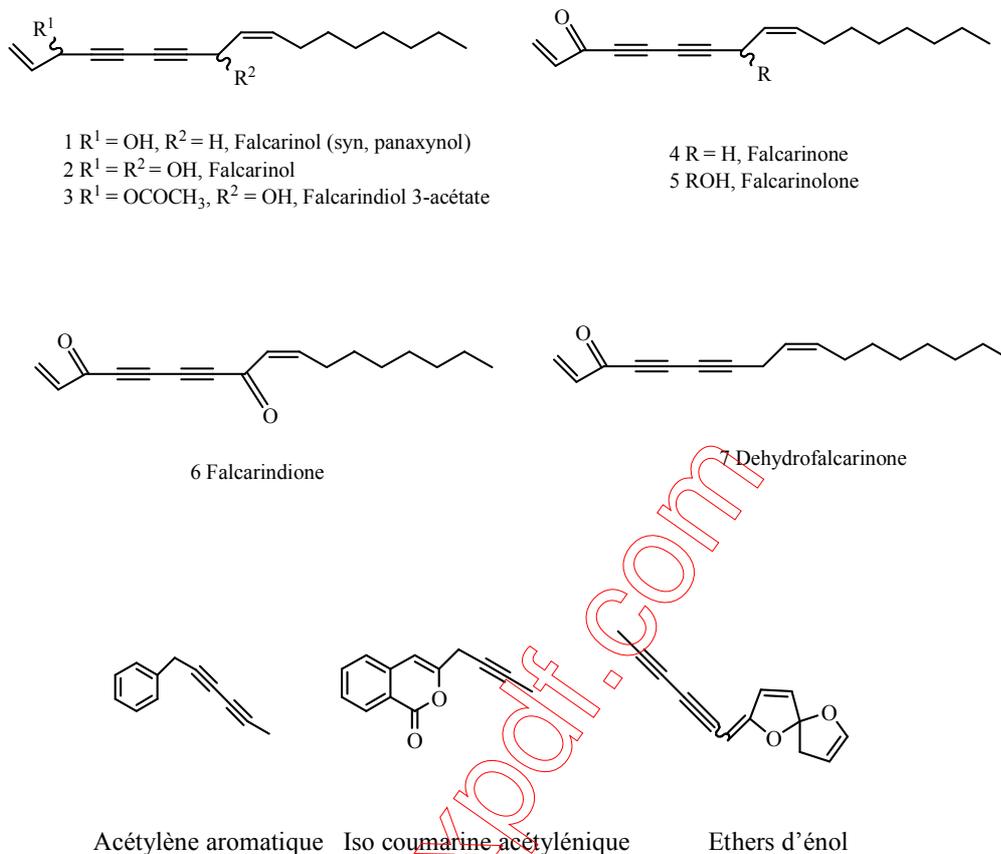


Figure I.4 : Structures de quelques composés acétyléniques naturels

I.2. Généralités sur le diabète

Dans l'histoire de la médecine, le diabète occupe une place de toute importance. La référence la plus ancienne est celle du papyrus d'Eber, qui remonte à 1500 ans avant J-C. Les plus grands médecins dont Aristote et Avicenne, ont pu observer et décrire le diabète à cause de ses symptômes typiques : faim et soif importante avec augmentation du volume d'urine, maigreur ou au contraire obésité, risque de coma.

De par sa complexité, le diabète demande une approche pluridisciplinaire (chimie, physiologie, métabolisme, chirurgie, diététique, immunologie, génétique...). Quant à l'insuline, une invention qui a marqué la recherche scientifique, a valu le prix Nobel de médecine à ses découvreurs [36].

Selon un nouveau rapport publié dans le Diabetes Atlas, les chiffres indiquent que le nombre de personnes vivant avec le diabète devrait augmenter de 366 millions en 2011 à 552 millions en 2030, si aucune action urgente n'est entreprise. Deux tiers d'entre elles habitent dans les pays en développement, où les chiffres devraient grimper rapidement. Cela équivaut à environ trois nouveaux cas toutes les dix secondes. La Fédération Internationale du Diabète (FID) estime également que près de 183 millions de personnes ne savent pas qu'ils sont diabétiques. Ces informations livrent une image plus juste du fardeau probable du diabète et attestent qu'on se dirige vers l'une des plus grandes catastrophes que le monde n'ait jamais connue. Il s'agit bien comme l'OMS l'annonçait il y a quelques années, d'une pandémie, la première dans l'histoire de l'humanité, due à une pathologie non infectieuse.

Les conséquences de tout ceci sont une morbidité et une mortalité croissantes qui ralentissent le développement des pays concernés et par là, accentuent la pauvreté de leurs populations [36].

I.2.1. Définition et classification :

Selon l'OMS, le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. On dit qu'une personne est diabétique quand son taux de glucose dans le sang (ou glycémie), à jeun, est supérieure à 1.26 g/L ou 7 mmol/L.

La concentration sanguine élevée de sucre, dite hyperglycémie, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques [36].

En effet, le diabète peut endommager [37] :

- le cœur : 50% des diabétiques meurent d'une maladie cardio-vasculaire (principalement cardiopathie et accident vasculaire cérébral).

- les vaisseaux sanguins et les yeux : La rétinopathie diabétique est une cause importante de cécité et survient par suite des lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine qui s'accumulent avec le temps. Au bout de 15 ans de diabète, près de 2% des sujets deviennent aveugles et environ 10% présentent des atteintes visuelles graves.
- les reins : 10 à 20% des diabétiques meurent d'une insuffisance rénale.
- les nerfs : environ 50% des diabétiques sont touchés par la neuropathie diabétique qui fait suite aux lésions nerveuses.

On peut distinguer essentiellement deux types de diabète [38]

Diabète de type 1

Connu aussi sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière. La cause de diabète de type 1 n'est pas connue, et en l'état des connaissances actuelles, il n'est pas évitable:

Les symptômes sont les suivants: excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement.

Diabète de type 2

Appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité.

Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais souvent à un degré moindre. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes.

Récemment encore, ce type de diabète qu'on appelait diabète de la maturité et qui n'était observé que chez l'adulte, a été trouvé désormais aussi chez l'enfant.

1.2.2. Causes du diabète et diagnostic

1.2.2.1 Causes du diabète :

Le diabète de type 2 qui représente jusqu'à 95% des diabétiques résulte essentiellement de facteurs liés au mode de vie (stress, sédentarité...) ainsi que de la combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Les personnes ayant une prédisposition génétique sont ainsi les plus susceptibles de souffrir du diabète. L'émergence de la recherche génétique a permis de mettre en évidence des corrélations entre certains marqueurs génétiques et le risque de diabète (gènes de prédisposition) [38].

L'obésité et particulièrement l'accumulation de gras dans les organes de l'abdomen qui entraînent une résistance à l'insuline, demeurent également l'un des principaux facteurs de déclenchement de la maladie. En effet, pour compenser la résistance à l'insuline, le pancréas se met à produire davantage d'insuline jusqu'à son épuisement et la sécrétion d'insuline diminue. Donc, une carence relative d'insuline provoque une hyperglycémie de façon continue.

Le diabète de type 2 est donc considéré comme le résultat de deux phénomènes : d'abord une résistance à l'insuline, ensuite l'épuisement du pancréas

L'âge joue également un rôle dans l'apparition du diabète. Selon l'Institut de veille sanitaire, le taux maximum de prévalence du diabète traité est constaté chez les personnes âgées de 70 à 79 ans, avec 17.7% chez les hommes et 11.5% chez les femmes. L'âge moyen à partir duquel le diabète risque de se développer est ainsi de 45 ans.

1.2.2.2 Diagnostic du diabète :

Comme le diabète de type 2 évolue souvent de manière silencieuse durant de longues années et que ses symptômes apparaissent rarement à ses débuts, il est souvent découvert de façon fortuite au cours d'un examen médical de routine.

Des tests de glycémie permettent de le détecter : un test de glycémie à jeun ou au hasard et, parfois, un test d'hyperglycémie provoquée. Ce dernier test consiste en une lecture de la glycémie 2 heures après avoir ingéré un jus sucré contenant 75 g de glucose. Souvent, la glycémie à jeun s'élève progressivement au fil des années et passe d'un taux normal à un état intermédiaire de pré diabète, puis au seuil diabétique [39].

Une prise de sang permet de mesurer la glycémie qui, peut être estimée grâce à un lecteur de glycémie (glucomètre), qui permet d'analyser la glycémie sur une goutte de sang prélevée au

bout du doigt. Même si les résultats sont normaux, il est habituellement recommandé de passer ces examens à intervalles réguliers afin de dépister la maladie le plus tôt possible.

I.2.3. Prévention et traitement du diabète

I.2.3.1 Prévention :

Maladie typiquement liée au mode de vie, le diabète de type 2 s'est développé de manière exponentielle au cours des trois dernières décennies.

Pour prévenir ou retarder l'apparition du diabète de type 2 et ses complications, des mesures simples modifiant le mode de vie s'avèrent très efficaces : un régime alimentaire sain, une activité physique régulière, le maintien d'un poids corporel normal et l'arrêt du tabac [40, 41].

L'OMS vise à susciter et à soutenir l'adoption de mesures plus efficaces de surveillance, de prévention et de lutte contre le diabète et ses complications, en particulier dans les pays à revenu faible et intermédiaire en se concentrant sur des approches à l'échelle des populations par:

- Une sensibilisation au diabète en tant qu'épidémie mondiale, notamment en partenariat avec la Fédération Internationale du Diabète.
- Une surveillance permanente du diabète et de ses facteurs de risque.
- Un établissement des normes et des critères de soins pour cette maladie [40, 41].

I.2.3.2 Traitement du diabète :

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique complexe qui concerne non seulement le métabolisme glucidique mais aussi le métabolisme lipidique.

Le traitement d'un diabétique non insulino-dépendant vise non seulement à baisser les valeurs glycémiques et les maintenir normalement, mais aussi à corriger les autres facteurs de risque vasculaire souvent associés. Les personnes diabétiques peuvent ainsi mener une vie normale et échapper aux éventuelles complications à long terme.

La stratégie de prise en charge se résume en quatre étapes :

- Traitement non pharmacologique

Après avoir diagnostiqué le diabète, pendant 4 à 6 mois, le patient diabétique est soumis à un régime hygiéno-diététique strict lui permettant de perdre du poids et par conséquent réduire de manière significative les valeurs glycémiques, tensionnelles et lipidiques. Si l'objectif requis n'est pas atteint après 4 à 6 mois, un traitement médicamenteux s'avère indispensable [40, 41].

➤ Monothérapie orale

Les médicaments antidiabétiques actifs par voie orale à action hypoglycémiante sont disponibles actuellement. Ils permettent d'obtenir un contrôle glycémique correct qui est évalué tous les 4 mois.

- Biguanides : ils améliorent la sensibilité à l'insuline.
- Sulfamides hypoglycémiants : ils stimulent la sécrétion d'insuline et ont une activité hypoglycémiante plus marquée.
- Inhibiteurs des α -glucosidases : ils ont une activité hypoglycémiante plus faible.
- Insulino-sécrétagogues (glinidines) : ils sont surtout actifs sur l'hyperglycémie post prandiale.

En cas d'échec, une modification du traitement est recommandée.

➤ Bithérapie orale

Elle permet de prescrire deux classes d'hypoglycémiants en association.

- Biguanides et sulfamides,
- Biguanides et inhibiteurs des α -glucosidases,
- Sulfamides et inhibiteurs des α -glucosidases.

➤ Insulinothérapie

Si les différents traitements précédents se montrent inefficaces pour un diabétique de type 2, un traitement par l'insuline est obligatoire. L'insulinothérapie permet donc d'obtenir une amélioration nette du contrôle glycémique. Parfois, on peut lui associer la prescription de biguanides qui en potentialisent l'action [40, 41].

En outre et en plus de la correction de l'hyperglycémie, la prise en charge globale du risque cardiovasculaire est plus que nécessaire. Pour cela, le diabétique doit arrêter impérativement le tabac, traiter les anomalies lipidiques et l'hypertension artérielle même légère. Si le diabétique est atteint de complications cardiovasculaires, il doit bénéficier d'un traitement antiagrégant plaquettaire (prise d'aspirine par exemple). D'autre part, La prévention et le traitement de la rétinopathie et la néphropathie diabétiques sont basés sur l'établissement d'un équilibre glycémique et un contrôle strict de la tension.

Les traitements du diabète s'avèrent donc difficiles et coûteux d'où la prise de conscience de la nécessité de la prévention [40, 41].

I.2.4. Les remèdes traditionnels : une alternative ?

Les matières premières naturelles à usage médical sont souvent limitées aux produits bruts d'origine naturelle. En effet, plusieurs principes actifs d'extraction restent encore irremplaçables par des produits de synthèse et certaines substances isolées prouvent encore leur efficacité malgré leur ancienneté.

Le diabète est une maladie très ancienne dont les symptômes classiques : urine abondante et sucrée, soif et faim excessives..., sont bien connus par la plupart des guérisseurs traditionnels. De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques dont certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments. L'élaboration et l'introduction de la metformine (le célèbre Glucophage®) dans le traitement du diabète ont 50 ans. A partir du galéga (*Galega officinalis*), plante de médecine traditionnelle européenne qui, par certaines de ses molécules, est à l'origine de la molécule active. Aujourd'hui, le galéga a un rôle limité mais peut encore être proposé dans un diabète léger en plus d'un régime hypocalorique et dans l'obésité [42]. Le diabète a traditionnellement été considéré comme une condition des pays riches. Les estimations de la prévalence du diabète présentées dans l'Atlas du diabète de la FID montrent toutefois que quatre personnes atteintes de diabète sur cinq vivent dans des pays classés par la Banque mondiale parmi les pays à faible et moyen revenu. Sur les 3.6 milliards d'adultes vivant dans les pays à faible et moyen revenu en 2011, 291 millions ont le diabète [43].

Au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales. L'un des volets les plus dynamiques de la recherche actuelle est celui de l'évaluation des médicaments traditionnels à base de plantes dans le traitement et le contrôle du diabète conformément aux recommandations de l'OMS.

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques dans le monde, le statut socio-économique peut jouer un rôle déterminant pour les personnes atteintes de diabète dans un environnement donné. En effet, dans les pays en développement (Inde, Chine, sud-est asiatique, pourtour méditerranéen), les médicaments synthétiques sont malgré tout assez chers et deviennent inaccessibles. Les diabétiques sont soumis à un traitement à base de plantes. En certaines occasions, ces personnes n'utilisent aucune autre médication pour maintenir les valeurs de glucose sanguin dans les limites normales. Le recours à la phytothérapie dans le traitement du diabète est fréquent en Afrique et plus particulièrement en Algérie. Sa pratique est transmise oralement et de façon rituelle.

A l'ouest Algérien, une enquête ethno pharmacologique dans un groupe de diabétiques révèle qu'environ 2 % n'utilisent que des plantes pour se soigner, alors que 60 % utilisent les plantes et les médicaments en association. D'autre part, pour la seule région de Tlemcen, près de 80 plantes sont recensées et soupçonnées d'être bénéfiques pour les diabétiques. Beaucoup d'entre elles auraient, dit-on, des propriétés hypoglycémiantes remarquables, mais, la plupart du temps, ces affirmations sont isolées et peu d'entre elles a fait l'objet d'une vérification scientifique [44].

Dans les pays développés, en dépit de l'avènement de l'insuline et l'accessibilité facile aux médicaments, l'utilisation de la phytothérapie, seule ou en complément, reste d'actualité afin de diminuer la dose de médicaments synthétiques, mais aussi parce que certains phytomédicaments semblent en même temps capables de lutter contre les complications du diabète (sclérose des vaisseaux sanguins, dépôt athéromateux, artérites et artériolites, hypertension, infections). Même si le traitement du diabète ne peut se passer de médicaments de synthèse, certaines plantes médicinales peuvent constituer des appoints utiles qui permettent de diminuer les doses d'insuline pour les diabètes de type 1 ou des hypoglycémiantes oraux pour les diabètes de type 2 en donnant un plus grand confort de vie au malade et en diminuant l'importance des effets secondaires liés aux médicaments antidiabétiques chimiothérapeutiques qui sont loin d'être négligeables.

Pour le traitement du diabète, l'association de deux ou trois plantes paraît souhaitable. Certaines plantes agissent à la manière de l'insuline ou des autres médicaments hypoglycémiantes en :

- stimulant la synthèse et la libération de l'insuline pancréatique : Myrtille, Galéga
- empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal : Figuier de Barbarie,
- accélérant la consommation du glucose sanguin : Melon amer.
- normalisant ou en supprimant l'hyperglycémie induite par un régime riche en glucides en augmentant la tolérance au glucose : racine de Ginseng.

Dans les plantes, les principes actifs responsables de l'activité hypoglycémiantes peuvent être des tanins. Ceux-ci agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline ainsi que sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus. D'autres familles de composés sont susceptibles de traiter l'hyperglycémie ; il s'agit des alcaloïdes, les carbohydrates, les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides [45], les glycosides cyanogéniques, les irridoides ...etc [46].

Les plantes antidiabétiques peuvent entraîner une chute trop brutale de la glycémie avec malaise hypoglycémique, voire coma, au même titre que l'insuline ou les autres médicaments hypoglycémisants, surtout si ces plantes sont associées à un traitement déjà existant et qui équilibrait le diabète.

Par ailleurs, la recherche d'un traitement peu coûteux amène parfois des malades du diabète à utiliser un peu n'importe quelle plante, certaines peuvent être antidiabétiques mais à des doses qui les rendent toxiques, d'autres sont trop dangereuses pour un usage antidiabétique d'où la nécessité de surveiller l'évolution de la glycémie et de la glycosurie.

En Algérie, pour résoudre ces problèmes spécifiques de la santé publique, en particulier le diabète, l'une des voies semble être l'utilisation et la valorisation des plantes médicinales dont notre flore regorge à profusion [47].

L'attention réitérée que l'on porte aujourd'hui aux médecines alternatives et aux thérapies naturelles a suscité un intérêt inhabituel pour les médecines anciennes. Les experts du diabète de l'organisation mondiale de la santé (OMS) ont recommandé que les méthodes traditionnelles pour traiter cette maladie soient examinées de façon plus poussée.

I.3. Présentation de la plante étudiée : *Anacyclus pyrethrum* L

I.3.1. Présentation des astéracées (composées)

Les astéracées sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales ou astérides (Asteridae) et à l'ordre des Astérales.

Auparavant, les astéracées étaient connues sous le nom de composacées (Compositae), et certains auteurs utilisent encore cette dénomination. On distingue quatre sous familles : les tubuliflores ou carduacées, les liguliflores ou chicoracées, les labiatiflores et les radiées ou corymbifères.

La famille des astéracées avec près de 1500 genres et pas loin de 26.000 espèces dont 750 endémiques (suivant les sources) est la seconde en importance, derrière celle des orchidacées. Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées et à l'exception des pôles.

Les astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. On y trouve surtout des plantes vivaces et à feuilles alternes. Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes [48].

Les astéracées ont la caractéristique d'avoir des fleurs regroupées en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncule, sur l'extrémité élargie d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales appelée involucre. Les fleurs, appelées aussi fleurons, sont caractérisées par leurs anthères soudées. En effet, ce que l'on prend couramment pour une fleur est un ensemble de fleurs sessiles insérées sur un petit réceptacle. Les pétales sont soudés et forment un tube court suivi d'une languette allongée dans le cas de fleurs ligulées, ou un long tube entourant les anthères et le style dans le cas des fleurs tubulées l'extrémité des pétales pouvant alors être libre. Le capitule peut être formé uniquement de fleurs tubulées uniquement de fleurs ligulées (pissenlit) ou de fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite) [48].

Le fruit des Astéracées est un akène généralement surmonté d'un Pappus (une aigrette de soies correspondant au calice persistant). Le but du Pappus est de favoriser la dispersion des graines par le vent (anémochorie). Les feuilles des astéracées sont généralement alternes, simples, mais chez certaines espèces elles peuvent être divisées. De très nombreuses astéracées sont cultivées dans les jardins pour leurs fleurs, soit comme plantes ornementales, soit pour être destinées à l'industrie des fleurs coupées: achillées, bleuets, dahlias, gaillardes... D'autres astéracées sont consommées comme l'artichaut, la laitue, le tournesol...

Certaines astéracées sont toxiques ou hallucinogènes comme par exemple *Artemisia mexicana*. Cependant, d'autres astéracées possèdent des vertus médicinales remarquables : armoise, camomille... [48].

A noter que certaines astéracées comme le pyrèthre d'Afrique (*Anacyclus pyrethrum*) ou le pyrèthre de Dalmatie (*Tanacetum cinerariifolium*) peuvent fournir un insecticide.

Les astéracées sont essentiellement terrestres, mais elles peuvent être également épiphytes ou aquatiques.

1.3.2. Applications médicinales des astéracées

La famille des astéracées est couramment en vedette dans des revues médicales grâce surtout aux lactones sesquiterpéniques qu'elle contient. Ces composés phytochimiques sont une cause importante de la dermatite de contact [49].

La famille des Astéracées est largement utilisée en médecine populaire pour guérir bon nombre de maladies :

- Arnica montana: **Arnica** → vulnéraire
- Artemisia annua: **Armoise** (artémisine) → anti malarique
- Chamaemelum nobile: **Camomille romaine** → antispasmodique, digestif
- Matricaria recutita: **Camomille vraie** → dermatologie (externe)
- Silybum marianum : **Chardon Marie** → hépato protecteur
- Tanacetum sp: **Pyrèthre** → insecticide
- Tussilago : **Tussilage** → pectoral

L'utilisation thérapeutique majeure des astéracées est due essentiellement à leurs activités anti inflammatoires et antimicrobiennes.

I.3.3. Caractérisation et présentation de Anacyclus pyrethrum L.

Le pyrèthre d'Afrique (*Anacyclus pyrethrum*) est une plante herbacée vivace de la famille des astéracées, et c'est une plante médicinale qui a été mentionnée dans les œuvres de Hildegarde de Bingen.

Anacyclus pyrethrum L. est une espèce endémique de l'Algérie et du Maroc. C'est la racine du pyrèthre d'Afrique qui est utilisée en médecine traditionnelle. On la récoltait aussi pour l'exportation, notamment vers le Moyen-Orient et l'Inde, pays qui étaient très demandeurs de cette drogue, dont l'Algérie et le Maroc furent de tout temps les fournisseurs traditionnels. En Inde, elle sert notamment à faire des élixirs dentifrices.

Nom : Pyrèthre d'Afrique.

Nom scientifique : *Anacyclus pyrethrum* L.

Nom vernaculaire : tigentas, gentas, tigentast, Tigenthast , igentas, gentus (berbère)

Ud el-attas (litt : le bois sternutatoire).

Aqirqarha, arq eš-šlûh (litt : racine des berbères).

I.3.4. Description botanique de la plante

Le pyrèthre d'Afrique est une plante vivace de 30 à 50 cm de haut, en habit et l'apparence comme la camomille. Les racines sont presque cylindriques, longues, épaisses, fibreuses, rudes, brunes à l'extérieur, blanches à l'intérieur. Le goût est âcre et l'odeur légère.

Les tiges, dont simples ou peu rameuses, se couchent sur le sol avant de remonter en érection. Les feuilles, finement découpées, délicates et alternes sont pubescentes. Les grandes fleurs sont blanches au cœur jaune, teintées de mauve-dessous et ordinairement solitaires (Figure I.5).

Les fruits sont des akènes glabres. Semis en avril-mai en plein terre, le pyrèthre d'Afrique préfère les sols maigres, se ressème très aisément et fleurit de juin à septembre.



PHOTO. Selles_Chaouki
Figure I.5 : Anacyclus pyrethrum L

I.3.5. Classification

Règne	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Ordre	: Asterales
Famille	: Asteraceae
Genre	: Anacyclus
Nom binominal	: Anacyclus pyrethrum (L.) Link, 1822

I.3.6. Usage thérapeutique et toxicité

La racine de *Anacyclus pyrethrum* a été connue et utilisée en médecine depuis l'Antiquité. Les propriétés sont décrites dans des ouvrages médicaux de Hildegarde de Bingen (1098-1179), Dodoens (1554), Culpeper (1616-1654), John Uri Lloyd (1911), mais aussi dans les temps modernes.

Anacyclus pyrethrum est largement utilisée en médecine traditionnelle locale pour le traitement de plusieurs maladies : Partout en Algérie ou au Maroc, la racine est utilisée comme sternutatoire, sialagogue et diaphorétique.

On l'emploie aussi dans le traitement des maladies du foie (à raison d'une cuillère à café de poudre tous les matins). En liniment (dans de l'huile d'olive), elle est utilisée dans le traitement des rhumatismes, de la sciatique, des coups de froid, des névralgies et des paralysies. Contre les maux de dents, on frotte les gencives avec un coton sur lequel on a disposé un peu de poudre [50].

La population rurale de l'ouest Algérien (région de Tlemcen) et certains herboristes suggèrent que cette plante peut être utile pour le diabète. Le pyrèthre d'Afrique est connu pour ses propriétés insecticides et antimycosiques. Mélangée à du goudron végétal, la poudre de racine est employée contre la teigne. On prépare aussi un oléat en faisant décocter de la racine de pyrèthre d'Afrique dans de l'huile d'olive. Cet oléat sert, en frictions sur la tête ou le pubis, à tuer les poux et la vermine.

D'après GATTEFOSSE (1921), la racine est utilisée en infusion buvable, par les femmes, comme réchauffant, pour favoriser à la fécondité. Dans le Moyen Atlas, la poudre de racine est employée comme antimité. La racine du pyrèthre d'Afrique purifie le sang, lutte contre l'anémie grâce à sa richesse en vitamine B12 et en Fer, redonne vigueur et clarifie la vue.

Le pyrèthre lutte aussi contre les troubles digestifs, le cholestérol et les mucosités. La plante n'est pas dénuée de toxicité et plusieurs accidents (sévères inflammations des muqueuses digestives, respiratoires ou cutanées) ont été signalés, suite à des usages thérapeutiques. Par ses seules émanations, elle peut provoquer chez l'homme de la céphalée, des bourdonnements d'oreille, de la pâleur, des douleurs épigastriques, des nausées, parfois même une perte de connaissance [51].

I.3.7. Travaux scientifiques réalisés sur *Anacyclus pyrethrum*

Les travaux antérieurs sur cette plante et qui seront exposés, sont le résultat d'une recherche bibliographique basée surtout sur la banque de données SciFinder.

C'est au cours des années 30 que des scientifiques ont pu découvrir la pyréthrine (dite aussi pellitorine) comme étant le principe actif de la racine [54,56, 52]. Les années qui suivent, des insecticides à base de *Anacyclus pyrethrum* ont été testés sur les chevaux [52].

En 1952, Crombie, L. a pu ré isoler la pellitorine à partir de la racine de *Anacyclus pyrethrum* par la méthode de Jacobson en obtenant un produit cristallisé [53].

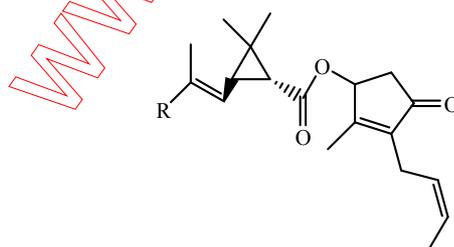


Figure I.6: Pyrèthrine I, R = CH₃

Pyrèthrine II, R = CO₂CH₃

C'est au même professeur Crombie, L que l'on doit les premiers travaux qui ont mis en évidence un nouveau composé cristallisé l'anacycline. Ce composé a été isolé des racines de

Anacyclus pyrethrum et sa structure a été identifiée comme étant N isobutyltétradéca-trans-2, trans-4-diène-8,10 diyneamide [54, 55].

A la fin des années 60, Burden, R.S et Crombie, L ont montré que Anacyclus pyrethrum contient N-[2-(p-hydroxyphényl)-éthyl] déca-, dodéca-et tétradéca-trans-2, trans-4-diénamide, une nouvelle série d'amides correspondant à la tyramine isobutylamide, la lignane (y compris la sésamine) [40]

En 1972, L'investigation de l'extrait de la racine de Anacyclus pyrethrum a donné des composés polyacétyléniques [56].

Ross S.A et son équipe ont porté leurs études sur les substances antibiotiques par l'intermédiaire d'un screening de l'activité antimicrobienne (4 bactéries contre 5 champignons) sur 32 plantes égyptiennes dont Anacyclus pyrethrum [57].

Les travaux ont ensuite porté sur la détermination des métaux lourds et des minéraux dans la racine par différentes méthodes à savoir la spectrométrie d'absorption atomique, la photométrie de flamme et le plasma à couplage inductif ainsi que les techniques d'analyse par activation neutronique [58, 59, 60].

Il a été démontré que Anacyclus pyrethrum possède une activité inhibitrice in vitro cyclooxygénase (microsomes moutons séminales) et lipoxygénase (leucocytes de porc). Cette activité semblait dépendre de la structure particulière des alkamides polyinsaturés isolés de l'espèce en question [61]

Lors de l'étude de l'activité anti-inflammatoire de certains extraits aqueux, éthanolique et chloroformique de quelques plantes utilisées dans la médecine traditionnelle du nord de l'Afrique, et après les avoir administrés par voie topique (œdème induit par l'acide arachidonique dans l'oreille de souris) ou intra-péritonéale chez le rat, il s'est avéré que Anacyclus pyrethrum possède une activité significative dans les deux modèles expérimentaux [62].

En Inde, Sukumaran et coll. (1995) [63] ont évalué les effets inhibiteurs de l'eugénol, un composé présent dans beaucoup d'épices comme le clou de girofle, la cardamome... etc et les extraits de Anacyclus pyrethrum qui sont traditionnellement utilisés en Inde lors de la préparation du tabac à mâcher, sur la mutagenèse induite par le tabac à l'aide du test Ames Salmonella / microsomes : un extrait de pyrèthre à 1 mg/plaque produit une inhibition de 74%.

Les racines de Anacyclus pyrethrum qui sont employées en médecine ayurvédique (en Inde depuis plus de 5 000 ans) comme «Vajikaran Rasayana» - une catégorie de médicaments pour la vitalité et la virilité, sont soupçonnés d'avoir une action aphrodisiaque. En effet, Mitra, S. K et coll. [30] ont évalué expérimentalement l'efficacité relative des médicaments d'origine

végétale sur les performances sexuelles et les niveaux d'hormones chez des rats exposés à l'alcool et des rats normaux.

Les travaux qui ont suivi, ont porté sur la proposition d'un processus de préparation de plantes toniques et fortifiantes [64], d'une composition pour le traitement de l'absence ou la faiblesse de la libido (le désir sexuel) ainsi que les troubles associés à un dysfonctionnement sexuel. [14, 1], d'un mélange synergique d'extraits de plantes et de produits chimiques pour le traitement de l'éjaculation prématurée [65]. Les activités anabolisante, aphrodisiaque et reproductive de *Anacyclus pyrethrum* chez les rats mâles ont été évaluées [66, 67].

Au Portugal, parmi une collection de 127 échantillons de plantes médicinales, des résidus de pesticides organochlorés dans *Anacyclus pyrethrum* ont été évalués [68].

Hussein et coll. [69] ont mis en évidence les effets inhibiteurs sur l'hépatite C (VHC) de quelques extraits méthanoliques et aqueux de *Anacyclus pyrethrum* et d'autres plantes médicinales soudanaises.

D'autre part, Khanna et coll. [70] ont décrit un mélange à base de plantes contre les rides et pour la tonification musculaire.

La fraction riche en polysaccharides obtenue à partir d'un extrait aqueux à chaud de la racine de *Anacyclus pyrethrum* a montré une activité immunostimulante chez des rats [71].

Les recherches qui ont suivi, ont vu la description d'une série de formulations à base de plantes formant une poudre ou une pâte dentifrice [72], un désodorisant de bouche [73] et contenant de substances antiallergiques et des composants expectorants pour le traitement de la toux, le rhume, les maladies cardiaques, les poumons et la digestion [74].

D'autres inventions ont été mises au point par l'obtention d'une composition nutraceutique à base de plantes, y compris *Anacyclus pyrethrum* [75], des systèmes et méthodes pour les soins de la peau et le traitement de la rosacée télangiectasie [76,77] ainsi que des compositions anti allergiques [78,79].

Anacyclus pyrethrum et certaines plantes indigènes et exotiques ont été étudiées par Ullah, (2006) [80] pour leurs teneurs en métaux enzymatiques et par conséquent leurs activités physiologiques. Une corrélation entre l'efficacité de ces plantes et leurs concentrations en métaux a été investiguée.

Une évaluation systématique des composés phénoliques et des pouvoirs anti oxydants d'un grand nombre de plantes médicinales indiennes s'est avérée importante pour la compréhension de leurs utilisations en médecine traditionnelle [81].

Les propriétés antibactériennes de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle indienne ainsi que l'activité immunomodulatrice de l'extrait à l'éther de pétrole de la racine de *Anacyclus pyrethrum* ont été rapportées [82, 83]

Enfin, une étude récente évalue l'effet de l'extrait hydroalcoolique de la racine de *Anacyclus pyrethrum* contre les crises d'épilepsie et les troubles cognitifs dans des modèles expérimentaux de convulsions. Des rats mâles Wistar ont été utilisés dans l'étude [84].

A la lecture de ces travaux et contrairement à la chimie des autres espèces du même genre, *Anacyclus pyrethrum* reste insuffisamment étudiée.

I.4. Huiles essentielles : extraction et analyses

I.4.1. Historique

Depuis des millénaires, les huiles essentielles ont été élaborées à partir de plantes aromatiques pour se soigner, pour conjurer le mauvais sort, aromatiser les aliments et les conserver. Elles ont été recommandées également pour le plaisir et la détente que procure leur pratique régulière.

Les huiles essentielles dites aussi huiles volatiles ou éthériques [85] sont des substances liquides huileuses, odorantes, obtenues à partir du matériel végétal par expression (pression à froid), fermentation, enflourage ou extraction, mais la méthode de distillation à la vapeur est la plus couramment utilisée pour la production commerciale d'huiles essentielles [86].

Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse Paracelsus von Hohenheim pour désigner le principe actif d'un médicament.

En dépit de l'utilisation connue, depuis l'antiquité des épices pour leur arôme, saveur et leurs propriétés de conservation [87] seule l'huile essentielle de térébenthine a été mentionnée par les historiens grecs et romains [85].

De grandes civilisations comme la médecine indienne (ayurvéda) ou chinoise ont utilisé depuis longtemps les huiles essentielles. Mais la civilisation la plus avancée dans le domaine fut l'Égypte antique, dont la médecine était particulièrement avancée. La conservation des momies étant peut-être l'exemple le plus flagrant. L'extraction des huiles essentielles par distillation a été inventée par Avicenne, médecin arabe qui mit au point l'alambic autour de l'an 1000.

Le premier récit authentique écrit sur la distillation d'huile essentielle est attribué à Villanova, un médecin catalan, entre 1235 et 1311. C'est à partir du 13^{ème} siècle que les huiles essentielles ont été introduites dans les pharmacies et leurs effets pharmacologiques décrits dans

les pharmacopées mais leur utilisation ne semble pas avoir été très répandue en Europe qu'au début du 16^{ème} siècle à Londres [88].

Au 17^{ème} siècle, selon le médecin français Du Chesne, la préparation d'huiles essentielles était bien connue et les pharmacies stockaient environ une vingtaine d'huiles différentes.

A la fin du 18^{ème} siècle et depuis la colonisation de l'Australie, l'utilisation de l'huile d'arbre à thé à des fins médicales a été documentée, mais il est probable qu'elle a été utilisée par les Australiens indigènes avant cette date [89]

Les premiers essais expérimentaux sur les propriétés bactéricides des vapeurs d'huiles essentielles ont été réalisés par De la Croix en 1881[90].

Toutefois, au cours des 19^{ème} et 20^{ème} siècles, l'utilisation d'huiles essentielles en médecine progresse et depuis, l'aromathérapie en tant que médecine naturelle complémentaire, n'a cessé de gagner du terrain face au "tout chimique" et devient une pratique secondaire par rapport à leur utilisation pour leurs propriétés organoleptiques.

Aujourd'hui, les huiles essentielles se vendent un peu partout : en pharmacie à des fins thérapeutiques, en parfumerie (parfums et lotions après-rasage), dans les magasins "bio" (comme arômes dans les aliments), mais aussi dans les boutiques de cadeaux et sur les foires. On compte approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées et destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Les huiles essentielles sont aussi largement utilisées pour leurs activités antibactériennes, antifongiques et leurs propriétés insecticides [91].

I.4.2. Définition et caractéristiques

L'huile essentielle appelée encore « essence » ou « essence aromatique végétale » est définie comme "un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques" AFNOR NF T 75-006 (AFNOR, 1980).

Selon AFNOR, il faut utiliser le terme « essence » alors que la pharmacopée française et la pharmacopée européenne utilisent le terme « huile essentielle ». C'est ce dernier terme qui a été retenu par les spécialistes en pharmacognosie. Contrairement à ce que suppose la dénomination, ces extraits ne sont pas forcément huileux [15], AFNOR NF T 75-006 (AFNOR, 1980).

Le terme "huile" revient à leur nature lipidique, leur immiscibilité avec l'eau et leur solubilité dans les solvants organiques. En outre, le terme "essentielle" provient du fait que ces

huiles représentent le sang vital de la plante et agissent comme son système immunitaire. Ces huiles sont si essentielles à la plante qu'elle ne pourrait pas survivre sans elles.

La plupart des huiles essentielles sont des liquides rarement colorés, d'une odeur caractéristique et sont, en général moins denses que l'eau et possèdent des caractéristiques hydrophobes et liposolubles. Lors de l'hydrodistillation, l'huile essentielle se sépare de l'eau du distillat mais une petite partie se solubilise dans l'eau et lui confère une odeur, on parle alors d'eau aromatique à ne pas confondre avec l'hydrolat, eau distillée aromatisée (parfois artificiellement) à laquelle on ajoute parfois de l'alcool, des stabilisants chimiques ou des conservateurs [92].

La plupart des plantes contiennent des huiles essentielles, mais habituellement en quantité infime. Seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantité suffisante.

Ces plantes appartiennent, le plus souvent, aux familles des labiées (lavande, thym, menthe, etc.), des ombellifères (cumin, carvi, anis, fenouil, etc.), des myrtacées (eucalyptus, girofle, etc.), des conifères (pin, cèdre, cyprès, etc.), des rutacées ou hespéridés (citron, orange, etc.), et des lauracées comme la cannelle [93].

Les propriétés des huiles essentielles diffèrent selon que l'essence est extraite de la fleur, la feuille, les racines ou la graine. D'une manière générale, les essences extraites des racines sont reconnues pour leur action sur le système nerveux, celles extraites des graines et des fleurs pour leur impact sur l'ensemble du système digestif et celles issues des feuilles pour leur bienfait sur la respiration.

Les huiles essentielles se conservent assez bien quelques années dans des récipients étanches à l'air, en verre ambré si possible, au frais et à l'abri de la lumière.

Les huiles essentielles sont potentiellement dangereuses et doivent être utilisées avec beaucoup de précautions surtout par voie buccale. En usage interne, les huiles essentielles pures sont le plus souvent agressives pour les muqueuses buccales et digestives. Pour les avaler, on les mélange donc avec du miel, du lait. En usage externe, elles pénètrent assez rapidement à travers la peau.

I.4.3. Composition chimique et facteurs de variabilité d'une huile essentielle

I.4.3.1. Composition chimique

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet,

ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités très divers.

L'analyse précise et détaillée de la composition d'une huile essentielle se fait par chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse. Les huiles essentielles d'un point de vue chimique, sont un mélange varié, très complexe et constitué de plusieurs dizaines de composés. Cette complexité rend souvent difficile la mise en évidence de leurs activités [22].

Beaucoup d'huiles essentielles recèlent un constituant chimique majoritaire, appelé "chénotype" et qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente. Son action est influencée et complétée par des molécules secondaires : c'est l'effet de synergie. La nature du sol, l'altitude, les conditions climatiques, sont des facteurs parmi d'autres pouvant entraîner des variations dans la composition biochimique de l'essence en déterminant ses différents chénotypes. Un cas exemplaire est celui du thym commun (*Thymus vulgaris*) dont la variabilité chimique est largement influencée par son environnement (sol, altitude, pression animale ou humaine) et le climat (température, pluviométrie, et ensoleillement). Le thym comprend alors 7 chénotypes différents : cinéol, géraniol, linalol, terpinéol, thuyanol, thymol, et carvacrol. Chaque chénotype étant responsable d'effets qui lui sont propres et qui peuvent parfois se révéler antagonistes [22].

Les constituants d'une huile essentielle appartiennent quasi exclusivement, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts : le groupe des terpènes et des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Les huiles essentielles peuvent également contenir des constituants non volatils issus de processus de dégradation [22].

On trouve dans une huile essentielle des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (les alcools, les esters, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les phénols et éthers de phénol).

a) Terpènes et terpénoïdes :

Dans les huiles essentielles seuls les terpènes de faible poids moléculaire (les plus volatils) seront rencontrés. Les terpénoïdes (monoterpènes et sesquiterpènes) sont en général très nettement dominants. Un nombre très élevé et estimé à plusieurs milliers de composés a été décrit dans la littérature [22].

Les variations structurelles dans les deux séries sont de même nature. Il s'agit de :

a)1. Monoterpènes :

- Carbures :
 - Acyclique : myrcene, ocimene
 - Monocyclique : terpinènes, p-cimene, phellandrene...
 - Bicyclique : pinène, camphene, sabinene...
- Alcools :
 - Acyclique : géraniol, linalol, citronellol...
 - Monocyclique : menthol, α -terpinéol, carveol
 - Bicyclique : borneol, fenchol, chrysanthenol...
- Aldéhydes
 - Acyclique : geranial, neral, citronellal...
- Cétones :
 - Acyclique : tegetone...
 - Monocyclique : menthone, carvone, pulegone, piperitone...
 - Bicyclique : camphor, fenchone, thuyone, ombellulone
- Esters :
 - Acyclique : acétate ou propionate de linalyl, acétate de citronellyl...
 - Monocyclique : acétate de α -terpinyl ou menthyl...
 - Bicyclique : acétate d'isobornyl...
- Peroxydes : ascaridole...
- Phénols : thymol, carvacrol

a)2. Sesquiterpènes :

- Carbures :
 - Acyclique : azulene, β -bisabolene, cadinenes, b-caryophyllene
- Alcools :
 - Acyclique : bisabol, cedrol, β -nerolidol, farnesol, carotol, β -santalol, patchoulol, viridiflorol,
- Cétones :
 - Acyclique : germacrone, nootkatone, cis-longipinan-2,7-dione, β -vetinone, turmerones...

Parmi les sesquiterpènes on trouve aussi [22]:

- Les dérivés Méthoxy : anéthole, elemicine, estragole, méthyleugenols
- Composés dioxy méthylène : apiole, myristicine

Il convient de signaler que plus la chaîne carbonée est longue, plus le nombre de cyclisations possibles augmente, d'où la grande diversité des structures connues dont le nombre de squelettes différents décrits avoisine 300 [94].

La majorité des sesquiterpènes connus ont été isolés à partir de champignons et d'organismes marins, mais un grand nombre est également produit par les plantes à fleurs.

Le squelette germacrène est un anneau de 10 chaînons contenant toutes les liaisons trans doubles (Figure I.7). Les germacrènes sont des sesquiterpènes volatils présents dans de nombreux extraits de plantes et sont les précurseurs de toute une famille de molécules de valeurs commerciales précieuses.

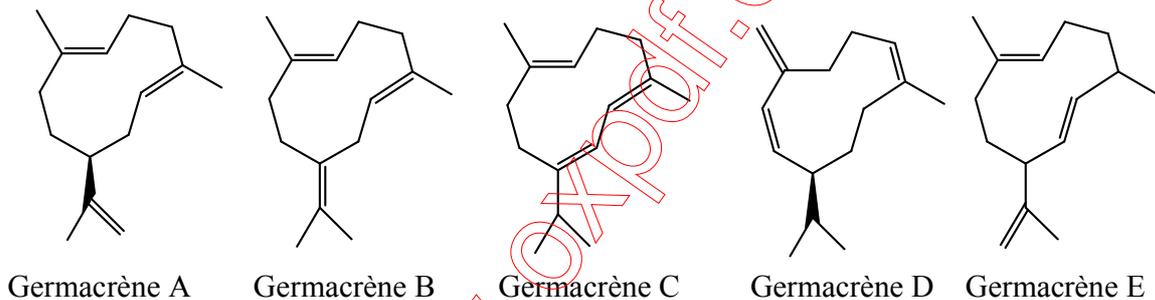


Figure I.7 : Différents squelettes du germacrène

b) Composés aromatiques :

Les composés aromatiques sont moins fréquents que les précédents mais néanmoins très importants. Ce sont très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes (Figure I.8).

Les principales sources végétales de ces composés sont : l'anis, la cannelle, le clou de girofle, le fenouil, la muscade, le persil et certaines familles botaniques (Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae).

On rencontre : l'eugénol, E-anéthole, la vanilline et l'antranilate de méthyle [22].

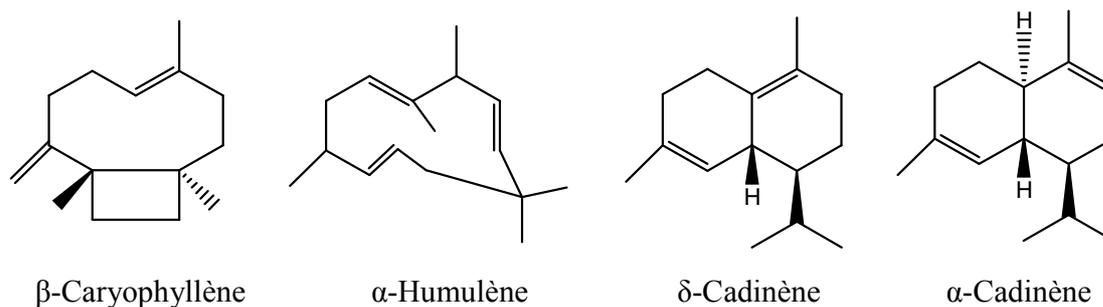


Figure I.8 : Structures de quelques composés aromatiques

c) Composés d'origines diverses :

Les huiles essentielles peuvent contenir d'autres produits résultant de la dégradation d'acides gras comme : le (3Z)-hexén-1-ol et d'autres composés issus de la dégradation des terpènes comme les ionones.

En outre, on peut rencontrer les composés azotés et soufrés mais ils sont souvent rares dans les huiles essentielles.

I.4.3.2. Facteurs de variabilité

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement et plusieurs facteurs en sont responsables :

- Existence de chémotypes (chimiotypes) :

C'est un facteur très fréquent chez les plantes à huiles essentielles. En effet, pour une même espèce on peut rencontrer plusieurs chémotypes : l'exemple du thym avec ses sept races chimiques est très frappant.

- Influence du cycle végétatif :

Pour une espèce donnée, la composition chimique d'une huile essentielle peut varier au cours du cycle végétatif. Pour certaines espèces, des variations parfois considérables sont observées.

- Effets des facteurs extrinsèques :

Les facteurs de l'environnement comme l'humidité relative de l'air, la température, la durée de l'insolation, l'altitude... influent directement sur la proportion des différents constituants d'une huile essentielle, surtout chez les espèces dont les structures sécrétrices sont superficielles (cas des poils sécrétrices des lamiales). Par contre, quand la localisation est profonde, la composition et la qualité sont pratiquement constantes. Les conditions de culture (nature du sol,

apport en engrais...) ont une incidence non négligeable et déterminante sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle.

- Influence du procédé d'extraction :

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation est souvent, d'une composition différente de celle qui existe initialement dans la plante. En effet, au cours de l'extraction, les constituants des huiles essentielles connus pour être fragiles, sont soumis aux effets combinés d'un milieu aqueux, de son acidité et de sa température, et peuvent subir des conversions chimiques [95].

Les réactions chimiques induites sont diverses et l'hydrolyse des esters reste la plus plausible. On note aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations. Les cyclisations catalysées par la présence des métaux, peuvent aussi avoir lieu en provoquant des transformations chimiques des huiles essentielles [96].

La composition d'une huile essentielle varie aussi en fonction du temps d'extraction d'où l'importance qu'il y a à prendre en compte l'ensemble des paramètres, de la culture à l'obtention du produit final afin d'assurer la qualité d'une huile essentielle et sa constance.

D'autres facteurs tels que les traitements préliminaires (conditions de transport, durée de séchage et de stockage du matériel végétal...) peuvent engendrer une grande variabilité de la composition d'une huile essentielle, suite à des dégradations enzymatiques [22]. En outre, la composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement dans une même plante selon les organes (feuille, fleur, fruit, bois).

I.4.4. Huiles essentielles dans la plante : localisation, rôles et actions

Les huiles essentielles peuvent être synthétisées par tous les organes de la plante. On les trouve bien sûr dans les fleurs (oranger, rose, lavande), très souvent dans les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, laurier), aussi dans les tiges, les graines, les fruits, rarement dans les organes souterrains (racines et rhizomes), et même dans les écorces et le bois (cannelle, bois de rose).

Les huiles essentielles sont stockées dans : les cellules sécrétrices, des cavités, des canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires [97, 98].

Dans la nature, les huiles essentielles jouent semble-t-il un rôle défensif important dans la protection des plantes contre les prédateurs. L'homme et certains insectes sont les rares êtres vivants à être attirés par l'odeur des plantes aromatiques. Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique) : attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre

les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores par exemple) [98].

Généralement, l'huile essentielle d'une plante possède plusieurs propriétés. Cette multiplicité des actions possibles est due essentiellement à la complexité et la diversité de la composition des huiles essentielles. Le mode d'action des huiles essentielles n'a pas encore été entièrement expliqué. A travers l'étude de la littérature récente, différents mécanismes ont été proposés.

La composition d'une huile essentielle est bien définie et ses constituants exercent des activités métaboliques précises. On pense que les huiles essentielles potentialisent le terrain enzymatique du patient afin que celui-ci mobilise ses capacités d'auto-guérison.

Les huiles essentielles "détoxifiantes et mucolytiques" facilitent l'évacuation et favorisent l'élimination des déchets métaboliques et l'assimilation de l'oxygène par l'amélioration des échanges respiratoires. D'autre part, au stade actuel de la recherche, il semblerait que l'aspect olfactif des huiles essentielles soit une source d'information psychosensorielle, détectée par nos récepteurs olfactifs, puis interprétée par notre cerveau. Il en résulte une modulation de nos actes et comportements, ainsi qu'une régulation dans la gestion de nos métabolismes via le système nerveux [99].

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. La description de quelques unes des principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des huiles essentielles sont :

I.4.4.1 Action antibactérienne :

C'est probablement la propriété la plus reconnue pour la plupart des huiles essentielles du point de vue thérapeutique. Observée et étudiée depuis plusieurs dizaines d'années, par de nombreux chercheurs, un grand nombre d'huiles essentielles ont déjà été testées sur une large gamme de bactéries différentes (Gram + type "coque" aussi bien que Gram - du genre E coli).

Les mécanismes d'action anti bactérien des huiles essentielles sont relativement bien connus. Une des possibilités d'action est la génération de lésions irréversibles sur la membrane des cellules bactériennes qui induisent des pertes de matière (cytoplasmique), pertes de sel, perte de substrats énergétiques (glucose), amenant directement à la lyse de la bactérie (cytolyse) et donc à sa mort. Une autre possibilité d'action est l'inhibition de la production par les bactéries des toxines responsables du déclenchement des processus infectieux [100].

I.4.4.2 Action antifongique :

Les "fongi" regroupent ce qui est appelé plus communément les champignons et levures dont le membre le plus connu est la levure "C. albicans". Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Contrairement aux bactéries, ce sont des organismes unicellulaires pourvus d'un noyau (eucaryotes). Généralement, les huiles essentielles contenant des dérivés phénoliques sont particulièrement actives sur ces organismes alors que les huiles n'en contenant pas, sont aussi reconnues comme très actives sur un grand nombre de levures, comme le Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*), le lemongrass, le palmarosa.

Les modes d'actions antifongiques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries. Cependant, il faut y ajouter deux phénomènes supplémentaires inhibant l'action des levures : l'établissement d'un gradient de pH et le blocage de la production d'énergie des levures ("phénomène de respiration") [100].

I.4.4.3 Action antivirale :

Tous les virus sont des parasites par nécessité de nos cellules. Un virus ne sait pas se reproduire par lui-même et a besoin d'une cellule hôte. Lorsqu'il se propage dans l'organisme, le virus peut s'entourer d'une membrane semblable à la membrane de la cellule hôte, ce qui le rend indétectable par le système immunitaire de l'organisme infecté et inattaquable par les médicaments. Pourtant, certaines huiles essentielles possèdent l'étonnante capacité de se fixer à la membrane externe des virus, de la détruire et donc de mettre à nu les particules virales, qui, se dévoilant ainsi face au système de défense du corps, sont immédiatement détruites.

Les différents essais décrits dans la littérature, montrent qu'à des concentrations entre 0.1% et 1%, les huiles essentielles testées sont capables de détruire les particules virales en culture, ce que ne peuvent parvenir à faire les drogues synthétiques fabriqués jusqu'à maintenant.

I.4.4.4 Action antiparasitaire :

L'action des huiles essentielles est reconnue sur les deux grands types de parasites: Les parasites externes: Les huiles essentielles sont d'une efficacité redoutable vis-à-vis des parasites externes. Leur mode d'action est double: certaines molécules aromatiques détruisent les parasites en "brûlant" leur système respiratoire (dérivés phénoliques et oxydes terpéniques) et d'autres (phénols méthylethers, les cétones terpéniques ou les lactones sesquiterpéniques, etc...) agissent en générant une paralysie des parasites suivie de leur mort. En fait, leur mécanisme d'action est très similaire à celui des drogues chimiques disponibles actuellement, sauf qu'elles n'induisent que peu de toxicité et d'effets secondaires.

Les parasites internes: Deux ou trois familles de molécules aromatiques présentes dans certaines huiles essentielles sont capables d'avoir une activité vermifuge ou vermicide: les aldéhydes aromatiques, les phénols aromatiques et les cétones terpéniques, auxquels il faut ajouter un oxyde terpénique particulier, l'ascaridol. Ces molécules sont très puissantes et sont également dotées d'une toxicité certaine pour l'animal comme pour l'homme. Il est donc extrêmement important de bien équilibrer les doses d'huiles essentielles ingérées, ainsi que la durée du traitement.

I.4.4.5 Action immunostimulante :

Des molécules comme l'alpha-terpinéol, le géraniol ou le linalol, présentes dans certaines huiles essentielles, sont capables d'augmenter la teneur en immunoglobulines en induisant une stimulation plus ou moins importante du système immunitaire. En pratique on se rend compte que les huiles essentielles antivirales sont presque systématiquement immunostimulantes.

I.4.4.6 Action anti-inflammatoire :

L'inflammation est un processus complexe initié soit par un foyer infectieux, soit par un traumatisme (articulaire, musculaire, circulatoire, etc...). Le premier type d'inflammation peut être enrayé par l'élimination de la cause de l'inflammation, c'est-à-dire l'agent infectieux. Ce type d'action va diminuer la réaction immunitaire et donc réduire la réaction inflammatoire. Ce type d'action est appelé "immuno-modulante"[100].

D'autres huiles essentielles agissent directement sur les foyers inflammatoires par transfert de charges électroniques. Par exemple, dans le cas de foyers inflammatoires chauds dans lesquels se trouvent un surplus de charges "positives", certaines molécules appelées "négativantes" vont céder des charges négatives afin de compenser l'excès de charges positives présentes et diminuer ainsi l'inflammation. Il s'agit dans ce cas, des huiles essentielles contenant des esters terpéniques, des sesquiterpènes ou des aldéhydes terpéniques. Un dernier mode d'action anti-inflammatoire peut s'expliquer dans certains cas par la possibilité de certaines huiles essentielles de générer un échauffement local. Cette dernière action accélère localement l'apport de flux sanguin et l'arrivée des globules blancs et des leucocytes, ce qui conduit ainsi à une réduction de l'inflammation. Ce mode d'action est celui des aldéhydes terpéniques.

En outre, un effet anti-inflammatoire peut également être généré grâce à certains monoterpènes cycliques qui peuvent activer certaines glandes endocrines comme les glandes surrénales, en particulier celles à l'origine de la production des glucocorticoïdes comme le cortisol, la cortisone et la corticostérone à effets anti inflammatoires. La production d'un excès de ces anti-inflammatoires stéroïdiens par les glandes surrénales seront également à l'origine des

effets secondaires qui pourraient apparaître lors d'une utilisation trop fréquente de ces huiles (acidité gastrique, réduction de l'activité immunitaire, décalcification, réduction de la masse musculaire, ...etc)

I.4.4.7 Action antalgique et antispasmodique :

Quelques huiles essentielles parviennent à calmer les spasmes et à lutter contre la douleur en utilisant divers mécanismes:

- Le refroidissement brusque qui crée une sorte d'anesthésie. C'est le mode d'action des huiles essentielles de menthes.
- Le chauffage pour accélérer la circulation sanguine par un effet vaso-dilatateur et faciliter l'évacuation des toxines à l'origine de la douleur. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle.
- Action musculotrope et neurotrope directe.
- Action calmante et sédative **[101]**

Certaines huiles essentielles (notamment associées aux massages) pourraient avoir une action de détente et de relaxation. Les mécanismes à l'origine de ces effets ne sont actuellement pas très bien connus, mais elles agissent très probablement directement au niveau du système nerveux central. Les aldéhydes terpéniques (Verveine citronnée) et les esters terpéniques (Camomille romaine) sont les plus aptes à exercer ce type d'effet calmant.

Les esters aromatiques agiraient mais en suivant d'autres processus.

Enfin, les alcools monoterpéniques jouent un rôle d'équilibrage du système nerveux dont les molécules agissent comme stimulantes ou calmantes en fonction de l'état de l'individu. C'est le cas du linalol (lavande vraie) qui est préconisé en massage pour faciliter l'endormissement et mieux gérer les problèmes d'insomnie.

I.4.4.8 Action mucolytique, bronchodilatatrice, expectorante:

Les cétones terpéniques et les lactones sesquiterpéniques (la pipéritone, la cryptone...) contenues dans certaines huiles essentielles sont les seules responsables de l'action. Ces molécules allient puissance d'action et sécurité d'emploi (non toxicité).

En ce qui concerne les effets bronchodilatateurs et expectorants, la molécule la plus connue est certes l'eucalyptol qu'on trouve souvent en forte concentration dans un grand nombre d'huiles essentielles (Eucalyptus radié, Myrte verte, Romarin à cinéol, ...) **[101]**.

I.4. 5. Huiles essentielles : toxicités et effets indésirables

L'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique doit se faire avec prudence. Bien qu'aucune preuve n'existe en faveur de l'efficacité réelle des huiles essentielles, celles-ci restent des produits à employer avec attention et modération.

Le bon usage des huiles essentielles nécessite donc, la connaissance des effets indésirables et des précautions d'emploi. La toxicité des huiles essentielles varie d'une huile à une autre et dépend fortement de la sensibilité de l'utilisateur. L'effet allergisant est dû à certaines molécules comme le cinnamaldéhyde ou à l'usage abusif et prolongé d'une huile essentielle non diluée.

L'application des huiles essentielles contenant des terpènes est déconseillée aux personnes allergiques. Quant à l'effet photosensibilisant, il est dû aux furanocoumarines contenues dans les essences d'agrumes (bergamote, citron, orange, pamplemousse...). L'exposition au soleil de la partie traitée par l'extrait fait apparaître des taches foncées indélébiles.

Par voie buccale, les huiles essentielles sont potentiellement dangereuses et doivent être utilisées avec beaucoup de précautions (une tisane de sauge officinale est sans danger mais une toute petite dose d'huile essentielle de sauge officinale peut provoquer des convulsions qui rappellent l'épilepsie). Il faut aussi savoir que certains constituants des huiles essentielles sont caustiques comme l'origan, alors que d'autres comme les allyl- et propényl phénols sont potentiellement cancérogènes.

Le marché des huiles essentielles est actuellement en pleine expansion. Or, même aux pays développés, il n'existe pas de réglementation concernant spécifiquement l'emploi de ces huiles, que ce soit au niveau des cosmétiques, des médicaments et même de l'alimentaire.

Les experts européens des produits cosmétiques et de santé publique tiennent à attirer l'attention du consommateur, à travers des recommandations et des règles encadrant l'emploi et la commercialisation de ces produits particuliers, sur le fait que la nature fournit des substances douées d'une grande activité qui, par conséquent, peuvent présenter elles aussi une certaine nocivité [102].

I.4.6. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction des substances aromatiques. Cette opération est des plus difficiles et des plus délicates puisqu'elle a pour but d'obtenir les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal et cela, sans en altérer la qualité. Il

s'avère que la composition d'une huile essentielle dépend considérablement de la méthode d'extraction.

D'autre part, les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles doivent apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante. Basées sur différents phénomènes physiques : l'extraction, la distillation ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées, et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique.

1.4.6.1 Hydrodistillation

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal dans un ballon contenant de l'eau qui est ensuite portée à ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. L'hydrodistillation reste la méthode adoptée par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et la pharmacopée européenne pour l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de sa qualité [103, 104].

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (Figure I.9). Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continue sans modifier la quantité en eau du ballon.

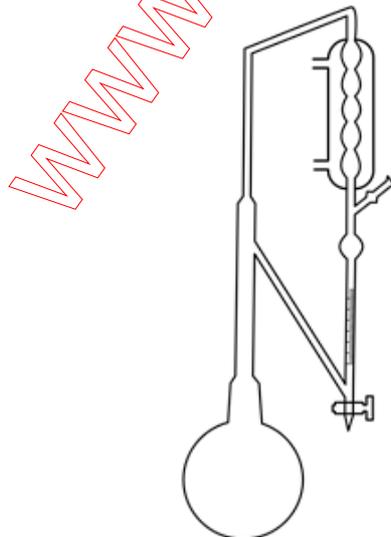


Figure I.9 : Appareil Clevenger

L'hydrodistillation est basée sur un chauffage qui provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des huiles essentielles. Les composés volatils sont aussitôt évaporés et forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique (eau + huile essentielle). Ce dernier distille à une température voisine de 100°C à pression atmosphérique en dépit des températures d'ébullition très élevées des différents constituants des huiles essentielles. Les vapeurs sont refroidies et condensées dans l'essencier [103, 104]. Après condensation et par différence de densité, se forme un système hétérogène constitué de deux phases : l'une aqueuse et l'autre organique (souvent c'est la phase supérieure) représentant l'huile essentielle.

Lors de l'hydrodistillation, plusieurs paramètres (durée d'extraction, quantité du matériel végétal et son état...) influent sur la qualité et le rendement en huiles essentielles.

La durée d'extraction par exemple, dépend donc de la localisation des huiles essentielles pouvant être superficielle ou interne. Elle peut atteindre plusieurs heures selon la matière végétale à traiter. En outre, l'eau résiduelle est plus ou moins saturée en constituants polaires qu'on peut extraire à l'aide d'un solvant organique comme l'éther diéthylique (extraction liquide-liquide) [105].

I.4.6.2 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. Contrairement à l'hydrodistillation, dans cette technique le végétal à traiter n'est pas en contact direct avec l'eau. La matière végétale située au dessus d'une plaque perforée est traversée par de la vapeur d'eau fournie. Sous l'action de la chaleur, les cellules végétales éclatent et l'huile essentielle est ensuite entraînée par les vapeurs d'eau qui se condensent dans un réfrigérant en formant un système hétérogène d'où on peut récupérer l'huile essentielle.

L'entraînement à la vapeur est une technique qui permet d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant affecter la qualité de l'huile. Pour limiter l'altération de l'huile essentielle, raccourcir le temps de traitement et par conséquent économiser de l'énergie, il est possible d'augmenter la pression jusqu'à trois bars [22].

I.4.6.3 Extraction aux solvants volatils

L'extraction se fait à l'aide de solvants organiques volatils (éther diéthylique, pentane...). La matière végétale à extraire est divisée afin de faciliter le contact avec le solvant, en augmentant la surface d'échange. L'ensemble est mis sous agitation à froid. La presque totalité des produits odorants passe en solution. Cependant, après filtration, il est nécessaire de laver plusieurs fois, avec le solvant d'extraction la matière traitée qui retient une forte proportion de la solution. Le mélange est donc concentré par évaporation du solvant à température ambiante [106].

I.4.6.4 Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est une nouvelle technique d'extraction impliquant une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière végétale. Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, le chauffage par micro-ondes d'un produit résulte ainsi de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau [107, 108].

Ce transfert d'énergie particulier induit un transfert de matière lui aussi particulier et dont les mécanismes diffèrent notablement de ceux de l'extraction solide-liquide traditionnelle. L'effet des micro-ondes a pour conséquence une libération plus rapide de l'huile essentielle contenue dans la plante grâce à l'ouverture quasi instantanée des glandes et poils sécréteurs.

L'extraction par micro-ondes est une technique très efficace et sélective. En effet, la durée du procédé d'extraction assistée par micro-ondes est de l'ordre de quelques minutes. Le rendement, dans la plupart des cas, est comparable à celui obtenu par les procédés traditionnels d'extraction. La sélectivité du procédé réside dans la pureté très élevée des extraits obtenus.

Deux variantes d'extraction par micro-ondes sont à présenter :

a) Extraction par solvant assistée par micro-ondes

La plus couramment utilisée est l'hydrodistillation par micro-ondes. Elle est basée sur l'utilisation simultanée des micro-ondes et d'une pression réduite. Qu'il soit frais ou sec (l'ajout de l'eau est requis pour le matériel sec), le matériel végétal à traiter est soumis durant un premier temps aux micro-ondes, opération suivie d'un vide pulsé qui permet l'entraînement des huiles essentielles dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. Très rapide, cette technique livre une huile essentielle de composition similaire à celle obtenue par une hydrodistillation classique [107, 108].

b) Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes renfermant 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 [107, 108].

I.4.6.5 Extraction au CO₂ supercritique

Cette technique est basée sur l'utilisation comme solvant, du dioxyde de carbone CO₂ dans son état supercritique (ni liquide ni gazeux). Le CO₂ en phase supercritique est d'un pouvoir extractant remarquable et présente plusieurs avantages : il est inerte chimiquement, non toxique, naturel et donc peu coûteux. En plus, la récupération de l'extrait est facile par simple détente du gaz puisque le CO₂ à l'état supercritique, est un bon solvant alors qu'il devient très mauvais solvant à l'état gazeux. L'extraction au CO₂ supercritique est une technique intéressante qui permet d'obtenir des extraits d'une grande richesse olfactive [107, 108].

I.4.6.6 Micro extraction en phase solide (SPME)

La micro extraction en phase solide (en anglais Solid Phase Micro Extraction : SPME) est une nouvelle méthode d'extraction sans solvant qui ne présente pas les inconvénients des techniques habituelles. Elle permet d'extraire des molécules organiques plus ou moins polaires, volatiles ou non, à partir d'échantillons aqueux, solides ou gazeux, même à l'état de traces.

L'extraction est basée sur l'adsorption des composés sur une fibre de silice fondue revêtue d'un polymère. Ce procédé ne correspond pas à une extraction totale du composé mais à son équilibre entre la matrice et le polymère de la fibre. Dans certaines conditions, il existe une relation entre la quantité de substance adsorbée sur le revêtement de la fibre et sa concentration dans la matrice. La micro-extraction permet de piéger des composés avec une aiguille rétractable recouverte d'une phase adaptée aux analytes dans un milieu ambiant ou fermé (par exemple un espace de tête). Cette aiguille est introduite à l'intérieur d'un injecteur et les composés sont désorbés thermiquement.

Le couplage de la SPME à des techniques chromatographiques permet l'exploitation quantitative du procédé. Cette méthode d'extraction présente donc l'avantage de regrouper toutes les étapes de la préparation d'un échantillon (extraction, concentration, dérivation et transfert au chromatographe) en un seul procédé. C'est une technique d'extraction très simple, rapide et peu coûteuse. En effet, les fibres peuvent être réutilisées plusieurs fois. En outre, cette technique est maintenant parfaitement automatisée. Cependant, l'optimisation des conditions d'extraction nécessite parfois beaucoup de temps [109].

I.4.7. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont considérées par certains pays comme relevant du domaine pharmaceutique. Pour d'autres, ces substances peuvent aussi bien être utilisées dans des médicaments, des produits cosmétiques, alimentaires ou biocides ainsi que dans d'autres produits de consommation courante ou même en tant que parfums d'ambiance.

Une parfaite connaissance de la composition chimique d'une huile essentielle est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et l'authenticité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation [110].

Si le dosage des huiles essentielles se fait simplement par extraction et pesée, pour leur contrôle, les pharmacopées prescrivent la détermination de certaines constantes physiques : densité relative, indice de réfraction, point de solidification, miscibilité à l'éthanol... Elles imposent également la mesure d'un certain nombre d'indices chimiques : indices d'acide, d'iode, d'ester...

D'autre part, elles exigent aussi l'analyse de l'huile essentielle par les techniques chromatographiques [22]. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape indispensable qui, malgré les développements croissants des méthodes analytiques de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de plusieurs techniques.

I.4.7.1 La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince ou chromatographie planaire (CCM, en anglais TLC pour Thin layer chromatography) est une technique de chromatographie couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative).

Elle comprend :

- une phase stationnaire : une couche mince de matériel adsorbant (usuellement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose)
- une phase liquide, dite phase mobile ou éluant : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase stationnaire.

I.4.7.2. La chromatographie en phase gazeuse :

Comme toutes les techniques chromatographiques, la chromatographie en phase gazeuse (CPG) permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexes de nature et de volatilités très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie et reste la méthode la plus adaptée pour l'analyse des huiles essentielles, compte tenu de la volatilité de leurs constituants [111]. La technique présente plusieurs avantages à savoir une mise en œuvre facile, un temps d'analyse assez court, des résultats fiables et une automatisation possible du processus [22].

Pour compléter les analyses et déterminer la composition chimique exacte d'une huile essentielle, les chromatographes sont souvent couplés à d'autres instruments analytiques, notamment avec la spectrométrie de masse (SM). La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM en comparant les valeurs des résultats spectraux avec celles de produits de référence appartenant à une banque contenant plusieurs bibliothèques de spectres.

Par ailleurs, de par sa complémentarité avec les autres techniques d'analyses, un couplage de la CPG avec la spectrométrie infra rouge par transformée de Fourier (IRTF) s'avère parfois indispensable.

Ces techniques d'analyse permettent soit d'identifier et de quantifier des molécules déjà connues et dont les données spectrales sont citées dans les banques de référence, soit d'élucider la structure de molécules non encore décrites.

Parfois lorsque l'huile essentielle est complexe ou qu'elle contient des composés pouvant coéluer, un fractionnement de l'huile essentielle est alors effectué, le plus souvent par le recours à la chromatographie liquide sur colonne ouverte de silice ou d'alumine. Les fractions obtenues sont ensuite analysées de la façon citée précédemment. Cette étape est à privilégier lorsque l'on veut étudier les différentes familles de composés (esters, alcools, cétones...) [112].

D'autres approches sont à mettre en œuvre, à savoir la résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN C^{13}) et celle du proton (RMN H^1), la spectrométrie de masse (SM), l'infra rouge à transformée de fourrier (IRTF)... Parmi toutes ces techniques spectroscopiques, la RMN

est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules [113]

Principe de fonctionnement

L'huile essentielle à analyser est d'abord introduite en tête de colonne par l'intermédiaire d'une micro seringue qui va traverser une pastille en caoutchouc, appelée septum, pour se retrouver dans une petite chambre en amont de la colonne appelée injecteur. L'injecteur est traversé par le gaz porteur et porté à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est une méthode d'analyse qui associe les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément les divers constituants d'un mélange.

Les premières tentatives de couplage remontent aux années soixante. Actuellement, ce système de couplage est désormais bien maîtrisé par les constructeurs d'appareils qui proposent une multitude d'analyseurs de masse. Les applications de cette technique sont innombrables et touchent de larges secteurs économiques, tels le contrôle de qualité de produits industriels, la répression des fraudes, le contrôle antidopage, celui de l'environnement etc.

Malgré la concurrence d'autres techniques d'analyse, la CPG/SM conserve de multiples domaines d'applications et des avantages indéniables dans certains types d'analyse de substances facilement vaporisables. Dans le domaine des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence [120].

Principe de fonctionnement

A la sortie de la colonne du chromatographe, les molécules entrent en collision avec un flux d'électrons et sont ionisées. Il existe deux modes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC).

En mode impact électronique, le bombardement de substances par un faisceau d'électrons d'énergie de l'ordre de 70 eV provoque leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence.

Les ions moléculaires sont focalisés et accélérés grâce aux plaques de focalisation. Ils entrent avec la même vitesse dans l'analyseur de masse très fréquemment un quadripôle. Ce

dernier est constitué de quatre barres cylindriques qui permettent de stabiliser les trajectoires des cations ensuite pour les séparer en fonction du rapport masse/charge (m/z).

A la sortie du quadripôle, les cations séparés et accélérés par les plaques de post-accélération, doivent être détectés. Les détecteurs usuels sont les channeltrons; ils transforment les impacts ioniques en signaux.

L'ordinateur enregistre les signaux visualisés sous forme de pics d'intensités variables, rangés sur une échelle de masses en effectuant un tracé du chromatogramme [120].

www.oxpdf.com

CHAPITRE II

PARTIE EXPERIMENTALE

II.1. Introduction

L'analyse d'une plante à potentialités thérapeutiques passe inévitablement par deux méthodes différentes. Dans la première approche, l'étude est basée sur des enquêtes ethnobotaniques préalables pour cibler une activité biologique quelconque. Les résultats de ces enquêtes avec les indications éventuelles des guérisseurs traditionnels orienteront les méthodes d'extraction et l'étude chimique ultérieure.

La deuxième approche qui est plus classique, consiste à réaliser un criblage des principales familles chimiques présentes dans la plante, et à réaliser les tests biologiques préliminaires sur l'extrait brut. L'isolement du principe actif se fait ensuite par fractionnement bioguidé. Parmi les très nombreuses substances que les plantes élaborent, plusieurs constituants sont doués d'activité pharmacologique et par conséquent responsables de l'emploi en thérapeutique. Ils font partie de groupes chimiques très divers; il peut s'agir de principes définis (alcaloïdes, composés phénoliques, hétérosides..) ou de mélanges complexes comme les huiles essentielles. Ces constituants appartiennent généralement aux métabolites secondaires.

Dans ce qui suit, nous avons utilisé plusieurs méthodes et techniques dont la description est succincte.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Provenance du matériel végétal et identification

Pour la réalisation des objectifs de notre travail, la plante, en provenance des monts de Tlemcen, nous a été fournie par un herboriste notoire de la région de Beni snouss.

L'identification de la plante a été faite par le Professeur Noury BENABADJI du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

II.2.2. Conservation

Comme toute plante n'est généralement pas utilisée immédiatement après la cueillette, il est nécessaire de connaître les meilleures méthodes pour en conserver ses principes actifs et par conséquent ses propriétés thérapeutiques. La conservation des plantes médicinales impose trois étapes : la dessiccation, le conditionnement et le stockage.

II.2.2.1 La dessiccation

La dessiccation consiste à éliminer progressivement l'humidité des plantes. Une plante humide devient une proie facile des bactéries et des champignons, qui l'attaquent et provoquent une altération de ses principes actifs. Une plante bien sèche ne contient normalement pas plus de 10 % d'humidité, ce qui empêche la reproduction de tels micro-organismes. C'est pourquoi, après chaque récolte, le matériel végétal est nettoyé (débarrassé des débris) puis étalé sur du carton étendu par terre ensuite laissé sécher à l'ombre, à l'abri de la poussière et dans des endroits bien aérés. Le matériel végétal est disposé par fines couches et remué de temps à autre. Le temps de séchage était d'une semaine jusqu'à dix jours.

II.2.2.2 Le conditionnement

Une fois sec, le matériel végétal doit être conditionné de manière à ne pas souffrir de détérioration par l'action de l'air, du soleil, de l'humidité ou de la chaleur. Pour le conditionnement de notre plante ; on a d'abord opéré une séparation de ses différentes parties à savoir :

- La racine (**R**) de l'anglais **Root**.
- les feuilles et tiges (**LS**) de l'anglais **Leaves and Stems**.
- Les fleurs (**F**) de l'anglais **Flowers**.

Le tout est mis dans des sachets en papier à l'intérieur de boîtes en carton (les matières plastiques sont à éviter). Pour la plante broyée, on a utilisé des récipients en verre. Sur chaque sachet, une étiquette est collée indiquant le nom et la partie de la plante ainsi que le lieu et la date de la récolte.

II.2.2.3 Le stockage

La conservation du matériel végétal emballé se fait dans un endroit sombre, frais et sec. La lumière, la chaleur et l'humidité sont les principales causes de détérioration de ces produits.

L'état de la plante stockée est vérifié périodiquement, pour détecter à temps les insectes, les champignons, les moisissures ou les putréfactions pouvant altérer le matériel végétal.

II.2.3. Criblage phytochimique

Une fois le matériel végétal prétraité, les différentes parties de la plante sont soumises à une batterie de tests pour détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans l'échantillon : La détection de ces familles constitue le screening ou criblage phytochimique.

Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée et provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié, est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation dans une molécule.

Les essais phytochimiques ont été menés suivant les méthodes phytochimiques usuelles et décrites pour la plupart par Harborne, [15].

- Les composés appartenant au groupe des flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine.
- La caractérisation des tanins a été faite par la réaction au chlorure ferrique. La différenciation entre les deux groupes des tanins a été montrée grâce à la réaction de Stiasny.
- La recherche des alcaloïdes a été faite à l'aide des réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes. Deux réactifs voire trois ont été utilisés à savoir le réactif de Dragendorff, le réactif de Mayer et le réactif de Wagner.
- La recherche des saponosides est basée sur la propriété qu'ont les solutions aqueuses contenant des saponosides de mousser après agitation.
- La recherche des stérols et des terpènes s'est faite grâce à la réaction de Liebermann-Buchard.
- Les anthraquinones ont été mises en évidence grâce à la réaction de Borntraëger.
- La détection des composés réducteurs a été faite à l'aide de la liqueur de Fehling.

Les différentes méthodes sont exposées en annexe 1

Les résultats ont été évalués comme suit :

- +++ : Fortement positif ;
- ++ : Moyennement positif ;
- + : Faiblement positif ;
- - : Négatif.

II.2.4. Extraction des huiles essentielles de *Anacyclus pyrethrum*

II.2.4.1 Technique d'extraction : L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est une technique, parmi beaucoup d'autres, permettant d'extraire des huiles essentielles à partir de la plante fraîche ou sèche. C'est pour cette méthode que nous avons opté.

L'hydrodistillation des trois parties (racines, feuilles/tiges, fleurs) de *Anacyclus pyrethrum* a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger, un procédé validé par la pharmacopée européenne. Le montage expérimental est constitué d'un chauffe-ballon muni d'un thermostat et surmonté d'un essencier Clevenger (Figure II.1).



Photo.Selles_Chaouki

Figure II.1 : Montage d'hydrodistillation Clevenger

Dans un ballon de six(6) litres, une quantité du matériel végétal est mise en contact direct avec quatre(4) litres d'eau. Le chauffage est mis en marche en opérant une ébullition douce. Le réfrigérant est mis en fonction en réglant le débit d'eau.

La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau aromatique par décantation. La récupération de cette huile (pour l'analyse chromatographique) est effectuée du haut de l'essencier, à l'aide d'une pipette pasteur en introduisant de l'éther diéthylique surtout quand le rendement est faible.

Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant (sulfate de magnésium anhydre). C'est l'opération de séchage. On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau. L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée au congélateur jusqu'à analyse. Les rendements en huiles essentielles ont été calculés par rapport au matériel végétal sec.

II.2.4.2 Paramètres d'études

Les paramètres répertoriés qui influent sur le rendement de l'extraction de l'huile essentielle sont : le temps, la température, le débit de condensation, le facteur de division de la matière végétale, le rapport de matière végétale/masse d'eau, la perte en eau par la matière végétale [122].

L'optimisation du procédé d'extraction qui, en principe, est assez complexe peut être simplifiée en choisissant judicieusement les facteurs à étudier. Prendre en considération toutes ces variables, nécessiterait un nombre très élevé d'expériences.

Dans notre étude, seules deux variables ont été retenues à savoir la quantité de la matière végétale et la durée d'extraction. Les autres paramètres seront maintenus constants.

II.2.4.2.1 Temps d'extraction :

Dans des conditions presque identiques d'extraction, la quantité d'huile essentielle extraite et par conséquent le rendement d'extraction ont été déterminés à partir de la deuxième heure d'hydrodistillation, toutes les demi-heures, pendant : six heures pour la racine (R), cinq heures pour les feuilles/tiges (LS) et quatre heures pour les fleurs (F).

II.2.4.2.2 Quantité de la matière végétale :

Une fois la durée d'extraction optimale retenue, nous avons étudié l'effet sur le rendement d'extraction, du rapport : matière végétale/masse d'eau. En effet, pour une masse d'eau constante équivalente à quatre litres, nous avons travaillé avec des échantillons de matière végétale dont les masses varient de :

- 300 à 700 g pour les racines,
- 150 à 275 g pour les feuilles/tiges,
- 200 à 375 g pour les fleurs.

II.2.5. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles de *Anacyclus pyrethrum*

Les progrès des méthodes analytiques permettent d'identifier rapidement un très grand nombre de constituants présents dans une huile essentielle. Les techniques chromatographiques sont les méthodes de référence dans l'analyse de ces huiles essentielles. Parfois, d'autres techniques spectroscopiques s'avèrent complémentaires.

II.2.5.1 Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) :

➤ Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur et de deux colonnes :

- Une colonne polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol 60 m x 0.25 mm de diamètre interne, épaisseur du film : 0.25 μm)

- Une colonne apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane).

➤ Le gaz vecteur est l'hélium ($1 \text{ ml} \cdot \text{mn}^{-1}$) avec une pression en tête de colonne de 25 psi.

➤ La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C .

➤ La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C , à $2^\circ\text{C} \cdot \text{mn}^{-1}$, puis en un palier de 45 mn à 230°C .

➤ L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de $1/50$.

➤ La quantité d'huile essentielle injectée est de 0.1 à $0.2 \mu\text{l}$ selon qu'elle soit pure ou diluée dans un solvant.

➤ Pour chacun des composés, les indices de rétention (Ir) polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane allant de C_5 à C_{30} en programmation de température.

II.2.5.2 Couplage CPG/Spectrométrie de Masse (CPG/SM) :

- Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes :
 - Une colonne polaire (Rtx-Wax 60 m x 0.25 mm de diamètre interne, épaisseur du film : 0.25 μ m)
 - Une colonne apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse quadripolaire Perkin Elmer TurboMass opérant dans les conditions chromatographiques décrites ci-dessus.
- L'acquisition des données chromatographiques est réalisée en mode SCAN : gamme de masse 35-350 uma avec un pas de 1 s entre les scans.
- Les spectres de masse ont été enregistrés sous impact électronique (IE) à 70 eV.

II.2.6. Activité anti diabétique de l'extrait aqueux des racines de *Anacyclus pyrethrum* L

Au cours de ces dernières années, l'étude scientifique de toutes les plantes utilisées comme anti diabétique a suscité un grand intérêt. Les motifs principaux qui sont à l'origine de cet intérêt croissant restent d'une part, un intérêt scientifique fondamental cherchant à confirmer l'utilisation traditionnelle de la plante et d'autre part, à cause de la pauvreté des structures chimiques ayant une action antidiabétique. Les plantes médicinales ou leurs extraits semblent intéressants dans le cas d'un diabète de type 2, surtout pour les pays en voie de développement qui pourraient utiliser leurs propres ressources naturelles.

II.2.6.1. Cadre d'étude

Cette étude a été réalisée au laboratoire de biologie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mascara (Algérie).

II.2.6.2. Matériel animal

Les animaux d'expérience sont des rats males de variété Wistar (Institut Pasteur, Alger) âgés de 12 à 13 semaines et pesant environ entre 200 et 300 g.

Les rats sont placés aléatoirement en groupes de quatre (04) dans des cages standards pour une période d'acclimatation de 02 semaines avant d'être soumis aux différentes procédures expérimentales. Pendant cette période, les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture (régime alimentaire de bétail fourni par l'office national de l'aliment de bétail (ONAB)) et sont maintenus dans une animalerie à température constante (22 ± 2) °C et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h. Les différentes expériences ont toujours lieu le matin.

II.2.6.3. Matériel végétal et préparation de l'extrait aqueux

Les racines de *Anacyclus pyrethrum* ont été récoltées durant le mois d'Avril 2009 dans les monts de Tlemcen. Contrairement à la partie aérienne de la plante, les racines sont lavées rapidement à l'eau de robinet puis rincées à l'eau distillée. Le séchage s'est fait comme a été décrit précédemment.

L'extrait aqueux de *Anacyclus pyrethrum* est obtenu à partir de 100 g de racines séchées et coupées en petits morceaux que nous chauffons sous reflux dans de l'eau distillée pendant une heure. Ensuite et après décantation, la solution est filtrée sur du papier filtre. Le filtrat est centrifugé pendant 30 minutes à 5000 tours par minute. Le surnageant a été filtré pour éliminer d'éventuels résidus. Le filtrat a été séché à l'étuve à 40°C jusqu'à obtention d'une poudre brune claire avec un rendement de 2.3%.

Le résidu solide a été stocké dans un dessiccateur pour des expériences ultérieures.

II.2.6.4. Méthode pharmacologique

II.2.6.4.1. Induction du diabète

La méthode la plus commune est de provoquer, au moyen de médicaments une destruction des cellules bêta pancréatiques. Les substances les plus employées comme diabétogènes sont l'alloxane et la streptozotocine.

Dans notre expérience, le diabète sucré est induit chez les rats par injection intraveineuse de la streptozotocine "STZ" (S-0130 Sigma) à raison de 50 mg/kg à travers la veine de la queue [123]. La STZ est préparée dans un tampon citrate 100 mM de pH 4.5 à une concentration de 50 mg/mL [124]. La solution ainsi préparée doit être administrée aux rats rapidement car la STZ en solution se dégrade assez vite.

Avant l'injection de la STZ, les rats sont maintenus à jeun pendant une nuit puis anesthésiés avec l'hydrate de chloral (trichloracétaldéhyde monohydrate) administré par voie intra péritonéale à une dose de 400 mg/kg [125].

II.2.6.4.2. Prélèvement du sang

Le sang a été prélevé au niveau du sinus rétro-orbital au niveau de l'œil de l'animal à l'aide d'une pipette pasteur préalablement trempée dans une solution d'anti coagulant (EDTA à 0.1 %). Après prélèvement, l'œil est nettoyé à l'eau physiologique [126]. Le sang est mis dans

des tubes contenant un anticoagulant. Les tubes ont été centrifugés à la vitesse de 4000 tours/min pendant 10 minutes à 10°C.

II.2.6.4.3. Recherche de la toxicité aigue

La recherche d'une éventuelle toxicité de l'extrait aqueux de *Anacyclus Pырerthrum* est nécessaire. Pour ce faire, l'extrait aqueux des racines de la plante aux doses croissantes de (100, 250, 500 et 1000 mg/kg de poids corporel) dans une solution physiologique de Na Cl à 9 g/L est administré par voie orale aux différents groupes de rats et la solution physiologique à un groupe servant de contrôle [127,128].

Les rats sont placés sous observation continue pendant au moins deux (02) semaines. Le changement de comportement et la mortalité sont les symptômes de toxicité, après l'administration de la préparation [128].

II.2.6.5. Procédures expérimentales

II.2.6.5.1. Dosage du glucose

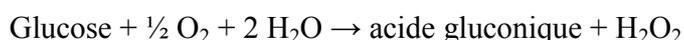
Le paramètre le plus caractéristique et le plus simple pour évaluer l'activité hypoglycémiant est la détermination du glucose dans le sang et les variations que celle-ci connaît dans le temps, après l'administration de la préparation étudiée. C'est une méthodologie simple et facile à réaliser. Le dosage du glucose dans le plasma a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique dite à la glucose oxydase. Un Kit- **Spinreact** a été utilisé.

Le kit renferme deux réactifs (1) et (2) et un étalon (s) qui sont prêts à l'emploi

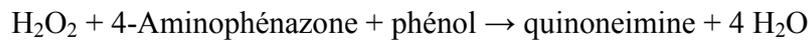
Tableau II.1 : composition du Kit- **Spinreact**

Réactif 1	Tampon phosphate ; pH 7.4	92 mmol/L
	Phénol	0.3 mmol/L
Réactif 2	Glucose Oxydase	15000 U/L
	Peroxydase	1000U/L
	4-Aminophénazone	2.6 mmol /L
• Standard (s)	Glucose pure	100 mg/dL

En milieu aqueux et en présence d'oxygène, la glucose oxydase (G.O.D) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) selon la réaction :



En présence d'une peroxydase (P.O.D), le peroxyde d'hydrogène est décomposé et oxyde un chromogène la 4-Aminophénazone qui est incolore à l'état réduit.



La quinoneimine formée est colorée en rose et dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en glucose. L'absorbance est mesurée à 505 nm.

- **Mode opératoire**

La solution de travail est le résultat du mélange des deux réactifs (1) et (2).

Tableau II.1 : proportions prélevées dans le dosage du glucose.

	Blanc	Étalon	Échantillon
Standard (étalon)	-	10 µL	-
Echantillon	-	-	10 µL
Solution de travail	1mL	1mL	1mL

Les tubes sont incubés à température ambiante pendant 30mn.

- **Lecture et calcul de la glycémie**

La densité optique (DO) de chaque échantillon et celle du standard sont obtenues par lecture sur un spectrophotomètre UV-VIS (SHIMADZU), en calibrant avec le blanc à 505 nm.

$$\text{Glucose (g/L)} = (\text{DO éch./DO etalon}) \times n \quad (n=1\text{g/L}) \quad \text{II.1}$$

Souvent, pour ne pas perturber la physiologie de l'animal en prélevant une grande quantité du sang, la glycémie a été mesurée directement par des bandelettes Accu Chek active au moyen d'un glucomètre Accu Chek active.

II.2.6.5.2. Dosage des protéines

Le dosage des protéines se fait par la méthode du Biuret selon Henry, (1974) [129].

En solution alcaline les protéines forment avec les ions cuivriques un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 540 nm. La détermination des différentes concentrations se fait à l'aide d'une droite d'étalonnage de la sérumalbumine humaine.

Pour notre cas : un kit prêt qui contient la protéine sérumalbumine humaine à une concentration de 7 g/dL a été utilisé.

$$\text{Protéine (g/L)} = (\text{DO éch./DO etalon}) \times n \quad (n=7\text{g/dL}) \quad \text{II.2}$$

II.2.6.6. Chronologie des tests pharmacologiques

Des rats diabétiques et des rats normaux ont été mis à un jeun pendant seize (16) heures. Le poids des rats a été déterminé le jour même de l'expérience, avant l'administration de l'extrait à tester. L'extrait est dissous dans une solution de sérum physiologique (NaCl à 9 g/L) puis administré quotidiennement aux rats par voie orale (250 mg/ kg).

Quatre (04) groupes de rats (04 rats par groupe) ont été constitués.

Groupe 1 : Rats normaux témoins : sérum physiologique à 9g/L

Groupe 2 : Rats normaux traités avec l'extrait aqueux à 250mg/Kg.

Groupe 3 : Rats diabétiques témoins : sérum physiologique à 9g/L

Groupe 4 : Rats diabétiques traités avec l'extrait aqueux à 250mg/Kg.

Un prélèvement sanguin est effectué chez tous les rats avant administration des différents produits (prélèvement basal t_0). Après administration des produits, on fait un prélèvement sanguin tous les 7 jours pendant 3 semaines et on effectue le dosage de certains paramètres biochimiques (glycémie, protéines).

En outre, pour le suivi de la variation du poids des rats, les pesées se font aux temps : 0, 7, 14 et 21 jours.

A la fin de l'expérimentation, un test de tolérance au glucose a été réalisé.

II.2.6.6.1 Test de tolérance orale au glucose (TTOG) :

La tolérance au glucose est la capacité du corps à métaboliser le glucose.

Le premier objectif du test de tolérance orale au glucose est de vérifier la sensibilité des cellules à l'insuline endogène. De plus, il a été rapporté qu'une hyperglycémie provoquée par voie orale stimule mieux la libération d'insuline que celle induite par voie intraveineuse [130]

Ce test a été réalisé sur tous les rats répartis en quatre groupes. Les rats diabétiques et normaux ont été mis à un jeun pendant seize (16) heure. Un prélèvement est effectué avant gavage d'une solution de glucose à la dose de 3g/kg.

L'évolution de la glycémie était suivie pendant deux heures.

II.2.6.7. Evaluation statistique

L'étude statistique de comparaison entre les quatre lots est réalisée par le test de Student.

Ce test nous donne le degré de signification p où :

- la différence n'est pas significative ns $p > 0,05$
- la différence est significative* $0,05 > p > 0,01$
- la différence est hautement significative** $0,05 > p > 0,001$
- la différence est très hautement significative*** $p < 0,001$

Le calcul statistique est réalisé par Statview 4.5 statistical package.

Les résultats sont représentés sous la formule : Moyenne \pm Erreur standard

II.2.7. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Anacyclus pyrethrum*

II.2.7.1. Introduction

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales comme certaines épices, sont connues depuis longtemps. Ces propriétés antimicrobiennes sont surtout dues aux huiles essentielles contenues dans ces plantes. Ces effets antimicrobiens sont mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont douées d'activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire.

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens.

Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

II.2.7.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne *in vitro* d'un extrait de plante, en particulier l'huile essentielle, peut être effectuée par une diversité de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide.

Le choix de la technique utilisée est primordial car elle a une grande influence sur les résultats. En effet, des difficultés pratiques s'imposent du fait de l'insolubilité dans l'eau des huiles essentielles, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations.

II.2.7.2.1 Technique de la diffusion en disque (méthode en milieu solide)

La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai.

Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible.

La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée.

Généralement, cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose.

II.2.7.2.2 Technique de la dilution (méthode en milieu liquide)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L). Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate.

a) La dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide.

La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.

b) La dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

www.oxpof.com

II.3 Résultats et discussions

II.3.1. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique effectué sur *Anacyclus pyrethrum* a permis d'obtenir les résultats suivants reportés sur le Tableau II.2

- **Tanins**

D'après la coloration obtenue avec FeCl_3 , les différentes parties de cette espèce contiendraient des tanins galliques, alors que les tanins catéchiques seraient absents.

- **Composés réducteurs**

Pour la recherche des composés réducteurs, les réactions ont été positives (obtention d'un précipité rouge brique) avec les trois parties de la plante.

- **Alcaloïdes**

Ils sont présents dans les trois parties de la plante mais en faible quantité.

- **Flavonoïdes**

Si les flavonoïdes ne sont pas détectés dans les racines, les feuilles/tiges et les fleurs contiendraient respectivement et principalement des flavanols et flavanonols (coloration rouge) et des flavones (coloration rose orangée).

- **Stérols et terpènes**

Les feuilles/tiges possèdent une teneur plus importante par rapport aux fleurs et les racines. Une coloration violette apparaît et qui devient verte.

- **Saponosides**

Leur teneur dans les racines et les feuilles/tiges paraît légèrement supérieur à celle des fleurs. En effet, la hauteur de la mousse était de 1.4 cm pour les racines, 1.1 cm pour les feuilles/tiges et de 1 cm pour les fleurs.

- **Anthraquinones**

L'extrait de la plante est dépourvu de ce type de métabolites.

- **Acides aminés**

Ils sont présents dans les trois parties de la plante en quantité moyenne.

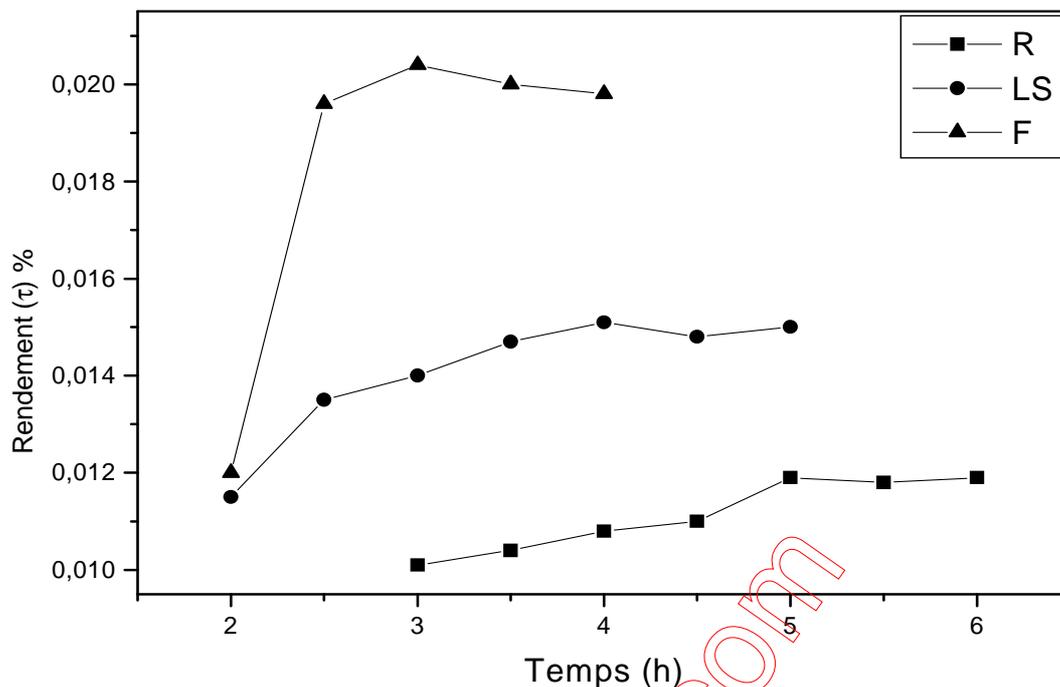
Les tests phytochimiques dont la précision reste quand même limitée, ne nous renseignent pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Néanmoins, ils permettent de détecter la présence ou l'absence de telle ou telle famille chimique.

D'après les résultats présentés dans le Tableau II.3, la quantité d'huile essentielle et par conséquent le rendement ont été déterminés à partir de la deuxième heure d'extraction pour la partie aérienne et de la troisième heure pour la racine. C'est à partir de ces temps là, que la quasi totalité des huiles essentielles a été extraite (85% pour les racines, 76% pour les feuilles/tiges et 59% pour les fleurs).

Le rendement d'extraction déterminé toutes les trente minutes atteint un maximum après cinq heures d'hydrodistillation pour les racines, quatre heures pour les feuilles/tiges et trois heures pour les fleurs.

Tableau II.3 : Rendements d'extraction des huiles essentielles des différentes parties de la plante en fonction du temps d'extraction

t (h)		2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6
→										
τ (%)	R	/	/	0.0101	0.0104	0.0108	0.0110	0.0119	0.0118	0.0119
	LS	0.0115	0.0135	0.0140	0.0147	0.0151	0.0148	0.0150	/	/
	F	0.0120	0.0196	0.0204	0.0200	0.0198	/	/	/	/



Fi

Figure II.1 : Evolution du rendement d'extraction de l'huile essentielle de chacune des trois parties de *Anacyclus pyrethrum* L. en fonction du temps.

II.3.2.2.2. Quantité de la matière végétale :

L'évolution du taux d'extraction de l'huile essentielle de chaque partie de la plante en fonction de la quantité de la matière végétale introduite dans le ballon est représentée sur les courbes des Figures II.2a, II.2b correspondant respectivement aux parties R et (LS, F).

Il paraît donc du Tableau II.4, qu'un remplissage excessif du ballon n'améliore en rien le rendement d'extraction et provoque même une diminution de la quantité de l'huile obtenue. En effet, une surcharge du ballon et un tassement trop fort risquent de provoquer un "colmatage" de la masse végétale ce qui ralentit l'hydrodistillation et forcent les vapeurs à se créer des chemins préférentiels.

La capacité de charge du ballon dépend de la partie de la plante où les masses du végétal correspondantes aux valeurs optimales du rendement ont été comme suit :

600 g pour les racines, entre 200 et 225 g pour les feuilles/tiges et 300 g pour les fleurs.

Tableau II.4 : Rendements d'extraction des huiles essentielles des différentes parties de la plante en fonction de la quantité du matériel végétal.

R						
m (g)	300	400	500	600	650	700
τ (%)	0.0107	0.0116	0.0118	0.0119	0.0117	0.0116
LS						
m (g)	150	175	200	225	250	275
τ (%)	0.0105	0.0148	0.0151	0.0151	0.0148	0.0141
F						/
m (g)	200	250	300	350	375	
τ (%)	0.0112	0.0198	0.0204	0.0202	0.0198	/

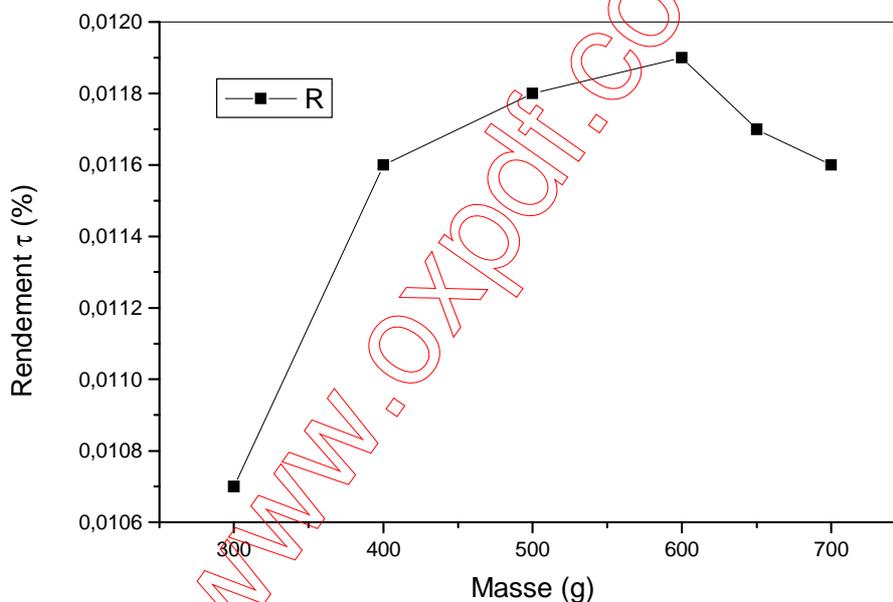


Figure II.2a : Evolution du rendement d'extraction de l'huile essentielle des racines (R) en fonction de la masse du végétal.

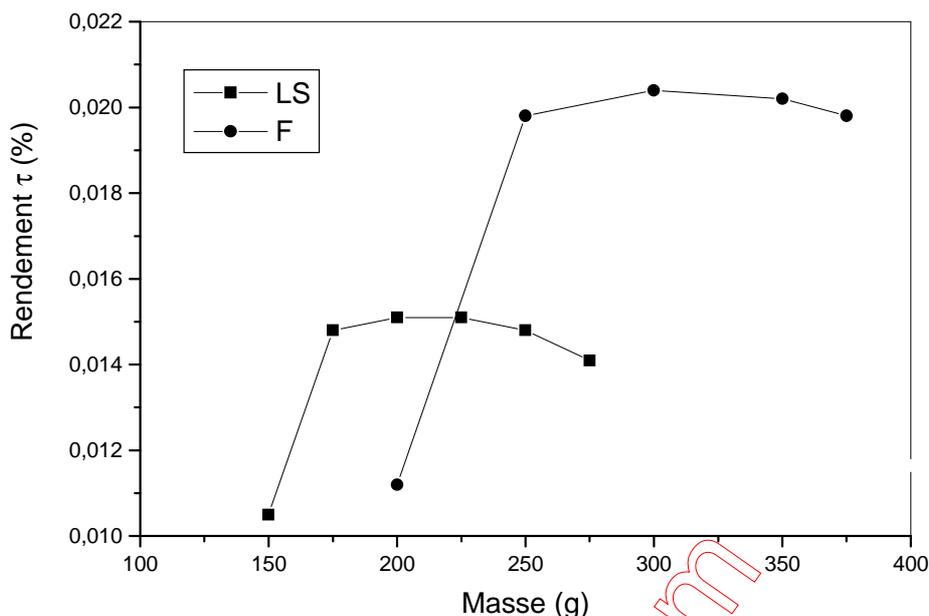


Figure II.2b : Evolution du rendement d'extraction de l'huile essentielle des feuilles/tiges (LS) et des fleurs (F) en fonction de la masse du végétal.

II.3.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles/tiges (LS) de *Anacyclus pyrethrum*

Dans un premier temps, seules les huiles essentielles des feuilles/tiges de *Anacyclus pyrethrum* des deux stations St1 (Aïn fezza) et St2 (Beni Snouss) récoltées respectivement à la mi- Mars et la fin-Avril, ont été analysées.

Les résultats obtenus par analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) sont consignés dans le Tableau II.5 et illustrés par les chromatogrammes (Annexe 2).

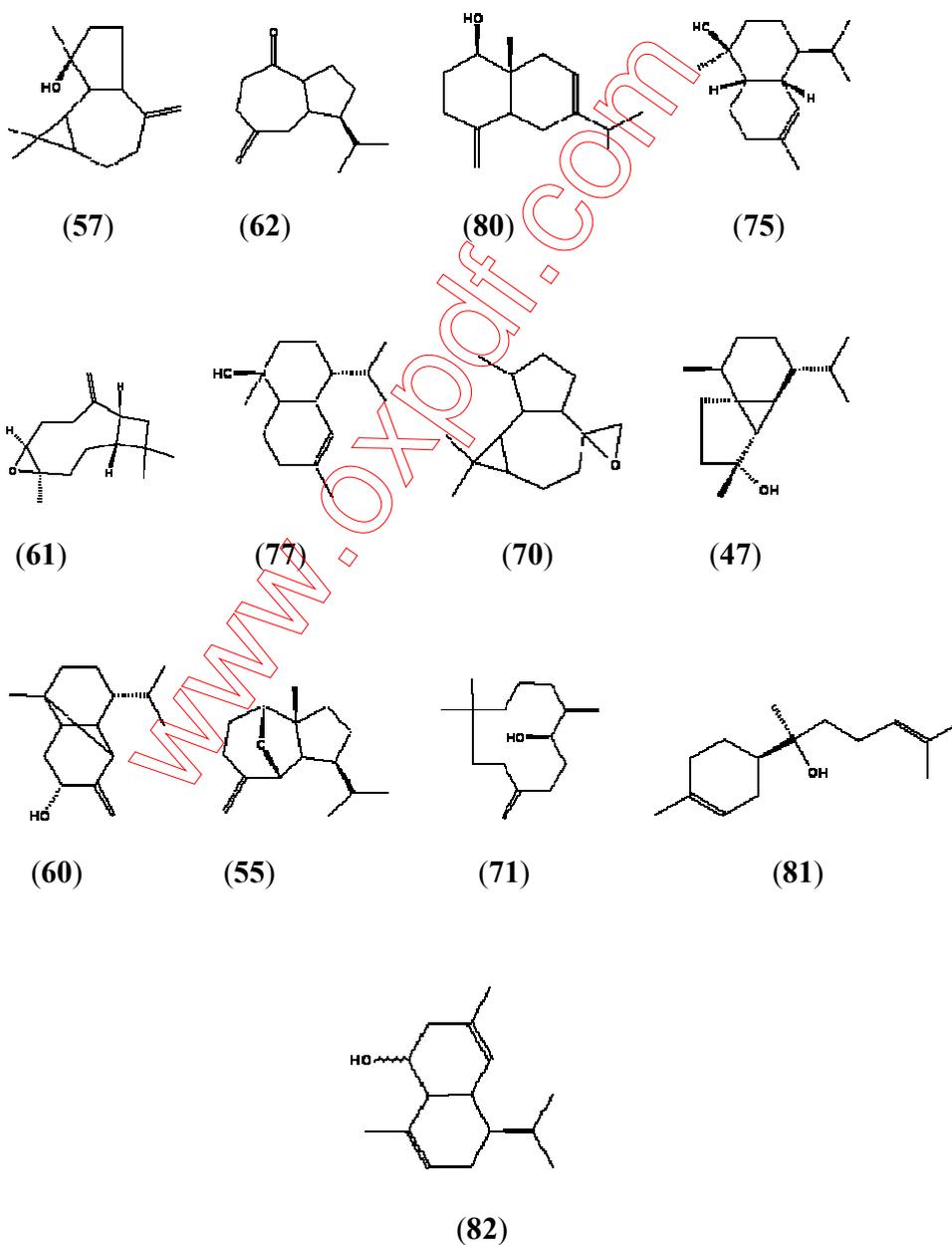
Les composés majoritaires sont indiqués en gras. L'analyse des chromatogrammes et des spectres de masses a permis d'identifier et de caractériser 87 composés représentant 68.6% des constituants totaux de l'huile essentielle de la station St1 et 77.4% de ceux de la station St2. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages relatifs sont présentés dans le Tableau II.5.

Les constituants identifiés sont formés de 7 composés non-terpéniques, 16 monoterpènes, 4 arylpropanoïdes, 58 sesquiterpènes et deux diterpènes.

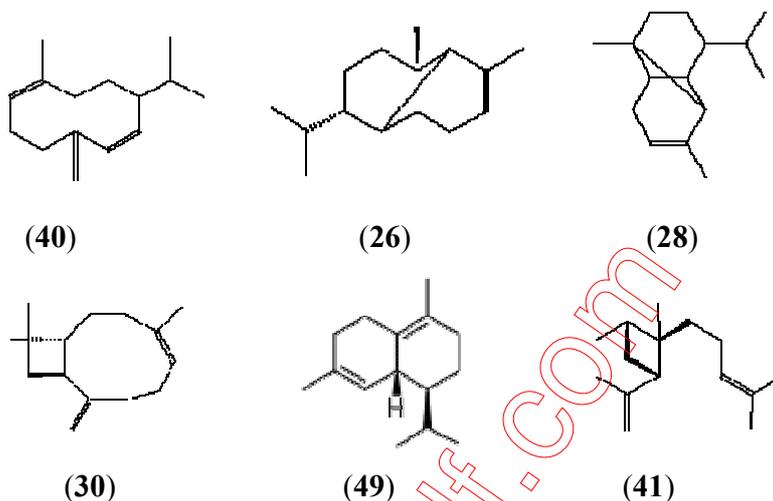
L'identification de 80 composés a été effectuée en comparant leur EI-MS et les indices de rétention avec ceux de la bibliothèque du laboratoire-produit "Arômes". Toutefois, 07 composés

ont été identifiés en comparant leur EI-MS et les indices de rétention apolaires avec ceux rapportés dans les bibliothèques commerciales.

L'huile essentielle de *Anacyclus pyrethrum* est proportionnellement constituée de sesquiterpènes oxygénés (37.1-37.5%). Les principaux composés sont le spathuléol (4.2-4.7%) (57), 4(14)-salviale-1-one (2.8-4.0%) (62), eudesm-4(15),7-dien-1 β -ol (2.9-6.0%) (80), t-cadinol (1.7-2.9%) (75), aromadendrene-époxyde-2 (2.0-2.7%) (70), caryophyllene oxyde (2.5-2.6%) (61), β -copaèn-4 α -ol (1.0-1.4%) (60), α -cadinol (0.1-2.0%) (77), caryophyllene-4(14),8(15)-dien-5 α -ol (1.0-2.2%) (71), cubebol (0.7-1.9%) (47), bisabolol (0.3-2.7%) (81), amorpho-4,9-dien-2-ol (1.0-2.9%) (82) et le 1,5-epoxysalvial-4-(14)-one (tr-1.0%) (55).



La seconde classe de cette huile est constituée de sesquiterpènes hydrocarbonés (25.2-28.5%) qui sont dominés principalement par le germacrène D (5.1-13.4%) (**40**), α -ylangène (1.1-3.1%) (**26**), α -copaène (1.3-1.8%) (**28**), trans-caryophyllène (3.0-3.3%) (**30**), δ -cadinène (2.1-5.3%) (**49**) et le trans- β -bergamotène (0.4-3.1%) (**41**).



Cependant, les monoterpènes oxygénés et les monoterpènes hydrocarbonés sont présents respectivement en faible quantité (0.7-4.9% et 1.3%). Les diterpènes oxygénés (1.2-3%) sont représentés uniquement par deux composés la phytone (0.2-0.8%) (**85**) et le E-phytol (1.0-2.2%) (**87**).

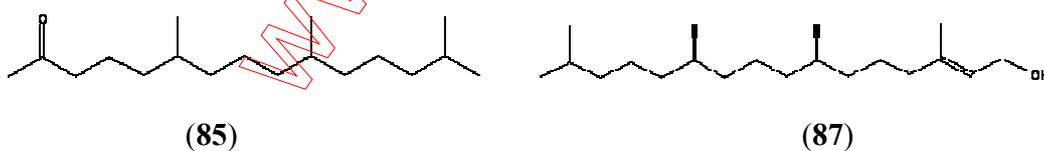


Tableau II.5 : Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles/tiges de *Anacyclus pyrethrum*

N°	Composés ^a	IRIa ^b	Ria ^c	Rip ^d	St1	St2	Identification ^e
1	Hexanal	770	775	1047	0.1	tr	RI, MS
2	trans-2-Hexanal	830	825	1213	0.2	tr	RI, MS
3	α -Pinene	931	930	1022	0.1	0.1	RI, MS
4	Camphene	943	943	1066	0.1	0.1	RI, MS
5	β -Pinene	970	970	1087	0.1	tr	RI, MS
6	Myrcene	979	981	1159	0.1	0.1	RI, MS
7	α Phélanthrene	997	998	1164	tr	0.1	RI, MS
8	p-Cymène	1011	1012	1268	tr	0.1	RI, MS
9	Limonène	1020	1021	1199	0.9	0.8	RI, MS
10	Nonanol	1083	1083	1394	0.2	0.2	RI, MS
11	Linalol	1081	1085	1544	0.1	0.1	RI, MS
12	Carveol dihydro	1178	1173	1723	tr	tr	RI, MS
13	α -Terpineol	1179	1173	1691	tr	0.1	RI, MS
14	Estragole	1176	1175	1670	0.1	0.1	RI, MS
15	Décanal	1185	1185	1498	0.1	0.1	RI, MS
16	β -Cyclocitral	1195	1194	1611	0.1	0.2	RI, MS, Ref 1
17	Hexyl-2-methyl butyrate	1226	1219	1414	0.3	tr	RI, MS
18	E-Anéthole	1264	1261	1786	tr	0.3	RI, MS
19	Bornylacétate	1269	1269	1545	tr	0.4	RI, MS
20	Thymol	1266	1271	2166	0.2	0.3	RI, MS
21	Carvacrol	1278	1280	2219	tr	0.2	RI, MS
22	α -Terpénylacétate	1334	1335	1648	tr	2.5	RI, MS
23	Nérylacétate	1342	1344	1725	0.1	0.3	RI, MS
24	α -Cubébène	1350	1347	1452	0.3	0.8	RI, MS
25	Géranylacétate	1361	1361	1752	0.1	0.4	RI, MS
26	α -Ylangène	1375	1374	1476	1.1	3.1	RI, MS
27	β -Bourbonene	1385	1381	1515	tr	0.1	RI, MS
28	α -Copaène	1379	1385	1488	1.3	1.8	RI, MS
29	δ -Neoclovene	1405	1402	1497	0.1	tr	RI, MS
30	trans-Caryophyllene	1425	1415	1574	3.3	3.0	RI, MS
31	β -Ylangène	1420	1424	1562	0.1	0.4	RI, MS
32	Géranylacétone	1428	1429	1851	tr	0.1	RI, MS

33	β -Copaène	1431	1443	1581	0.1	0.5	RI, MS
34	Fernesene-E-beta	1448	1447	1620	0.5	0.6	RI, MS
35	β -Humulène	1458	1453	1670	tr	0.2	RI, MS
36	Aromadendrène	1462	1455	1638	tr	0.1	RI, MS
37	β -Ionone	1466	1466	1936	0.1	0.7	RI, MS
38	γ -Murolène	1471	1471	1681	tr	0.1	RI, MS
39	Gamma-Humulene	1476	1474	1685	0.4	0.5	RI, MS
40	Germacrène D	1480	1474	1704	13.4	5.1	RI, MS
41	trans- β -Bergamotène	1480	1476	1717	0.4	3.1	RI, MS
42	4-épi-Cubébol	1487	1486	1870	0.3	0.7	RI, MS
43	Bicyclo germacrène	1494	1489	1727	0.8	0.5	RI, MS
44	α -Murolene	1496	1491	1692	0.5	0.8	RI, MS
45	b-Bisabolene	1500	1503	1685	0.2	0.3	RI, MS
46	γ -Cadinène	1507	1506	1752	tr	0.4	RI, MS
47	Cubebol	1509	1506	1905	1.9	0.7	RI, MS
48	cis-Calaménène	1512	1508	1816	0.4	0.5	RI, MS
49	δ -Cadinene	1515	1513	1718	2.1	5.3	RI, MS
50	α -Calarene	1531	1526	1872	0.1	0.2	RI, MS
51	E- α -Bisabolène	1532	1535	1753	0.2	1.1	RI, MS
52	Caryophyllene-beta-oxyde	1546	1538	2337	0.3	0.1	RI, MS, Ref, 1
53	cis-3-Hexenylbenzoate	1554	1549	2088	0.1	0.1	RI, MS
54	Nerolidol-E	1546	1546	2037	0.1	0.3	RI, MS
55	1,5-Epoxyalsalvia-4-(14)-one	1560	1553	1910	tr	1.0	RI, MS
56	Acide dodécanoïque	1567	1554	2466	1.0	0.3	RI, MS, Ref, 2
57	Spathulénol	1557	1564	2083	4.7	4.2	RI, MS
58	Hydrate de cis Sesquisabinene	1565	1564	2043	0.2	0.2	RI, MS
59	Isovalerate de neeryle	1568	1564	1853	0.7	1.0	RI, MS
60	β -Copaèn-4 α -ol	1575	1574	2141	1.4	1.0	RI, MS
61	Caryophyllene oxyde	1576	1574	1980	2.6	2.5	RI, MS
62	4(14)-Salviale-1-one	1578	1577	1967	2.8	4.0	RI, MS
63	Hydrate de 7-epi-cis sesquisabinene	1579	1577	2078	0.3	0.5	RI, MS
64	Globulol	1580	1580	2074	0.3	0.3	RI, MS
65	Germacradiene-11-ol	1583	1587	2043	0.2	0.4	RI, MS
66	Viridiflorol	1591	1587	2089	0.9	0.6	RI, MS
67	Copabornéol	1592	1590	2159	0.4	0.1	RI, MS

68	Eudesm-4-en-7-ol	1600	1607	2010	0.6	3.1	RI, MS
69	1-10-diepi-cubenol	1608	1609	2016	0.2	0.2	RI, MS
70	Aromadendrene-époxyde-2	1617	1614	1879	2.0	2.7	RI, MS
71	Caryophyllene-4(14),8(15)-dien-5 α -ol	1626	1621	2085	1.0	2.2	RI, MS
72	Cadin-4-en-7-ol	1627	1626	2069	0.8	0.7	RI, MS
73	Cubénoł	1632	1629	1999	0.1	0.8	RI, MS
74	<i>t</i> -muroloł	1634	1633	2129	0.3	0.3	RI, MS
75	<i>t</i> -cadinol	1638	1638	2145	2.9	1.7	RI, MS
76	Vulgarone-beta	1640	1638	2213	0.7	0.2	RI, MS
77	α -Cadinol	1645	1642	2190	2.0	0.1	RI, MS
78	Farnesol-Z-Z	1653	1654	2247	0.3	0.1	RI, MS
79	Nerolidyl acetate-Z	1659	1654	1979	0.2	0.1	RI, MS
80	Eudesm-4(15),7-dien-1 β -ol	1672	1668	2947	2.9	6.0	RI, MS
81	α -Bisabolol	1668	1673	2180	2.7	0.3	RI, MS
82	Amorpha-4,9-dien-2-ol	1733	1739	2309	2.9	1.0	RI, MS, Ref, 1
83	Lepidozenal	1744	1747	2260	0.4	0.4	RI, MS, Ref, 1
84	Acide tétradécanoïque	1750	1752	2673	0.6	0.2	RI, MS
85	Phytone	1835	1829	2111	0.2	0.8	RI, MS, Ref, 2
86	Acide hexadécanoïque	1942	1947	2885	0.4	0.5	RI, MS, Ref, 2
87	E-Phytol	2107	2103	2586	1.0	2.2	RI, MS

Total d'identification %

68.6 **77.4**

Monoterpènes hydrocarbonés	1.3	1.3
Monoterpènes oxygénés	0.7	4.9
Sesquiterpènes hydrocarbonés	25.2	28.5
Sesquiterpenes oxygénés	37.1	37.5
Phénylpropanoïdes	0.3	0.9
Diterpènes oxygénés	1.2	3
Composés Non-terpéniques	2.8	1.3
Composés hydrocarbonés	26.5	29.8
Composés oxygénés	42.1	47.6

a : Ordre d'élution est donnée sur la colonne apolaire (Rtx-1),

b : Indices de rétention de la littérature de la colonne apolaire (IRIa) rapportés par König et coll., 2001,

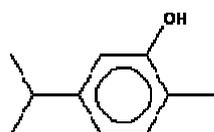
c : Indices de rétention de la colonne apolaire Rtx-1 (RIa),

d : Indices de rétention expérimentale de la colonne polaire Rtx-Wax (RIp),

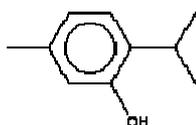
Ref 1 : composés identifiés à partir des données de la littérature König et al, 2001;

Ref 2 : composés identifiés des données du NIST.

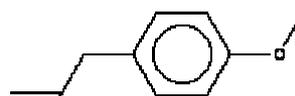
D'autre part, la famille des phénylpropanoïdes (0.3-0.9%) est représentée par quatre (04) composés, le carvacrol (tr-0.2%) (21), le thymol (0.2-0.3%) (20), l'estragol (0.1%) (14) et le cis-3-hexenylbenzoate (0.1%) (53).



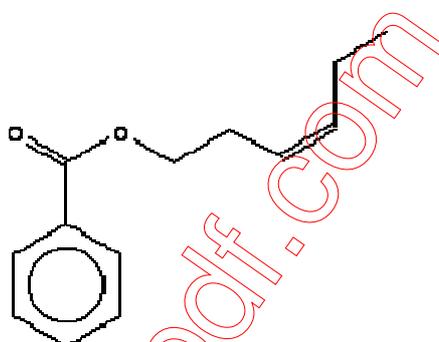
(21)



(20)



(14)



(53)

Par ailleurs, en comparant les compositions chimiques des huiles essentielles de la plante provenant des deux stations, une grande ressemblance a été trouvée et qu'aucune variation substantielle n'est à signaler.

Le faible écart de concentrations qui existe entre les deux huiles essentielles est du certainement aux conditions climatiques, à la situation géographique ainsi qu'à la période de récolte.

Contrairement à la plupart des huiles essentielles, celle de *Anacyclus pyrethrum* comporte plusieurs composés majoritaires dont la plupart sont des sesquiterpènes ; une caractéristique de la famille des astéracées.

La nature de ces composés majoritaires confirme bien les utilisations de cette plante. En effet, le cubebol est considéré comme sans danger et ne possède pas d'odeur et de saveur. C'est un agent rafraîchissant plus tardif que le menthol et ses dérivés ce qui le rend particulièrement intéressant pour les applications alimentaires.

Le Caryophyllene est remarquable pour avoir un anneau cyclobutane, une rareté dans la nature. Il est en mesure de moduler les processus inflammatoires chez l'homme et à exercer un effet anti-inflammatoire chez la souris [131].

Les Germacrenes végétales qui ont des propriétés insecticides sont connues pour leurs activités antimicrobiennes [132].

II.3.3. Activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la racine de *Anacyclus pyrethrum*

II.3.3.1 Recherche de la toxicité aiguë

Quatre doses de l'extrait aqueux (100, 250, 500 et 1000 mg/kg) ont été administrées par voie orale aux différents groupes de rats. D'après les constatations faites, aucun changement de comportement et aucune toxicité provoquant une mortalité des rats n'ont été signalés même pour les concentrations élevées.

La dose de 250 mg/kg a été retenue pour la suite de l'expérimentation.

II.3.3.2 Dosage du glucose

L'administration quotidienne durant les trois semaines, d'un extrait aqueux de la racine de *Anacyclus pyrethrum* à la dose de 250 mg/kg aux différents groupes de rats entraîne des variations de la glycémie dont les valeurs moyennes sont données dans le Tableau II.6. La figure II.3 illustre clairement ces variations durant la période du traitement.

Les pourcentages de variation de la glycémie sont calculés en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ Variation de glycémie} = (G_t - G_0) \cdot 100 / G_0 \quad \text{II.3}$$

dans laquelle G_0 est la glycémie initiale, G_t est la glycémie au bout du temps t après administration de la préparation.

Cette valeur peut être positive s'il se produit une hyperglycémie ou négative en situation d'hypoglycémie.

L'administration quotidienne de l'extrait aqueux aux rats diabétiques induit une baisse significative de la glycémie au bout de sept jours.

En effet, chez les rats diabétiques traités, on note une diminution de la glycémie de l'ordre de 45% dès la première semaine pour atteindre les 62% à la fin du traitement.

Par contre, pour les rats normaux traités, aucun changement significatif de la glycémie n'a eu lieu. Celle-ci reste dans les limites normales.

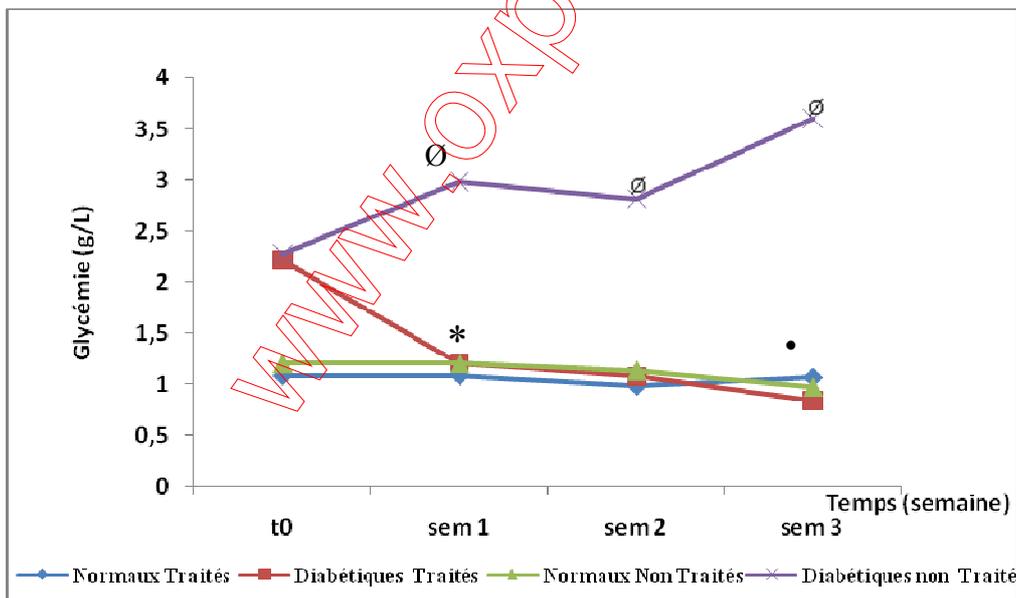
Ce résultat suggère que les composés responsables de l'activité antidiabétique de la racine et qui sont extractibles dans l'eau, seraient des substances à groupements polaires.

Il a été rapporté que le mécanisme possible de l'extrait aqueux peut être attribué en partie aux activités anti-oxydantes de ses composés phénoliques, principalement des tanins, qui agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline).

Les résultats obtenus confirment ainsi l'utilisation traditionnelle de *Anacyclus pyrethrum* dans le traitement du diabète.

Tableau II.6 : Glycémie (g/L) des rats durant les trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg

Temps (semaine)	0	1	2	3
Normaux témoins	1.20 ± 0.05	1.20 ± 0.05	1.13 ± 0.08	0.97 ± 0.02
Normaux traités	1.08 ± 0.02	1.08 ± 0.01	0.98 ± 0.06	1.06 ± 0.02
Diabétiques témoins	2.27 ± 0.02	2.98 ± 0.03	2.81 ± 0.03	3.61 ± 0.04
Diabétiques traités	2.21 ± 0.02	1.21 ± 0.02	1.08 ± 0.01	0.84 ± 0.02



* : différence significative entre t₀ et sem1 pour diabétiques traités

∅ : différence significative entre t₀ et sem3 pour diabétiques traités

• : différence significative entre diabétiques non traités et diabétiques traités

Figure II.3 : Evolution de la glycémie (g/L) des rats durant les trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg

II.3.3.3 Evolution du poids des rats :

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. En effet, les animaux présentant un amaigrissement lors de l'évolution de la maladie doivent retrouver un poids normal, afin de répondre de façon optimale au traitement administré.

Les résultats relatifs à l'évolution du poids des rats durant les trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg sont donnés dans le tableau II.7 et illustrés dans la figure II.4.

Excepté les rats diabétiques témoins dont le poids diminue avec une glycémie toujours élevée, nous remarquons qu'il n'y a aucune variation notable dans la croissance des rats diabétiques traités et celle des rats normaux dont l'évolution de leurs poids est normale.

En effet, l'extrait aqueux ne provoque aucun trouble de poids chez les rats traités. Selon T. Vetrichelvan et coll. [133], la capacité de l'extrait aqueux de *Aera lanata* de maintenir constant le poids des rats pourrait être due à l'activité anti diabétique dudit extrait montrant une corrélation entre la régulation de la glycémie et la bonne croissance des rats.

Tableau II.7 : Poids (g) des rats durant les trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg

Temps (semaine)	0	1	2	3
Normaux témoins	275.8 ± 7.53	282 ± 8.85	303.8 ± 10.32	300 ± 17.94
Normaux traités	278.5 ± 41.15	286.75 ± 36.47	314.5 ± 44.20	295 ± 31.85
Diabétiques témoins	273 ± 19.38	261.5 ± 27.70	260 ± 22.70	232.5 ± 36.72
Diabétiques traités	278.5 ± 16.09	275 ± 12.79	282 ± 12.88	286.75 ± 13.24

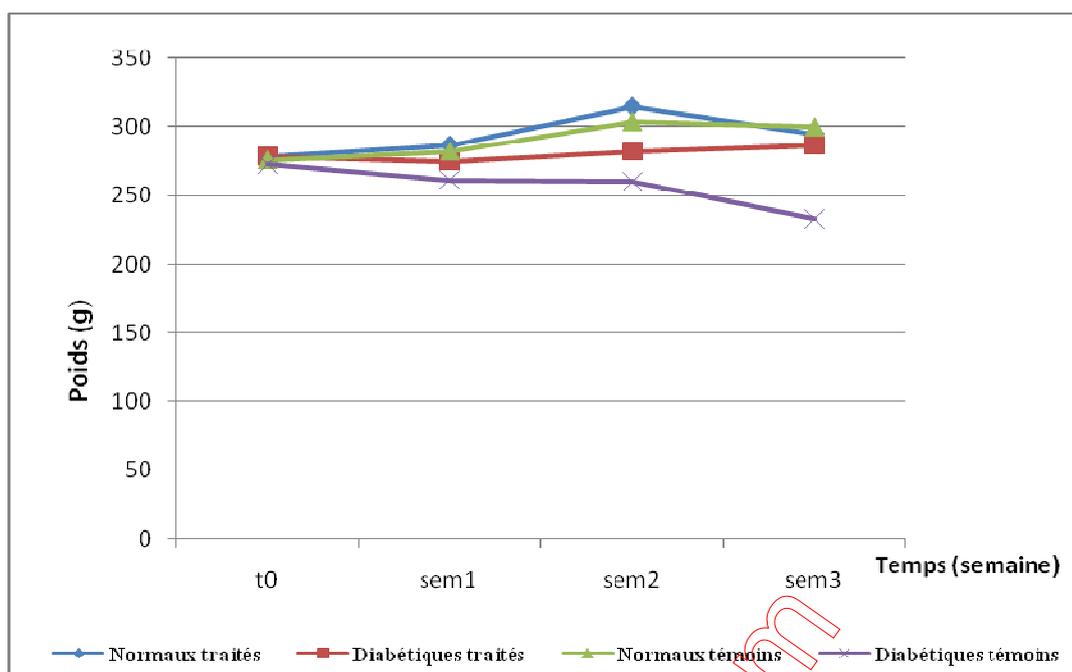


Figure II.4 : Evolution du poids (g) des rats durant les trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg

II.3.3.4 Dosage des protéines :

Il ressort du tableau II.8 que pour les rats traités, le taux de protéines dans le sang reste pratiquement inchangé après trois semaines de traitement. Cependant, la protéinémie diminue de manière conséquente pour les rats témoins pour atteindre des valeurs normales à la fin de la troisième semaine. Ces diminutions respectives de l'ordre de 42% et de 45% pour les rats normaux et les rats diabétiques non traités sont dues à une hyperprotéinémie initiale.

Tableau II.8 : Protéinémie (g/L) des rats après trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg.

Temps (semaine)	0	3
Normaux témoins	104.83 ± 6.16	60.67 ± 2.33
Normaux traités	64.2 ± 4.20	58.1 ± 3.95
Diabétiques témoins	111.08 ± 6.92	61.18 ± 4.87
Diabétiques traités	62.85 ± 1.74	64.80 ± 3.24

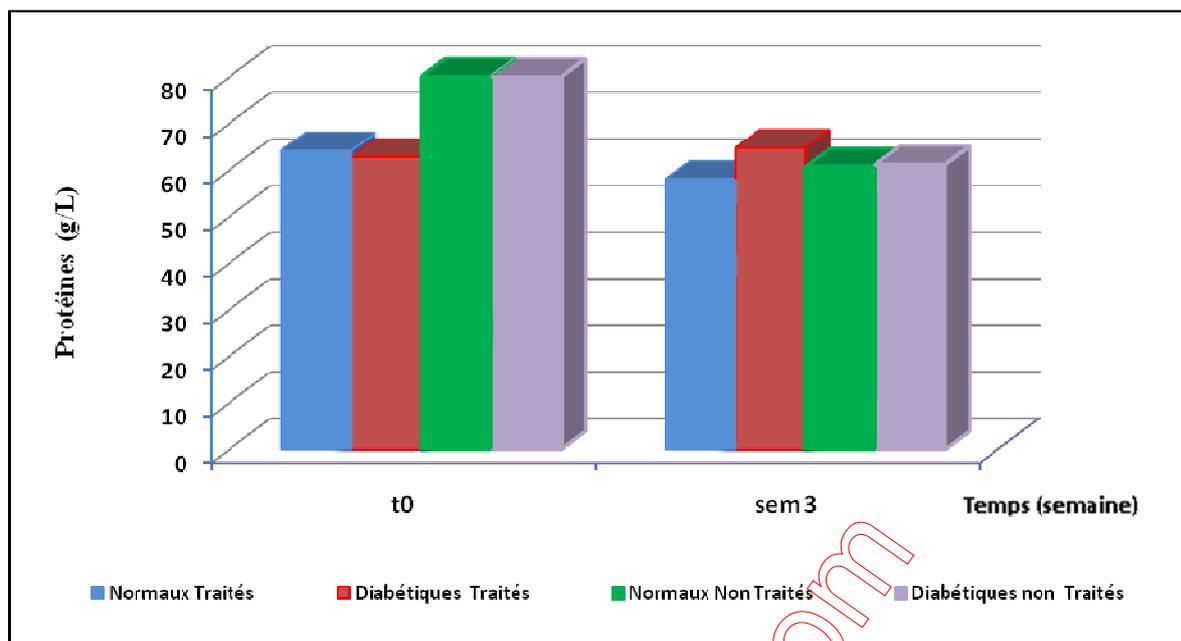


Figure II.5 : Evolution de la protéinémie (g/L) des rats après trois semaines de traitement par l'extrait aqueux à 250 mg/kg.

II.3.3.5 Test de tolérance orale au glucose

Les résultats du test de tolérance au glucose effectué sur les quatre groupes de rats sont reportés dans le tableau II.9. La figure II.6 montre clairement l'évolution de la glycémie des rats pendant deux heures après gavage du glucose à la dose de 3g/kg.

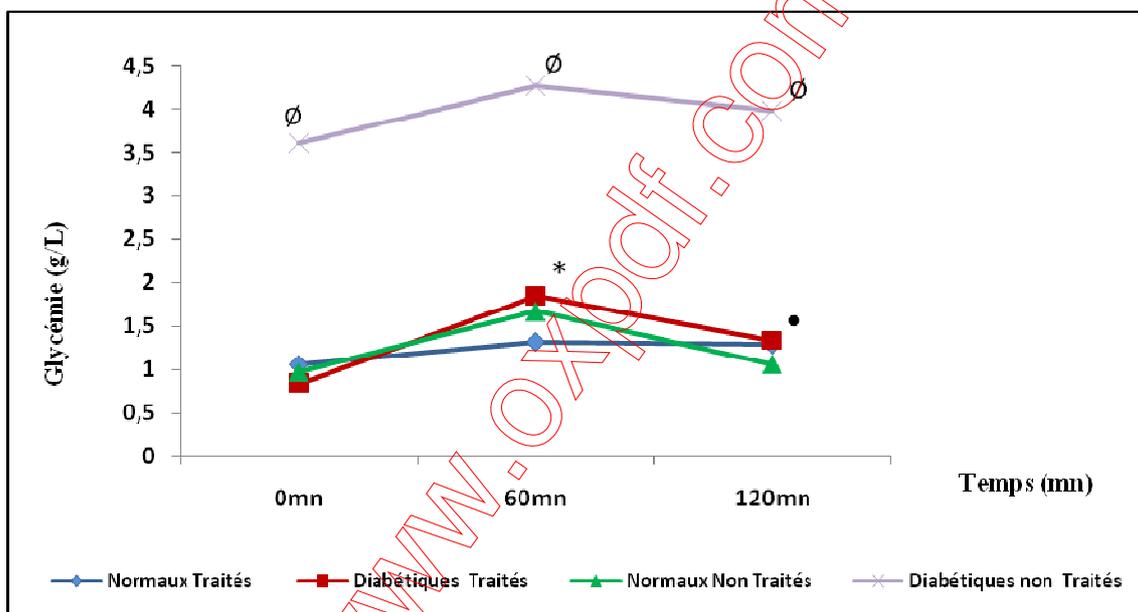
Le test de tolérance au glucose montre une augmentation de la glycémie des quatre groupes. Nous remarquons un effet positif de l'extrait aqueux sur la réponse des rats diabétiques traités et normaux traités. En effet et malgré la charge importante du glucose, nous constatons une légère augmentation de la glycémie chez les rats normaux traités par rapport aux rats normaux non traités. Pour les diabétiques traités, une différence significative est marquée en comparant leur glycémie avec celle des diabétiques non traités.

L'extrait aqueux de la racine de *Anacyclus pyrethrum* agit significativement sur la réponse des rats diabétiques à la charge du glucose en améliorant la pénétration du glucose dans les cellules périphériques ou bien en stimulant soit directement la sécrétion d'insuline en agissant au niveau pancréatique soit indirectement par stimulation des Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1)

sécrétés par les cellules intestinales et qui stimulent la sécrétion d'insuline après une administration orale d'aliments riches en glucides. Selon Hansotia et Drucker [134], le GLP-1 stimule la sécrétion d'insuline en potentialisant l'effet stimulant du glucose au niveau des cellules β .

Tableau II.9 : Glycémie (g/L) des rats pendant deux heures après administration du glucose à la dose de 3g/kg.

Temps (minute)	0	60	120
Normaux témoins	0.97 ± 0.02	1.67 ± 0.17	1.06 ± 0.03
Normaux traités	1.06 ± 0.13	1.32 ± 0.13	1.28 ± 0.07
Diabétiques témoins	3.61 ± 0.34	4.27 ± 0.19	3.98 ± 0.42
Diabétiques traités	0.84 ± 0.05	1.85 ± 0.17	1.33 ± 0.15



* : différence significative entre t_0 et 60 mn pour diabétiques traités.

• : différence significative entre t_0 et 120 mn pour diabétiques traités.

Ø : différence significative entre diabétiques non traités et diabétiques traités.

Figure II.6 : Evolution de la glycémie (g/L) des rats pendant deux heures après administration du glucose à la dose de 3g/kg.

II.3.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Anacyclus pyrethrum*

- **méthode de diffusion à partir d'un disque solide**

Les huiles essentielles des racines, feuilles/tiges et fleurs de *Anacyclus pyrethrum* ont été testées individuellement sur un panel de micro-organismes de référence, 9 bactéries (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) et 3 espèces de levures (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 26790, *Candida albicans* IP 444) (Tableau II.10).

L'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle de racines, des tiges/feuilles et les fleurs de *Anacyclus pyrethrum* contre les bactéries a été évaluée qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence de zones d'inhibition.

Comme le montre Tableau II.10, les racines, et les feuilles/tiges présentent des effets inhibiteurs uniquement contre les *S. aureus* avec, respectivement, des diamètres de zones d'inhibition de 11 et 10 mm. D'autre part les racines et les fleurs ont montré un effet antifongique contre les *C. albicans* ATCC 10231 et ATCC 26790 avec, respectivement, des zones d'inhibition de 15 et 14 mm. Cependant, sur le reste des souches bactériennes aucune inhibition n'a été observée, avec des diamètres de zones d'inhibition variant de 6 à 8 mm.

- **Méthode de microdilution en milieu solide**

Nous rapportons dans le Tableau II.10 les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles les plus actives constatées lors de l'étude en milieu solide, dont les diamètres d'inhibition sont supérieurs à 8 mm (choix arbitraire), qui sont obtenues par la méthode de microdilution en milieu gélosé. Les CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibition, obtenues avec la méthode de l'antibioaromatogramme.

Tableau II.10 : Activités antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles des racines, tiges/feuilles et fleurs de *Anacyclus pyrethrum*

Micro-organismes	Huile essentielle						Antibiotique	
	Racines		Feuilles/tiges		Fleurs		Gen.	
	DD	CMI	DD	CMI	DD	CMI		
Gram positif								
<i>S. aureus</i>	11	0.625	10	1.25	8	1.25	30	0.078
<i>L. monocytogenes</i>	6	-	6		6		14	0.625
<i>B. cereus</i>	8	1.25	7	-	7	-	23	0.156
<i>E. feacalis</i>	6	-	6	-	6	-	24	0.156
<i>P. aeruginosa</i>	6	-	6	-	6	-	-	-
Gram négatif								
<i>E. coli</i>	6	-	6	-	6	-	22	0.156
<i>P. mirabilis</i>	6	-	6	-	6	-	20	0.312
<i>k. pneumoniae</i>	6	-	6	-	6	-	14	0.625
<i>S. typhimurium</i>	6	-	6	-	6	-	22	0.156
Levures								
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	11	2.50	10	2.50	14	1.25	11	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	15	1.25	10	2.50	11	2.50	15	-
<i>Candida albicans</i> IP 444	11	2.50	7	-	9	-	11	-

- : Pas de zone d'inhibition.

Gen. : Gentamycine (10 ug/disque).

DD : Diamètre de la diffusion du disque (mm).

CMI : Concentration minimale inhibitrice (mg/mL).

Aligiannis et ses collaborateurs [135] ont proposé une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- forte inhibition : CMI inférieure à 0.5 mg/mL ;
- inhibition modérée : CMI varie de 0.6 mg/mL à 1.5 mg/mL ;
- faible inhibition : CMI supérieure à 1.6 mg/mL.

Ainsi, selon cette classification, on constate que l'huile essentielle des racines présente une inhibition modérée sur les espèces des *S. aureus*, *B. cereus* et les *C. albicans* ATCC 26790 avec respectivement des CMI de 0.625, 1.25 et 1.25 mg/mL. D'autre part, l'huile essentielle des feuilles/tiges et des fleurs présente une inhibition modérée sur l'espèce des *S. aureus* (CMI de 1.25 mg/mL) et *C. albicans* (CMI variant 1.25-2.50 mg/mL). Il convient de noter que la plus forte concentration de l'huile testée (10.0 mg/mL) n'a eu aucun effet sur les autres espèces.

En dépit du nombre très élevé de travaux réalisés sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, la plupart des chercheurs se contentent uniquement de la mise en évidence de cette activité antimicrobienne sans pouvoir expliquer le mécanisme d'action des ces huiles essentielles.

Vu la complexité de sa composition chimique et la fragilité de ses constituants, le mode d'action d'une huile essentielle est vraisemblablement assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. D'ailleurs, jusqu'à présent, aucun mécanisme détaillé n'a été donné. Il est donc fort probable que chaque constituant de l'huile ait son propre mécanisme d'action.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent efficacement aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne dépend principalement de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [136].

Divers composés chimiques isolés par hydrodistillation de *Anacyclus pyrethrum* ont une activité directe contre de nombreuses espèces de bactéries, tels que les terpènes et une variété d'hydrocarbures aliphatiques (alcools, aldéhydes et cétones). Le caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et le caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels sont d'une importance principale dans l'action antimicrobienne des composantes des huiles essentielles. Par conséquent, un rang de l'activité a été proposé comme suit:

Phénols > aldéhydes > cétones > alcools > esters > hydrocarbures [137].

Par exemple, certaines huiles essentielles contenant des structures phénoliques, tels que le carvacrol et le thymol, sont très actives contre un large spectre de micro-organismes [137, 138]. Les aldéhydes sont connus pour posséder une activité antimicrobienne puissante.

Il a été proposé qu'un groupe d'aldéhyde conjugué à une double liaison carbone-carbone possède un arrangement fortement électronégatif, ce qui peut expliquer leur activité [139] ; ce qui suggère qu'une augmentation de l'électronégativité augmente l'activité antibactérienne [140,141]. Les cétones ont été signalées pour avoir des activités antimicrobiennes et nématocides [142, 143].

Il a été prouvé que les alcools aliphatiques possèdent des activités modérées contre plusieurs bactéries [144]. Les terpènes ont également montré des propriétés antimicrobiennes qui semblent avoir une activité antibactérienne de forte à modérée contre les bactéries à Gram positif et contre les champignons pathogènes. Toutefois, une activité générale plus faible a été observée contre les bactéries à Gram négatif [145, 146].

Nous pouvons conclure que l'huile essentielle des racines, tiges/feuilles et fleurs de *Anacyclus pyrethrum* possède une capacité antimicrobienne contre l'espèce des *S. aureus* mais reste faible par rapport à l'antibiotique de référence. D'autre part, il convient de noter que l'huile essentielle des autres organes (feuilles/tiges et fleurs) de *Anacyclus pyrethrum* testée (jusqu'à 10.0 mg/mL) n'a eu aucun effet sur les autres espèces.

www.oxpdf.com

www.xpdf.com

CONCLUSION

Conclusion

Le travail qui fait l'objet de cette première partie de la thèse consiste à une étude phytochimique et à une mise en évidence de quelques activités biologiques de *Anacyclus pyrethrum* L ; une plante utilisée localement pour le traitement traditionnel du diabète.

L'étude commence par une identification botanique de la plante suivie d'un criblage phytochimique de ses différentes parties. L'examen qualitatif basé sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, a permis la détection d'une diversité de familles chimiques dont la quantité varie d'une partie à l'autre de la plante.

L'obtention des huiles essentielles des trois parties (racines, feuilles/tiges, fleurs) de *Anacyclus pyrethrum* a été accomplie par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Pour l'optimisation du procédé d'extraction, deux variables pouvant influencer le rendement ont été retenues à savoir la quantité de la matière végétale et la durée d'extraction.

L'analyse des huiles essentielles (HE) a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) en utilisant deux colonnes, l'une polaire et l'autre apolaire. Seule l'HE de la partie feuilles/tiges (LS) en provenance de deux stations différentes a été analysée. Les autres parties de la plante feront l'objet d'une analyse ultérieure. L'analyse de l'HE de la station St2 a permis d'identifier et de caractériser 87 composés représentant près de 77% de sa composition chimique. Les HE sont proportionnellement constituées de sesquiterpènes ; une caractéristique de la famille des astéracées. Comparée à la plupart des huiles essentielles, celle de *Anacyclus pyrethrum* comporte plusieurs composés majoritaires dont la nature confirme bien les utilisations de cette plante ; le cubebol (agent rafraîchissant pour les applications alimentaires), le Caryophyllène (anti-inflammatoire) et le Germacrène (insecticide, antimicrobien). La comparaison entre les compositions chimiques des HE des deux stations n'a révélé aucune différence significative.

En outre, l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la racine de *Anacyclus pyrethrum* a été testée sur quatre groupes de rats Wistar normaux et diabétiques. L'induction du diabète chez ces derniers est faite par injection intraveineuse de la streptozotocine. L'extrait aqueux est doué d'une activité antidiabétique remarquable. En effet, les résultats montrent que cet extrait administré aux rats est dépourvu de toxicité. Il entraîne une diminution significative de la glycémie dès la première semaine du traitement. En plus, l'extrait aqueux ne provoque aucun trouble de poids ni variation conséquente du taux de protéines chez les rats. Ces résultats obtenus confirment l'utilisation traditionnelle de *Anacyclus pyrethrum* dans le traitement du diabète.

L'activité antidiabétique de l'extrait aqueux pourrait être due à la présence dans l'extrait de composés phénoliques, principalement des tanins. Ces derniers favorisent l'action de l'insuline grâce à leurs activités anti-oxydantes remarquables.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des trois parties de la plante à savoir les racines, les feuilles/tiges et les fleurs ont été testées individuellement sur une multitude de microorganismes de référence (9 bactéries et 3 levures). Les HE des racines, et des feuilles/tiges présentent des effets inhibiteurs uniquement contre les *S. aureus*. En dépit de la richesse de l'huile essentielle des feuilles/tiges en composés oxygénés, celle-ci n'a pas eu l'effet prévisible sur les différents microorganismes.

www.oxpdf.com

Références bibliographiques

- [1] Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse, VUEF édition (2001)
- [2] OG. Nacoulma. Thèse doctorat d'état. Université de Ouagadougou, Burkina-Faso (1996)
- [3] MM. Robinson, X. Zhang. World Health Organization. Geneva (2011)
- [4] C. Flet, Les substances naturelles sources de médicaments nouveaux, Ed. Le Moniteur, (1984) p556
- [5] N. Myers, RA. Mittermeier, CG. Mittermeier, GAB. da Fonseca, J. Kent, Nature. 403(2000) 853
- [6] F. Medail, P. Quézel, Conservation Biology 13(1999) 1510
- [7] P. Quézel, Definition of the Mediterranean region and the origin of its flora. In: Gómez Campo C. (Ed.), Plant Conservation in the Mediterranean Area. W. Junk, Dordrecht, The Netherlands, (1985) P. 9
- [8] W. Greuter, Botanika Chronika 10(1991) 63
- [9] H. Allali, H. Benmehdi, M.A Dib, B. Tabti, S. Ghalem, N. Benabadji, Asian J. Chem. 20 (4) (2008) 2701
- [10] WHO monographs on selected medicinal plants, volume 2, World Health Organization Geneve, Suisse (2002)
- [11] P. Recharadin, S. Copy, C. Chahine, F. Saltron, S. Bounassies, Chimistes Association (JALCA). 91(1)(1996) 2
- [12] C. Vigneau, Plantes médicinales : Thérapeutique - Toxicité, Ed. Masson, (1985) p.17 & p.222
- [13] G. Debuigie, Larousse des plantes qui guérissent, Librairie Larousse, (1984) p.5
- [14] P. Iserin, Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse, (2001) p.10 & p.132
- [15] J. Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier (1999)
- [16] Alan Crozier, N. Michael, Clifford, Hiroshi Ashihara. Blackwell Publishing Ltd (2006)
- [17] Michael Wink. Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. Second edition Blackwell Publishing Ltd by Michael Wink A John Wiley & Sons, Ltd, Publication United Kingdom (2010)
- [18] R. Croteau, TM. Kutchan, NG. Lewis. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, (2000) p.1250

- [19] PM. Dewick, Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2nd edn, JohnWiley and Sons, Chichester (2002)
- [20] D. Strack, Phenolic metabolism. In P.M. Dey and J.B. Harborne (eds), Plant Biochemistry. Academic Press, London, (1997) P. 387
- [21] G. Mónica, VV. Sandra, IO. Patricia, G. Cesar, Archives of Biochemistry and Biophysics. 501(1) (2010) 23
- [22] J. Bruneton, Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, (2009)1288 p. (ISBN 978-2-7430-1188-8)
- [23] RE. Koes, F. Quattrocchio, JNM. Mol, BioEssays. 16(1994) 123
- [24] WS. Pierpoint, Biochemist. 22(2000) 37
- [25] J. Buckingham, Dictionary of Natural Products. Version 9.2 on CD-ROM. Chapman & Hall/CRC Press, London, New York (2004)
- [26] A. Lamarti, A. Badoc, G. Deffieux, JP. Carde, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.133(1994) 79
- [27] NS. Sangwan, AHA. Farooqi, F. Shabih, RS. Sangwan, Plant Growth Regul. 34(2001) 3
- [28] B.M ange, R. Croteau, Curr. Opin. Plant Biol. 2(1999b) 139
- [29] PD. Fraser, PM. Bramley, Prog.Lipid Res. 43(2004) 228
- [30] MN. Alan Crozier, HA. Clifford, Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet Edited by Blackwell Publishing Ltd, (2006) p. 102
- [31] MF. Roberts, M. Wink, Alkaloids: Biochemistry, Ecological Functions and Medical Applications. Plenum, New York (1998)
- [32] F. Robert, FLS. Raffauf, FMAS. Plant Alkaloids: A Guide to Their Discovery and Distribution. Food products press, (1996) p. 49
- [33] K. Brandt, LP. Christensen, J. Hansen-Møller. Trends Food Sci.Technol.15 (2004) 384
- [34] Alan Crozier Wiley-Blackwell, Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet Edited, 1 edition, (2006) 384 p.
- [35] LP. Christensen, J. Lam, Phytochemistry. 30(1991) 2663
- [36] Diabète. Glucose dans le sang – Hyperglycémie. Santé et Corps Humain. Soft Collection Micro Application. Encarta Encyclopedia Microsoft. (2003)
- [37] KK. Vanderwood, TO. Hall, TS. Harwell, MK. Butcher, SD. Helgerson, Diabetes Care. 33 (2010) 2543
- [38] American Diabetes Association (ADA), Diabetes Care. 31(2008) S55
- [39] AJ. Garber, Y. Handelsman, D. Einhorn et al, Endocr. Pract. 14 (7) (2008) 933

- [40] B. Paulweber, P. Valensi, J. Lindström et al, *Metab. Res.* 42 (Suppl. 1) (2010) S3
- [41] J. Lindström, A. Neumann, KE. Sheppard et al, *Metab. Res.* 42 (Suppl. 1) (2010) S37
- [42] MD. Dey lucey, S. Anoja, DDS. Attele, MD. Chun-Su Yuan, *Alternative medicine Review.* 7(1) (2002) 45
- [43] D. Carter, *Diabetes mellitus an update for healthcare professionals.* British Medical Association Board of Science and Education, BMA Publications Unit (2004)
- [44] N. Hamza, B. Berke, C. Cheze, AB. Agli, P. Robinson, H. Gin, N. Moore, *Journal of Ethnopharmacology.* 128(2) (2010) 513
- [45] SK. Bhavsar, S. Singh, S. Giri, MR. Jain, DD. Santani, *Journal of Ethnopharmacology.* 124(2009) 426
- [46] RJ. Marles, NR. Farnsworth, *Plants as sources of antidiabetic agents.* Program for collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences. College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago, USA. (1988)150
- [47] N. Meliani, MA. Dib, H. Allali, B. Tabti B, *Asian pac. J. Trop Biomed.* 1(6) (2011) 468.
- [48] TM. Barkely, L. Brouillet, JL. Strother, *Flora of North America –Asteraceae.* Oxford University Press, New York. 19(2006) 3
- [49] J. Bellakhdar, *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint –Etienne,* Edit. Ibis Press (1997)
- [50] J. Gattefosse, *Les végétaux aromatiques de Madagascar.* Agr. Colon4.,6 :1-9. Ministère des Colonies - Jardin Colonial (1921)
- [51] A. Charnot, *La toxicologie au Maroc. Mémoire de la société des sciences naturelles à Rabat (Maroc),* Edition Siège de l'I. S, Rabat, (1945) 717p.
- [52] B. Anon, *Nutraceutical IP.com Journal.* 8(10A) (2008) 11
- [53] M. Jacobson, *Journal of the American Chemical Society.* 71(1949) 366
- [54] L. Crombie, *Journal of the Chemical Society.* (1955) 999 DOI: 10.1039/jr9550000999
- [55] L. Crombie, *Nature.* 174(1954) 832
- [56] R. Jente, PH. Bonnet, F. *Chemische Berichte.* 105(5) (1972) 1694
- [57] SA. Ross, SE. Megalla, DW. Bishay, AH. Awad, *Fitoterapia.* 51(6) (1980) 303
- [58] H. BhattVenkatakrishna, RJ. Amin, CB. Pandya, *Indian Journal of Chemical Sciences.* 5(1991) 77
- [59] A. Saily, R. Sahu, D. Mohan, B. Gupta, SM. Sondhi, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 56(5) (1994)186

- [60] M. Gulland John, U. Hopton Gerald, *Journal of the Chemical Society*. (1930) 6 DOI: 10.1039/jr9300000006
- [61] M. Jakic, B. Breu, W. Probstle, A. Redl, K. Greger, H. Bauer Rudolf, *Planta Medica*. 60(1) (1994) 37 DOI: 10.1055/s-2006-959404
- [62] V. Rimbau, E. Risco, S. Canigueral, J. Iglesias, *FAR*. (1995) 90 (DOI) 10.1002(SICI) 1099-1573(199608)10:5
- [63] K. Sukumaran, R. Kuttan, *Mutation Research, Genetic Toxicology*. 343(1) (1995) 25 DOI: 10.1016/0165-1218(95)90059-4.
- [64] S. Khanna, A. Lulla, A process of preparing herbal composition for general health tonic. *Indian*. (1999) IN 182159 A1 19990109
- [65] Y. Shrivastav, A. Shrivastav, A composition for the treatment of premature ejaculation and sexual weakness. *Indian Pat. Appl.* (2006) IN 2005DE00370 A 20061201.
- [66] V. Sharma, M. Thakur, NS. Chauhan, VK. Dixit, *Scientia Pharmaceutica*. 77(1) (2009) 97
- [67] V. Sharma, M. Thakur, NS. Chauhan, VK Dixit, *Journal of Chinese integrative medicine*. 8(8) (2010) 767
- [68] M. Lino Celeste, MC. Guarda Lucia, M. Silveira, N. Irene, *Journal of AOAC International*. 82(5) (1999) 1206
- [69] G. Hussein, H. Miyashiro, N. Nakamura, M. Hattori, N. Kakiuchi, K. Shimotohno, *Phytotherapy Research*. 14(7) (2000) 510
- [70] S. Khanna, A. Lulla, A herbal synergistic compo for anti-wrinkle and muscle toning use. *Indian*. (1999) IN 182970 A1 19990814
- [71] D. Bendjeddou, K. Lalaoui, D. Satta, *Journal of ethnopharmacology*. 88(2-3) (2003) 155
- [72] AK. Jhaveri, TJ. Shah, A process of preparing herbal composition forming tooth powder or tooth paste. *Indian Pat. Appl.* (2005) IN 2001MU00315 A 20050506
- [73] PM. Joshi Jagdish, A herbal-based mouth freshener and a process of manufacturing the same. *PCT Int. Appl. WO* 2010084503 A1 20100729
- [74] GP. Choudhary, A herbal medicine for cough and a tonic for heart, lungs and digestion and process for preparing the same. *Indian Pat. Appl.* (2006) IN 2005KO00732 A 20060324
- [75] BN. Singh, SK. Kasarle, *Nutraceutical composition*. *Indian Pat. Appl.* IN (2006) 2005MU01060. A 20060825
- [76] M. Galumbeck, Antiaging and antiinflammatory skin care compositions comprising Aloe Barbadensis leaf extract, tocopheryl acetate, hydrolyzed rice protein, or glycine soya protein as bioactive modulators. *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2007) US 20070172431 A1 20070726.

- [77] M. Margulis, *Anales de la Asociacion Quimica Argentina*. 24(1936) 26
- [78] O. Shoseyov, Anti-allergy compositions. *PCT Int. Appl.* (2007) WO 2007113835 A1 20071011
- [79] A. Kawabata, M. Amuro, The active oxygen scavenger, skin applications, the dentifrice compositions, and food. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*. (2010) JP 2010018545 A 20100128.
- [80] Q. Ullah, L. Kifayat Khan, T. Mahmood, MA. Khan. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. 28(2) (2006) 158
- [81] S. Surveswaran, YC. Cai, SM. Harold, *From Food Chemistry*. 102(3) (2007) 938
- [82] F. Aqil, I. Ahmad, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 29(2) (2007) 79-92.
- [83] V. Sharma, M. Thakur, NS. Chauhan, VK. Dixit, *Pharmaceutical biology*. 48(11) (2010) 1247
- [84] M. Pahuja, J. Mehla, KH Reeta, S. Joshi, Y. Kumar Gupta, *Epilepsy Research*. 98(2-3) (2012) 157–165.
- [85] E. Guenther, *The Essential Oils*. Publisher: D. Van Nostrand Company Inc. universal library vol. II(1948)
- [86] SAAJ. Van de Braak, GCJJ. Leijten, *Essential oils and Oleoresinics: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union*. CBI, Center for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, (1999) p116
- [87] F. Bauer, D. Siller, S. Kleinesein, W. Luf, The influence of feeding sage and origano on the oxidative stability of raw belly bacon. In: *Biologically-active phytochemicals in food: analysis, metabolism, bioavailability and function*. Proc. of the Eurofoodchem XI Meeting, Norwich, UK, September 26-28(2001) 386
- [88] J. Crosthwaite, B. Malcolm, *An economic analysis of native pasture in the hills and tablelands of south-eastern Australia*. Institute of Land and Food Resources, The University of Melbourne, Parkville, Victoria (2001)
- [89] CF. Carson, TV. Riley, *Letters in Applied Microbiology*. 16(1993) 49
- [90] W. Boyle, *American Perfumer and Essential Oil Rev.* 66(1955)
- [91] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbecka, M. Idaomar, *Food and Chemical Toxicology*. 46(2008) 446–475.
- [92] C. El Kalamouni, *thèse de Doctorat de l'université de Toulouse (France)* (2010).
- [93] R. Balz, *Les huiles essentielles et comment les utiliser. Santé Hygiène Parfums Cuisine*. édition Crest : Imprimerie du Crestois, Eygluy-L'escoulin, (1986)152 p

- [94] Alan Crozier, Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human. (2006) P.78
- [95] P. Morin, C. Gunther, L. Peyron, H. Richard, Bulletin de la Société Chimique de France. 5(1985) 921
- [96] A. Koedam, World Crops: Production, Utilization, Description. 7 (1982) 229
- [97] P. Franchomme, R. Jollois, D. Pénéol, L'aromathérapie exactement: Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques, (Ed) Roger Jollois, ISBN: 2-87819-001-7(2001)
- [98] D. Baudoux, L'aromathérapie : se soigner par les huiles essentielles, Douce Alternative, (Ed) Amyris, Bruxelles, ISBN: 2-930353-08-2 (2002)
- [99] K. Srinivasan, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 47 (2007) 735
- [100] P. Labre, Médecines Naturelles en élevage (Tome 2): Phytothérapie et Aromathérapie chez les ruminants et le cheval, (Ed) Femenvet, ISBN 2-9516515-1-1(2007)
- [101] W. Maddocks-Jennings, JM. Wilkinson, Blackwell Publishing Ltd. Journal of Advanced Nursing. 48(2004) 93
- [102] F. Baudry, P. Debauche, D. Baudoux, Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, volume 3: Médecine Vétérinaire (Bovins); (Ed) Inspir, Luxembourg, ISBN: 2-919905-26-0 (2004)
- [103] AFNOR, Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles, (Association Française de Normalisation), 2^{ème} édition, Paris (1992)
- [104] Pharmacopée Européenne, 1 Conseil de l'Europe, Maison neuve S.A. Editions, Sainte Ruffine (1996)
- [105] S. Hajji, J. Beliveau, D. Simon, Actes - Colloq. Int. Plant. Aromat. Med. Maroc. (1985) 229-230.
- [106] D. Bandoniène, J Chromatogr Sci. 43(7) (2005) 372
- [107] D. Grigonis, PR. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl, CS. Eskilsson, The Journal of Supercritical Fluids. 33 (3) (2005) 223
- [108] TS. Reighard, SV. Olesik, Critical Reviews in Analytical Chemistry. 26 (2&3) (2006) 1
- [109] J. Dugay, C. Miege, MC. Hennion, Journal of Chromatography A. 795(1998) 27
- [110] D. Joulain, Perfumer & Flavorist. 19 (1994) 5
- [111] P. Arpino, A. Prévôt, J. Serpinet, J. Tranchant, A. Vergnol, P. Witier, Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson, Paris (1995)
- [112] J. Paolini, Thèse de Doctorat université de Corse (France) (2005)

- [113] H. Günther, La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie, Masson, Paris (1994)
- [114] D. Joulain, WA. König, The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, Ed. E.B.-Verlag, Hambourg, (1998)
- [115] WA. König, DH. Hochmuth, D. Joulain, Terpenoids and related constituents of essential oils, University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany (2001)
- [116] NIST, National Institute of Standards and Technology, PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, The Perkin Elmer Corporation (1999)
- [117] RP. Adams, Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois (1995)
- [118] F. Grundschober, Unters. Forsh. 192(1991) 530
- [119] D. Joulain, Perfumer & Flavorist. 19(1994) 5
- [120] E. Constantin, Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, (1996)1
- [121] JB. Harborne, Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis, Chapman & Hall, London (1998)
- [122] T. Silou, M. Malanda, L. Loubaki, Journal of Food Engineering. 65(2004) 219
- [123] V. Babu, T. Gangadevi, A. Subramoniam, Indian Journal of Pharmacology. 35(2003) 290
- [124] R. Crouch, G. Kimsey, DG. Priest, A. Sarda, MG. Buse, Diabetologia. 15(1978) 53
- [125] G. Calapai, F. Corica, A. Corsonello, L. Sautebin, M. Di Rosa, GM. Campo, M. Buemi, VN. Mauro, AP. Caputi, J. Clin. Invest. 104(1999) 975
- [126] SD. Christensen, LF. Mikkelsen, JJ. Fels, TB. Bodvarsdottir, AK. Hansen, Laboratory Animals. 43(1)(2009) 65
- [127] MN. Ghosh, Toxicity studies. In: Fundamentals of Experimental Pharmacology. Scientific Book Agency, Calcutta (1984)153
- [128] SO. Olagbende-Dada, SO. Ogbonnia, HAB. Coker, GE. Ukpo, Afr J.Biotechnol. 10(6) (2011) 1039
- [129] RJ. Henry, DC. Cannon, JW. Winkelman, Clinical Chemistry-Principles and techniques. Harper et Row, 2nd Ed (1974)
- [130] Wright S., Keele C.A. et Neil E. Physiologie appliquée à la médecine. Edition Flammarion Médecine-Sciences, Paris (1980).
- [131] J. Legault, AJ. Pichette, Pharm Pharmacol. 59(12) (2007) 1643
- [132] V. Del-Vechio, VS. Orlando, HY. Célia, ACK. Maria, Rec. Nat. Prod. 3(1) (2009) 52

- [133] T. Vetrichelvan , M. Jegadeesan, Journal of Ethnopharmacology 80 (2002) 103–107
- [134] Hansotia, T., Drucker, D. J., Regul. Pept.128 (2005)125-34
- [135] N. Aligiannis, E. Kalpotzakis, S. Mitaku, IB. Chinou, J. Agric. Food Chem. 40(2001) 4168
- [136] Sipailiene, A., Venskutonis, P.R., Baranauskiene, R. et Sarkinas, A., Journal of Essential Oil Research, 18 (2006) 698-703
- [137] D. Kalemba, A. Kunicka, Curr Med Chem. 10 (2003) 813
- [138] M. Güllüce, M. Sökmen, D. Daferera, G. Agar, H. Özkan, N. Kartal, M. Polissiou, A. Sökmen, F. Sahin, Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51(14) (2003) 3958
- [139] V. Moleyar, P. Narasimham, Food Microbiology. 3(1986) 331
- [140] N. Kurita, M. Miyaji, R. Kurane, Y. Takahara, K. Ichimura, Agriculture and Biological Chemistry. 43(1979) 2365
- [141] N. Kurita, M. Miyaji, R. Kurane, Y. Takahara, K. Ichimura, Agriculture and Biological Chemistry. 45(1981) 945
- [142] FM. Benhadj, B. Marzouk, I. Chraif, K. Boukef, International journal of food, agriculture and environment. 5(2007) 52
- [143] G. Nikoletta, N. Francesca, M. Manconi Leonti, A. Maxia, P. Caboni, J. Agric. Food Chem. 59 (13) (2011) 7098
- [144] N. Kabelitz, PM. Santos, HJ. Heipieper, FEMS Microbiol. Lett. 220(2003) 223
- [145] T. Hada, A. Shiraishi, S. Furuse, Y. Inoue, H. Hamashima, K. Masuda, K. Shiojima, J. Shimada, Nat. Med. 57(2003) 464
- [146] B. Tepe, D. Daferera, M. Sokmen, M. Polissiou, A. Sokmen, J Agric Food Chem. 52(2004) 1132

DEUXIEMME PARTIE

**Application de l'extrait aqueux de *Anacyclus pyrethrum* L.
à l'inhibition de corrosion d'un acier doux
en milieu acide H_2SO_4 0.5M**

www.oxford.com

Introduction

Les acides jouent un rôle particulièrement important dans l'industrie car ils font partie, depuis des décennies, des produits chimiques de base les plus importants. Les principaux domaines d'application de ces solutions acides sont le décapage, le détartrage et le nettoyage... De plus, elles sont, entre autres, utilisées dans plusieurs procédés industriels.

Parmi les acides disponibles commercialement, l'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique sont les plus fréquemment utilisés.

Du fait de l'agressivité des solutions acides, l'attaque des matériaux métalliques est inévitable.

A l'état naturel, les métaux existent sous forme d'oxyde, sulfure, carbonate etc.. Sous l'action de milieux corrosifs (agents atmosphériques ou réactifs chimiques), les métaux ont tendance à retourner à leur état primitif. La corrosion est en quelque sorte ce retour. La corrosion ne se limite pas à l'acier, mais affecte tous les métaux ainsi que les polymères et céramiques et elle touche tous les domaines de l'économie du circuit intégré au pont en béton armé.

Le phénomène de corrosion est un problème d'interface entre un métal et un milieu agressif liquide ou gazeux entraînant une destruction des matériaux métalliques. Ce phénomène a pris de nos jours une importance considérable, étant donné l'utilisation de plus en plus grande des métaux et alliages dans la vie moderne. En dépit de leurs propriétés avantageuses et nombreuses (bonne ductilité, grande résistance à la traction et aux températures élevées, bonne conductibilité électrique et thermique, grande facilité de mise en œuvre etc...), les métaux restent instables au contact de l'air et des solutions aqueuses ce qui diminue leur résistance à la corrosion.

La corrosion est un problème majeur qui cause un grand préjudice à l'économie mondiale. Au point de vue économique, la corrosion est une source potentielle de gaspillage de matières premières et d'énergie. Ces pertes pouvaient être supérieures en absence de protection contre la corrosion. Le changement du matériel et des équipements corrodés ainsi que l'arrêt de travail pour effectuer les réparations nécessaires constitue pour l'industrie une perte financière non négligeable. En outre, la corrosion peut provoquer des accidents aux conséquences néfastes et contribuer à la pollution de l'environnement. Dans la plupart des pays industrialisés, la charge annuelle occasionnée par la corrosion et ses conséquences est estimée à plusieurs milliards de dollars par an.

Afin d'augmenter la durabilité des métaux, plusieurs techniques de protection appropriées contre la corrosion ont été employées (application de revêtement, protection électrochimique et utilisation des inhibiteurs...)

L'utilisation des inhibiteurs est l'une des méthodes les plus pratiques pour la protection contre la corrosion en particulier dans des solutions acides pour empêcher la dissolution métallique indésirable et la consommation d'acide surtout lors du traitement des métaux par immersion dans des bains acides.

Différents composés synthétiques organiques et inorganiques ont été utilisés comme inhibiteurs pour protéger les métaux de la corrosion. Cependant, ils sont coûteux et présentent des effets dangereux. Les recherches actuelles s'orientent de plus en plus vers l'utilisation d'inhibiteurs dits inhibiteurs verts. La nature non-toxique et biodégradable des produits naturels a conduit à leur utilisation en tant qu'inhibiteurs écologiques.

Des extraits de plantes obtenus par des procédures simples et à faible coût sont considérés comme une source incroyablement riche de composés chimiques naturellement synthétisés et qui sont biodégradables dans la nature.

Dans l'étude suivante, nous nous sommes intéressés uniquement à l'action d'une solution d'acide sulfurique 0.5M sur l'acier doux en absence et en présence d'un extrait aqueux de chacune des trois parties (racines (R), feuilles/tiges (LS) et fleurs (F)) de *Anacyclus pyrethrum L* et ceci pour les raisons suivantes :

- Le choix du milieu acide sulfurique en tant que milieu corrosif est dû à son emploi fréquent dans différents secteurs industriels.
- L'acier dont les caractéristiques mécaniques sont élevées : résistance aux efforts, dureté et résistance aux chocs, joue un grand rôle dans d'innombrables domaines : vie quotidienne, industrie mécanique, agroalimentaire, chimie, transports, médecine, chirurgie, etc... C'est d'ailleurs le matériau le plus répandu.
- L'accessibilité aux inhibiteurs verts qui peuvent être obtenus sur place au laboratoire sans recours à la synthèse d'inhibiteurs qui est plus coûteuse.

Dans le premier chapitre de ce travail, nous passerons en revue une étude bibliographique sur le phénomène de la corrosion, où nous exposerons de manière utile, les notions de base de la corrosion, l'utilisation des inhibiteurs ainsi que les principales techniques employées pour l'évaluation de l'efficacité de l'inhibition de corrosion et la caractérisation de la surface de l'acier.

Le deuxième chapitre est consacré au travail expérimental où nous étudierons l'effet d'inhibition de la corrosion de l'acier doux, en milieu acide sulfurique 0.5 M, des extraits aqueux des trois parties de *Anacyclus pyrethrum L.* en optant pour les techniques électrochimiques (courbes de polarisation potentiodynamique, résistances de polarisation et spectroscopie d'impédance). Nous développerons l'étude par la détermination de quelques paramètres thermodynamiques liés au phénomène d'adsorption. Nous décrirons l'effet synergique des ions iodures avec l'extrait aqueux LS ainsi que l'influence du temps d'immersion.

Enfin, nous associerons à cela, la caractérisation de la surface de l'acier par la microscopie à balayage électronique (MEB)

Une conclusion générale résumera l'ensemble du travail réalisé et présentera les perspectives qu'il apporte concernant l'étude des inhibiteurs verts en tant qu'inhibiteurs de corrosion de l'acier doux en milieu acide.

www.oxpdf.com

I.1 - Corrosion des métaux

I.1.1 - Définition

La corrosion est une destruction non voulue des métaux (détérioration de leurs propriétés) sous l'action d'agents atmosphériques ou réactifs chimiques.

Après attaque, les métaux ont tendance à retourner à leur état primitif qui est plus stable par rapport au milieu considéré.

La détérioration par des moyens physiques n'est pas appelée corrosion, mais suivant le cas : érosion, usure, grippage...

I.1.2 - Réactions chimiques de corrosion et thermodynamique

La corrosion des métaux est un phénomène le plus souvent extrêmement complexe ; elle découle de disciplines très diverses à savoir la physique des métaux, la science de la chimie des surfaces et la physicochimie des états de la matière.... La corrosion est donc régie par plusieurs théories qui reposent sur les bases fondamentales de phénomènes très divers [1].

A l'Université de Cambridge, c'est à U.R. Evans avec la collaboration de T.P. Hoar, que revient la première étude scientifique de la corrosion des métaux en présence de solutions aqueuses ainsi que la mise en évidence de la nature électrochimique de cette corrosion et l'importance qu'y exerce la notion de potentiel [1].

La plupart des métaux existent dans la nature sous forme de composés (oxydes, sulfures,...) ; c'est leur état thermodynamique stable.

Le passage de l'état de minerai à celui de métal pour article de consommation courante, exige un apport de chaleur considérable (haut fourneau, etc ...).

Ce métal exposé à l'environnement naturel retournera après corrosion à l'état de composé (oxyde, sulfure, ...).

La corrosion des métaux est due à une réaction d'oxydoréduction interfaciale irréversible entre le métal et un agent oxydant de l'environnement



Selon la thermodynamique, les métaux ne sont pas stables au contact de l'air et de l'eau.

La corrosion est donc un processus spontané qui s'effectue dans la plupart des cas sans apport d'énergie d'une source extérieure.

Lors de toute réaction chimique spontanée, l'enthalpie libre du système diminue. Une réaction spontanée n'est donc possible que si $\Delta G < 0$. L'équilibre chimique correspond au minimum d'énergie libre,

$$\Delta G = 0 \quad \text{I.1}$$

ce qui donne une relation entre la constante d'équilibre K et l'enthalpie libre standard ΔG° :

$$\Delta G^\circ = - RT \ln K \quad \text{I.2}$$

L'équation de Gibbs Helmholtz relie l'enthalpie libre standard de réaction ΔG° et l'enthalpie standard de réaction ΔH° et l'entropie standard de réaction ΔS° :

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad \text{I.3}$$

Souvent, on suppose que ΔH° et ΔS° ne varient pas avec la température.

Selon les lois de la thermodynamique, une corrosion ne se développe que si le système formé par le métal et le milieu environnant possède une enthalpie libre positive par rapport aux produits de corrosion.

La thermodynamique qui permet le calcul de cette enthalpie libre, peut prévoir le comportement des métaux placés dans des conditions bien déterminées :

- ΔG donne le sens de la réaction, mais ne donne aucune indication sur la vitesse de corrosion.
- L'enthalpie libre G est encore appelée Potentiel thermodynamique.
- ΔG est fonction de la température et de la pression (Il peut changer de signe).

I.1.2.1 Potentiel d'électrode et corrosion

Lorsqu'un métal plonge dans une solution aqueuse, ses atomes perdent des électrons et entrent en solution.

Métal (M) \rightarrow Ion métallique (M^{n+}) + électrons (ne^-)



Au voisinage du métal se forme un nuage d'ions positifs alors que la surface du métal contient un excès d'électrons. L'équilibre est donc rompu et les forces électrostatiques d'attraction

maintiennent les ions positifs et les électrons au voisinage immédiat de la surface métallique. Il s'établit une couche double et un champ électrique constant.

Une différence de potentiel s'établit entre le métal et la solution au voisinage immédiat du métal qui acquiert un potentiel électrique appelé "potentiel d'électrode".

Le potentiel d'électrode n'est pas accessible à la mesure expérimentale. Seule, peut être mesurée, la différence de potentiel par rapport à une électrode de référence dont le potentiel est connu.

D'après les lois de la thermodynamique on sait que :

$$\Delta G = - n. F.E \quad \text{I.3}$$

n : le nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction.

F : la constante de Faraday (1 F = 96500 Coulombs).

E : le potentiel d'électrode exprimé en volts et mesuré par rapport à l'électrode standard à Hydrogène (le potentiel est pris égal à 0 par convention)

Pour le cas particulier d'un métal plongé dans un électrolyte, NERNST a trouvé la relation suivante :

$$E = E^0 + (0.059/n) \log [M^{n+}]$$

[Mⁿ⁺] : concentration en ion-grammes par litre de solution

E⁰ : potentiel standard du métal

La corrosion n'est possible que si :

$$\Delta G < 0 \quad \text{c'est-à-dire} \quad E > 0$$

I.1.2.2 Taux de corrosion et polarisation

Si la thermodynamique et l'électrochimie permettent de prévoir la corrosion d'un métal, elles ne donnent aucune information sur la vitesse de corrosion.

C'est le phénomène de polarisation des piles qui nous indiquera le taux de corrosion.

Quand le courant électrique circule à l'intérieur d'une cellule électrochimique entre l'anode et la cathode, les deux potentiels d'électrode changent (le plus faible augmente quand l'autre diminue). La tension entre les deux électrodes diminue : c'est la polarisation.

On appelle habituellement courbe de polarisation le graphe intensité fonction du potentiel qui met en évidence le phénomène de polarisation.

I.1.3 - Différents types de corrosion

Les diverses formes d'oxydation ou altération du métal, font que le fer ou l'acier rouille, le cuivre ou le bronze verdit et le zinc ou l'aluminium blanchit. Le métal, une fois atteint, ne peut plus remplir son rôle.

Conséquence, il faut bien connaître l'origine et le type de la corrosion, pour faire un choix judicieux dans la résolution du problème.

I.1.3.1 Corrosion uniforme

Elle est caractérisée par une réaction chimique ou électrochimique se produisant uniformément sur toute la surface considérée. Elle est dite aussi corrosion généralisée : c'est le cas par exemple d'un acier ordinaire en eau de mer ou en présence d'air humide.

I.1.3.1 Corrosion localisée

Selon M.Fontana [2], cette corrosion englobe plusieurs classes parmi lesquelles on peut citer la corrosion galvanique. Celle-ci est due à la formation d'une pile électrochimique à partir de deux métaux différents plongés dans un électrolyte. Il s'en suit donc un courant électrique. Le métal ayant le potentiel de dissolution le plus faible dans la série galvanique joue le rôle d'anode et subit une corrosion. C'est ce qui se passe d'ailleurs dans une pile sèche avec le zinc.

D'autres types de corrosion sont à citer : la corrosion par crevasse ; la corrosion par piqures, la corrosion intergranulaire...

Il est à noter que d'autres classifications peuvent être adoptées selon la nature de la réaction mise en jeu. On peut distinguer alors, trois types de corrosion :

- Corrosion chimique
- Corrosion électrochimique
- Corrosion biochimique

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à la corrosion électrochimique d'un acier doux en milieu acide sulfurique.

I.2 - Inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides

I.2.1 - Définition

Un inhibiteur de corrosion est un composé chimique qui, ajouté à faible concentration au milieu corrosif, ralentit ou stoppe le processus de corrosion d'un métal placé au contact de ce milieu [3].

I.2.2 - Classes d'inhibiteurs

I.2.2.1 Inhibiteurs organiques

Il existe de très nombreux composés organiques susceptibles d'être utilisés comme inhibiteurs. Ceux-ci contiennent, en principe, un centre actif susceptible d'échanger des électrons avec le métal : l'azote (N), l'oxygène (O), le soufre (S) et le phosphore (P).

Dans le but d'améliorer l'efficacité inhibitrice ou encore certaines propriétés physiques comme la solubilité en milieu aqueux, de nouvelles molécules sont synthétisées.

Par ailleurs, la commercialisation d'un produit dépend en grande partie de son prix de revient : la préférence est donnée à des sous-produits de l'industrie pétrolière.

I.2.2.2 Inhibiteurs inorganiques

D'une manière générale, les inhibiteurs inorganiques sont utilisés dans des milieux voisins de la neutralité ou alcalins. Ils agissent soit par formation d'un composé protecteur, précipité en surface, soit en aidant à la formation d'une couche d'oxyde homogène et isolante.

La quasi-totalité des molécules inorganiques inhibitrices contiennent de l'oxygène dans leur formule.

I.2.2.3 Inhibiteurs particuliers

Les classes d'inhibiteurs cités précédemment sont les plus utilisées dans les domaines les plus importants à savoir le décapage/nettoyage des métaux, le traitement des eaux et l'industrie pétrolière. Cependant, d'autres applications nécessitent des formulations plus spécifiques. Il s'agit essentiellement :

- des inhibiteurs ajoutés aux peintures pour revêtements organiques.

- des inhibiteurs en phase gazeuse destinés à la protection temporaire des matériaux métalliques placés à l'atmosphère, essentiellement en condition de stockage ou lors du transport.

On peut aussi classer les inhibiteurs d'une autre manière :

➤ **Par domaine d'application**

Chaque type d'inhibiteurs correspond à un domaine d'application bien précis selon la nature du milieu corrosif (aqueux acide ou neutre, organique ou phase gazeuse...)

➤ **Par réaction partielle**

Selon leur influence sur la vitesse des réactions électrochimiques partielles, on distingue trois types d'inhibiteurs (figure I.1) :

✓ **les inhibiteurs anodiques**

Si l'inhibiteur s'adsorbe préférentiellement sur les sites anodiques (où a lieu la dissolution du métal), il s'agit d'un inhibiteur anodique.

Il bloque la réaction d'oxydation : $M \rightarrow M^{n+} + ne^{-}$

ce qui conduit à une réduction du courant partiel anodique et, par la suite, du courant global de corrosion.

Un inhibiteur anodique déplace le potentiel de corrosion dans le sens positif.

✓ **les inhibiteurs cathodiques**

De la même façon, un inhibiteur cathodique bloque la réaction de réduction et entraîne au final une diminution du courant global de corrosion.

Un inhibiteur cathodique déplace le potentiel de corrosion dans le sens négatif.

✓ **les inhibiteurs mixtes**

Un inhibiteur mixte diminue la vitesse des deux réactions partielles mais il modifie peu le potentiel de corrosion.

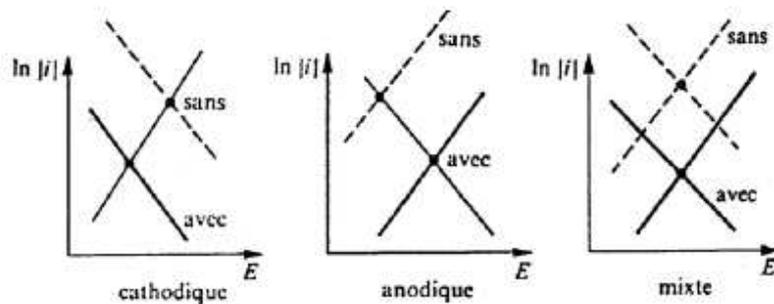


Figure I.1 : Diagrammes d'Evans montrant le déplacement du potentiel de corrosion du à la présence d'un inhibiteur anodique, cathodique et mixte

➤ **Par mécanisme réactionnel**

Si certains inhibiteurs oxydants provoquent une passivation spontanée du métal en diminuant ainsi la vitesse de corrosion, d'autres agissent par interposition d'une barrière entre le métal et le milieu corrosif.

D'autre part, on peut concevoir l'action d'autres inhibiteurs par l'élimination de l'agent corrosif ou par la formation de films superficiels par précipitation de composés peu solubles bloquant partiellement la dissolution anodique.

I.2.3 - Fonctions essentielles

D'une manière générale un inhibiteur doit :

- diminuer la vitesse de corrosion d'un métal, en conservant ses caractéristiques physico-chimiques
- présenter une stabilité
 - vis-à-vis des autres constituants du milieu, en particulier des oxydants
 - aux températures d'utilisation
- être efficace à faible concentration
- être compatible avec les normes de non-toxicité d'où la tendance vers des inhibiteurs verts biodégradables
- être peu coûteux [4]

I.2.4- Produits naturels comme inhibiteurs de corrosion des métaux en milieu corrosif

L'utilisation des inhibiteurs est l'une des méthodes les plus pratiques pour le contrôle de la corrosion des métaux et alliages qui sont en contact avec un environnement agressif.

Différents composés organiques et inorganiques ont été largement étudiés. L'efficacité de ces inhibiteurs de corrosion organiques est liée à la présence de fonctions polaires avec des atomes de soufre, d'oxygène ou d'azote dans la molécule, des composés hétérocycliques et des électrons π [5, 6,7]

Parmi les inhibiteurs inorganiques les plus efficaces on trouve le chromate, le bichromate et le nitrite. Cependant, leur caractère cancérigène limite leur utilisation qui sera proscrite dans un proche avenir [8].

Bien que les inhibiteurs synthétiques aient montré une bonne activité anti-corrosive, la plupart d'entre eux sont hautement toxiques pour l'être humain et l'environnement. La toxicité peut se manifester soit lors de la synthèse du composé ou lors de ses applications. Or, la sécurité et les questions liées à l'environnement ont été toujours une préoccupation majeure dans le secteur de l'industrie.

En plus, ces inhibiteurs peuvent causer des effets néfastes réversibles ou irréversibles sur le corps humain : affecter les reins ou le foie, perturber un processus biochimique ou altérer un système enzymatique [9].

Ces derniers temps, l'utilisation de ces composés a été décriée, c'est ce qui a poussé les recherches actuelles à s'orienter de plus en plus vers la préparation d'inhibiteurs non toxiques et biodégradables.

Les produits naturels tels que les composés extraits de plantes semblent être une alternative écologique idéale pour remplacer les traditionnels inhibiteurs de corrosion. Les différents inhibiteurs de corrosion ainsi obtenus et appelés inhibiteurs verts, ont été largement développés. Ces composés organiques naturels sont extraits de plantes aromatiques, épices et plantes médicinales. Des extraits de plantes sont considérés comme une source incroyablement riche de composés chimiques naturellement synthétisés qui peuvent être obtenus par des procédures simples et à faible coût.

Au cours des dernières années, l'attention s'est de plus en plus focalisée sur les propriétés anti-corrosives des produits naturels d'origine végétale et l'utilisation d'inhibiteurs verts a nettement augmenté. Les nombreux travaux réalisés sur le sujet avec la diversité des conditions expérimentales sont largement rapportés par plusieurs auteurs et rendent leur synthèse difficile. Une lecture attentive de la littérature révèle clairement que l'ère des inhibiteurs verts a déjà

commencé. Cependant, les références bibliographiques suivantes ne présentent que quelques contributions des plus récentes où les propriétés inhibitrices de corrosion en milieux acides des différents extraits de plantes (extraits aqueux, alcooliques, huiles essentielles...) ont été étudiées [10-21].

Le pouvoir d'inhibition de la corrosion dans beaucoup de ces extraits de plantes pourrait être du à la présence de constituants hétérocycliques comme les alcaloïdes, flavonoïdes, les tanins etc

I.3 - Comportement des inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides

Dans les milieux acides, les inhibiteurs organiques sont les plus fréquemment utilisés. Ces inhibiteurs s'adsorbent d'abord à la surface des métaux, puis interviennent dans les processus réactionnels de corrosion pour en diminuer la vitesse.

Dans les solutions aqueuses, en raison de leur caractère polaire, les molécules d'eau s'adsorbent à la surface du métal. Les inhibiteurs organiques doivent donc déplacer les molécules d'eau adsorbées (figure I.2).

D'après Bockris [22], l'adsorption d'une substance organique à la surface du métal peut être décrite par la réaction suivante:



où n est le nombre de molécules d'eau déplacées à partir de la surface pour chaque molécule organique adsorbée.

Le nombre n est indépendant du recouvrement et de la charge du métal, mais dépend de l'aire géométrique de la molécule organique par rapport à celle de l'eau.

L'adsorption de la molécule organique se produit parce que les forces d'interaction entre la surface du métal et celle-ci sont plus fortes que les forces d'interaction entre le métal et les molécules d'eau.

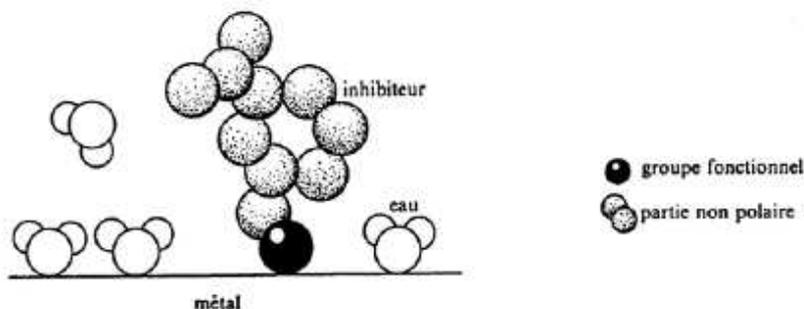


Figure I.2 : Adsorption d'un inhibiteur organique sur la surface métallique en milieu aqueux

I.3.1 Chaleur d'adsorption

L'adsorption provoque une diminution de l'énergie de surface du matériau. La variation globale d'énergie libre ΔG_{ads} qui en résulte peut s'écrire selon l'équation de Gibbs-Helmholtz :

$$\Delta G_{\text{ads}} = \Delta H_{\text{ads}} - T \Delta S_{\text{ads}} \quad (\text{I.4})$$

Pour que l'adsorption soit effective, il faut que ΔG_{ads} soit négative.

ΔS_{ads} étant toujours négative (les atomes perdent des degrés de liberté durant le processus d'adsorption), il s'en suit que ΔH_{ads} est négative et donc que l'adsorption est un phénomène exothermique.

La chaleur d'adsorption Q_{ads} est définie comme étant l'opposée de la variation d'enthalpie ΔH_{ads} soit :

$$Q_{\text{ads}} = - \Delta H_{\text{ads}} \quad (\text{I.5})$$

La valeur de Q_{ads} va nous permettre de distinguer deux phénomènes d'adsorption, l'adsorption physique et l'adsorption chimique.

I.3.2 - Types d'adsorption

L'inhibition de la corrosion au moyen des composés organiques résulte généralement de leur adsorption à la surface du métal.

L'adsorption est une simple fixation des molécules sur la surface d'un solide. Le corps qui s'adsorbe à la surface est appelé adsorbant alors que le support est dit adsorbant.

L'adsorption est un phénomène de surface universel car toute surface est constituée d'atomes n'ayant pas toutes leurs liaisons chimiques satisfaites. Cette surface a donc tendance à combler ce manque en captant atomes et molécules se trouvant à proximité.

La liaison entre l'espèce adsorbée et la surface métallique peut être essentiellement de deux types: la physisorption (Adsorption physique) et la chimisorption (Adsorption chimique).

A ces deux types de liaisons entre l'espèce adsorbée et la surface métallique, il faut ajouter la possibilité de liaisons par l'intermédiaire d'électrons de la molécule d'inhibiteur, ainsi que la formation possible de complexes organométalliques de surface.

Ces deux types d'adsorption sont influencés par la nature et la charge du métal, la structure chimique du produit organique et le type d'électrolyte [23].

I.3.2.1 – Adsorption physique

L'adsorption physique résulte des interactions électrostatiques entre les ions ou les dipôles des molécules organiques et la surface du métal électriquement chargée.

L'interaction entre l'adsorbant et la molécule adsorbée dépend de l'adéquation entre les propriétés des deux entités (polaire-polaires, non polaire-non polaire), de la masse molaire, de la forme de la molécule. L'adsorption physique conserve l'identité des molécules adsorbées grâce à des forces de faible intensité dues à des interactions électriques (les forces de Van der Waals, London ...), des liaisons hydrogène de basse intensité dues aux groupements hydroxyle ou amine ainsi qu'à des forces polaires, résultant de la présence de champ électrique (forces électrostatiques) [24].

Quoique les espèces adsorbées physiquement se condensent rapidement sur le métal, elles sont facilement enlevées de la surface (désorption), par élévation de la température, par abaissement de la pression ou par lavage énergétique de la surface...

I.3.2.2- Adsorption chimique

L'adsorption chimique entraîne une profonde modification de la répartition des charges électroniques des molécules adsorbées. Elle consiste à mettre en commun des électrons entre la partie polaire de la molécule et la surface métallique, ce qui engendre la formation de liaisons chimiques bien plus stables car basées sur des énergies de liaison plus importantes. Les électrons proviennent en grande majorité des doublets non liants du centre actif de la molécule inhibitrice (présence d'hétéroatomes: O, N, S, P). Ce centre permet de renforcer la formation de la liaison de covalence entre l'atome donneur et le métal accepteur. Cette liaison dépend clairement de la nature du métal à protéger.

En outre, Les composés organiques insaturés sont capables de former des liaisons avec les atomes métalliques et préférentiellement quand la surface métallique est chargée positivement. Ainsi, l'efficacité inhibitrice d'une molécule organique en milieu acide revient à la présence d'électrons π .

Quant aux composés organiques multifonctionnels, ils s'adsorbent à la surface par l'intermédiaire de ses différents centres actifs en formant des chélates ou des ponts [25].

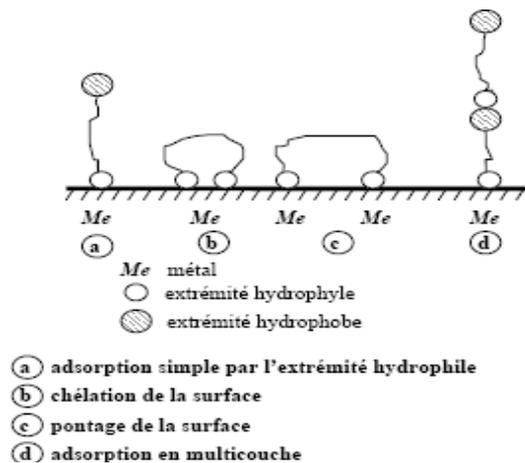


Figure I.3 : Modes d'adsorption de molécules organiques sur une surface métallique.

La chimisorption, souvent irréversible ou difficilement réversible, est spécifique pour certains métaux et engendre une couche monomoléculaire. C'est d'ailleurs le cas le plus favorable pour une inhibition [8].

Cependant, Il n'est pas toujours facile de faire la distinction entre les deux types d'adsorption. On peut d'ailleurs croire que la physisorption précède la chimisorption. Néanmoins, en mesurant les enthalpies des réactions de sorption on peut différencier les deux phénomènes. L'énergie mise en jeu au cours d'un processus de chimisorption est plus conséquente que celle mise en jeu au cours d'un processus de physisorption. L'adsorption chimique est caractérisée par une grande énergie d'activation. Une limite choisie arbitrairement entre les deux phénomènes et basée sur la chaleur de la réaction se situe au voisinage de 30 à 40 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ [26].

I.3.3- Propriétés et caractérisation de l'interface métal /électrolyte

Divers mécanismes ont été proposés afin d'expliquer la relation entre adsorption de l'inhibiteur sur le métal et ralentissement du processus de corrosion. En effet, l'inhibiteur agit soit :

- ✓ en bloquant la surface sans qu'il modifie les réactions élémentaires anodiques et cathodiques sur les parties non recouvertes
- ✓ en se comportant comme un catalyseur des réactions électrochimiques.

Quel que soit les conditions dans lesquelles est placé un inhibiteur, son mécanisme d'action est le plus souvent à rechercher au voisinage immédiat de la surface [4].

La corrosion en milieu aqueux engage des réactions entre le métal (l'électrode) et la solution (l'électrolyte), qui se produisent à l'interface séparant les deux milieux.

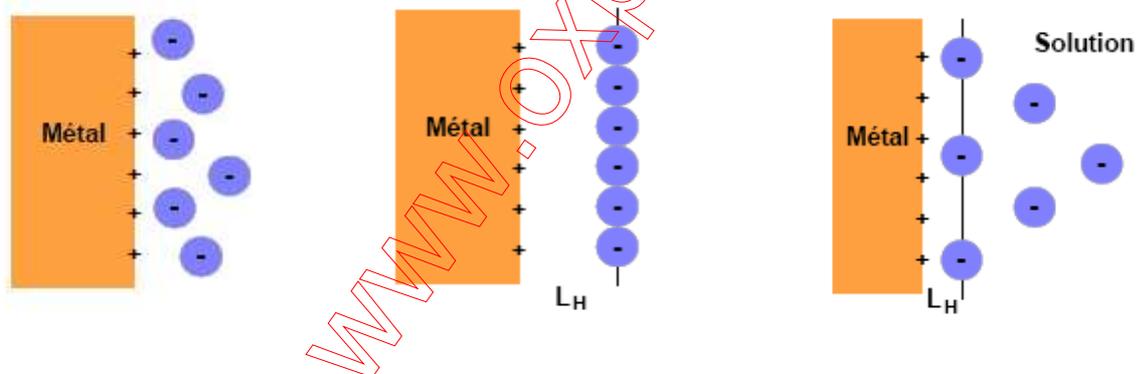
La nature de cette interface joue un rôle important dans l'évolution du système métal - solution.

I.3.3.1- Double couche électrique

En l'absence de milieu extérieur, la surface d'un matériau métallique peut être considérée comme la superposition de deux couches minces, l'une de charge positive située sous la surface du solide et l'autre, de charge négative, adjacente à la surface. Cette zone de séparation des charges constitue la double couche électrique.

A la surface du métal, une barrière de potentiel retient les électrons. Suivant le potentiel éventuellement appliqué, la charge du métal peut être positive ou négative par rapport à celle de l'électrolyte. La composition de la double couche dépend donc aussi de ce potentiel, mais la condition de neutralité électrique est toujours respectée.

La double couche électrique est un modèle décrivant la variation du potentiel électrique aux abords d'une surface. Cependant, plusieurs modèles peuvent être adoptés (Figures I.4).



Figures I.4 : Différents modèles de la double couche

I.3.3.2- Analogie électrique de la double couche

La double couche correspond par définition à l'interface électrode - électrolyte où se produit une séparation des charges.

Son comportement électrique peut être assimilé à celui d'une capacité C (appelée capacité de double couche) en parallèle avec une résistance R_t (appelée résistance de transfert) selon le schéma simple ci dessous (Figure I.5).

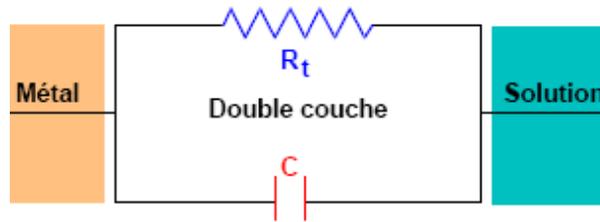


Figure I.5 : Circuit électrique équivalent à l'interface métal - solution

Le schéma de la Figure I.5 montre qu'un courant continu peut traverser l'interface métal-solution. Ce courant, appelé courant de transfert de charge ou courant faradique, traduit la réaction électrochimique qui se produit à l'interface.

I.3.4- Isothermes d'adsorption

Le phénomène d'adsorption peut être mis en évidence par:

- l'étude des isothermes d'adsorption
- l'examen de la surface au moyen de techniques spécifiques : la microscopie électronique à balayage et la spectroscopie des photoélectrons.

Les lois de variation de la quantité adsorbée en fonction de la concentration en inhibiteur peuvent souvent être représentées par des isothermes d'adsorption classiques.

Une isotherme d'adsorption est la courbe reliant la concentration de la molécule adsorbée (adsorbat) contenue dans un milieu donné et connu à la quantité d'adsorbat adsorbée sur un solide en équilibre avec ce milieu.

Plusieurs modèles théoriques ont été développés pour décrire les isothermes d'adsorption [27]

L'isotherme de Langmuir qui est le plus répandu sert généralement de base pour la description des phénomènes d'adsorption en phase aqueuse lors des processus de corrosion ou d'inhibition.

Ce modèle repose sur les hypothèses suivantes :

- La surface solide contient un nombre déterminé de sites d'adsorption et chaque site ne contient qu'une seule espèce adsorbée
- Pas d'interactions entre les molécules adsorbées
- Tous les sites d'adsorption sont équivalents thermodynamiquement et l'énergie d'adsorption est donc indépendante du taux de recouvrement de la surface θ , ce qui signifie que l'énergie d'adsorption est la même pour tous les sites [27].
- Le nombre de molécules qui arrivent à la surface est égal au nombre de molécules qui quittent cette surface (adsorption réversible)

Grace aux observations expérimentales d'autres modèles d'isothermes d'adsorption ont été développés tels que celui de Temkin, de Frumkin ou de Freundlich. Ceux-ci prennent en considération les interactions entre les molécules adsorbées à la surface.

Le plus souvent l'adsorption sur une surface hétérogène correspond à une isotherme de type Langmuir [4].

I.4 - Méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion

Les méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion sont celles de la corrosion d'une manière générale.

La plupart des essais de laboratoire, en particulier les essais de type électrochimique, sont effectués sur une surface métallique propre.

Le respect des rapports entre la surface du métal, le volume du réactif et la concentration de l'inhibiteur est nécessaire.

Les essais électrochimiques nous renseignent sur le mécanisme d'action de l'inhibiteur, sur la vitesse des processus de corrosion à l'instant où est faite la mesure, ce qui rend de toute façon nécessaire une étude cinétique.

On peut diviser ces méthodes en deux catégories :

- Méthodes stationnaires,
- Méthodes transitoires.

I.4.1 - Méthodes stationnaires : courbes de polarisation

Les méthodes stationnaires permettent d'étudier un système se trouvant dans son état quasiment 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 à l'interface électrochimique.

Pour déterminer une courbe de polarisation, on applique, à l'aide d'un potentiostat, différents potentiels entre l'électrode de travail (**ET**) et une électrode de référence (**ER**). 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

Le potentiostat est programmé pour balayer automatiquement le potentiel à une vitesse choisie.

Cette méthode permet de déterminer d'une façon précise les paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte à savoir: la vitesse instantanée de corrosion (**I_{corr}**), le potentiel de corrosion (**E_{corr}**), les pentes de **Tafel**, la résistance de polarisation (**R_p**). Elle donne des mesures rapides et sa mise en œuvre est relativement simple.

La détermination de la vitesse de corrosion à partir des courbes de polarisation est étroitement liée à la cinétique régissant le processus électrochimique.

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 (Figure I.6).

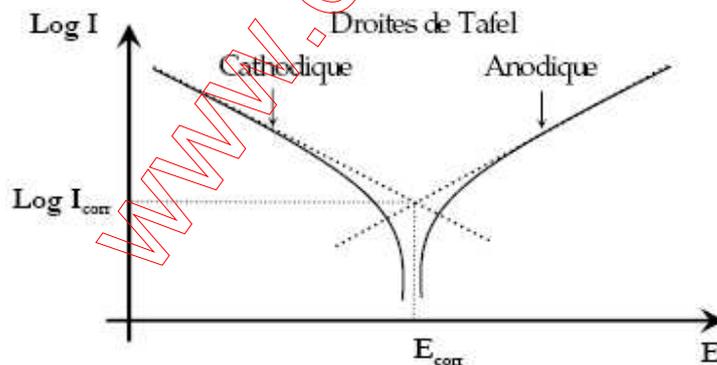


Figure I.6 : Courbe de polarisation et droites de Tafel d'un système redox à l'équilibre

Le tracé permet de confirmer les indications données par l'évolution du potentiel de corrosion et de les préciser en distinguant l'influence de l'inhibiteur sur chacune des réactions élémentaires, anodique et cathodique, à l'électrode.

Les techniques stationnaires restent toutefois insuffisantes pour caractériser des mécanismes complexes, mettant en jeu plusieurs étapes réactionnelles et ayant des cinétiques caractéristiques différentes (ce qui est le cas lors des processus d'inhibition). L'utilisation des techniques transitoires devient alors indispensable. Parmi ces techniques, la technique spectroscopique d'impédance électrochimique occupe une place privilégiée.

I.4.2 - Méthodes transitoires: la spectroscopie d'impédance électrochimique

Différentes méthodes transitoires sont décrites et se différencient les unes des autres par la forme du signal respectif appliqué : une impulsion, un balayage ou une modulation.

Les méthodes transitoires peuvent être classées en deux catégories à savoir: la méthode de perturbation de grande amplitude (voltamétrie cyclique) et la méthode de faible amplitude (impédancemétrie électrochimique). Seule cette dernière méthode est utilisée dans le présent travail et est décrite brièvement dans ce qui suit.

Cette technique présente plusieurs avantages et permet de recueillir des informations liées à la thermodynamique du système étudié et quelquefois à sa cinétique. Néanmoins, elle présente des limitations, surtout pour l'étude des mécanismes réactionnels ou dans le cas de systèmes très résistants [28].

Dans le domaine de la corrosion, elle permet la détermination précise de la vitesse de corrosion même dans le cas où le métal est recouvert d'une couche protectrice.

La S.I.E permet aussi l'évaluation du taux d'inhibition, la caractérisation des différents phénomènes de corrosion comme la dissolution ou la passivation...

La S.I.E repose sur la mesure d'une fonction de transfert résultant d'une perturbation volontaire du système électrochimique étudié. Classiquement, la perturbation imposée est sinusoïdale.

L'impédance électrochimique se définit comme étant le nombre complexe $Z(\omega)$ résultant du rapport :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta E(\omega)}{\Delta I(\omega)} \quad (I.6)$$

où, en mode potentiostatique,

- $\Delta E(\omega)$ est la perturbation imposée à un potentiel choisi E_0 ,
- $\Delta I(\omega)$ la réponse en courant du système étudié avec une composante continue I_0 .

L'impédance $Z(\omega)$ est un nombre complexe qui peut être écrit sous la forme suivante :

$$Z(\omega) = Z_r(\omega) + jZ_j(\omega) \quad \text{avec } j = -1, \quad (I.7)$$

Z étant le module de l'impédance,

Φ le déphasage, Z_r la partie réelle et Z_j la partie imaginaire.

$Z(\omega)$ peut ainsi être représenté en coordonnées cartésiennes par sa partie réelle et sa partie imaginaire : c'est le diagramme de Nyquist (Figure I.7).

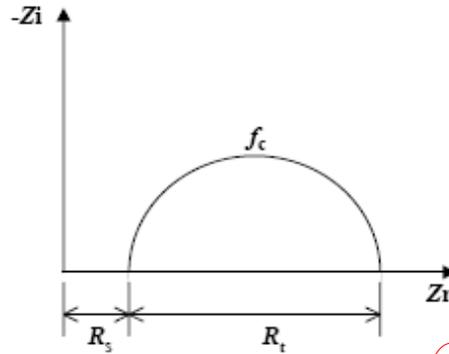


Figure I.7 : Diagramme de Nyquist (spectre d'impédance électrochimique)

Il est possible à partir de l'analyse d'un spectre d'impédance d'associer à chacune des étapes observables sur les diagrammes de Nyquist des grandeurs physiques représentatives.

Ceci peut être abordé par la modélisation du spectre en proposant un circuit électrique équivalent (CEE), composé d'un certain nombre d'éléments simples. Les éléments les plus couramment utilisés sont :

- la résistance d'impédance R , uniquement modélisée par sa partie réelle (indépendante de la pulsation)
- la capacité d'impédance

$$Z = \frac{-j}{C\omega} \quad (I.8)$$

- l'inductance d'impédance

$$Z = jL\omega \quad (I.9)$$

Les diagrammes d'impédance montrent souvent une dispersion en fréquence (cas non idéal) qui ne peut être ajustée à l'aide des éléments cités précédemment. Cette dispersion en fréquence est souvent décrite comme étant une variation de capacité. Elle est exprimée en terme d'élément de phase constante (CPE) d'impédance :

$$Z = \frac{1}{Q(j\omega)^\alpha} \quad (I.10)$$

En fonction de la valeur de l'exposant α , le CPE présente un comportement analogue à :

- une résistance pour $\alpha = 0$
- une capacité pour $\alpha = 1$

Un élément de phase constante traduit des hétérogénéités de surface, qu'elles soient d'origine morphologique, chimique ou électrique [29].

I.5 - Modes d'expression de l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion

Il existe plusieurs façons d'exprimer l'efficacité d'un inhibiteur de corrosion. L'expression la plus courante et la plus souvent utilisée est le taux d'inhibition (τ %)

$$\tau \% = \frac{u_0 - u}{u_0} \times 100 \quad (I.11)$$

où

u_0 est la mesure de la corrosion (perte de masse, intensité de corrosion, etc.) en l'absence d'inhibiteur

u est la mesure en présence d'inhibiteur.

D'autres expressions sont employées mais à un degré moindre ; il s'agit du coefficient d'inhibition qui permet de différencier mieux des inhibiteurs entre eux lorsque le taux d'inhibition devient très élevé ou encore de la concentration minimale efficace [4].

I.6 - Techniques d'analyse de surface

Les différentes techniques d'analyse de surface sont des outils indispensables à la prévision du comportement à la corrosion d'un matériau donné comme à la caractérisation a posteriori d'un phénomène de corrosion.

Les différentes techniques couramment employées se caractérisent toutes par l'envoi d'un faisceau (d'électrons, d'ions, de rayons X) sur la surface à étudier et par l'analyse du signal émis en retour. La plupart d'entre elles fonctionnent sous vide poussé, ce qui réduit d'une part le risque de modification de la surface à analyser, et d'autre part le risque de signaux parasites (collision du faisceau avec des molécules de gaz).

Ces techniques peuvent être classées en deux types distincts :

- les techniques d'analyse chimique qui fournissent des informations sur la composition chimique de la surface.
- les techniques d'analyse physique qui fournissent des informations sur la topographie ou la microstructure de la surface.

I.6.1 - Microscopie électronique à balayage (MEB)

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB), en anglais Scanning Electron Microscopy (SEM) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électron-matière.

Le principe du balayage repose sur l'exploration de la surface de l'échantillon par lignes successives et la transmission du signal du détecteur à un écran cathodique dont le balayage est exactement synchronisé avec celui du faisceau incident.

Les microscopes à balayage utilisent un faisceau très fin qui balaie point par point la surface de l'échantillon.

Les MEB ont une résolution qui se situe entre 0,4 et 20 nanomètres (soit 500 fois plus que le meilleur microscope optique réalisable).

I.6.2 - Spectroscopie des photo-électrons (XPS)

La spectroscopie XPS permet de mesurer le nombre d'électrons émis dans un intervalle d'énergie en fonction de l'énergie de liaison des électrons. Chaque élément chimique étant caractérisé par un spectre unique, cette méthode spectroscopique permet d'analyser précisément la nature chimique d'un matériau donné.

CHAPITRE II
PARTIE EXPERIMENTALE

www.oxpof.com

II.1. Introduction

Le pouvoir inhibiteur de la corrosion de l'acier en milieu acide sans et avec addition de l'extrait aqueux sera évalué en utilisant la technique électrochimique.

Lors de cette étude expérimentale, le système électrochimique métal / solution considérée est composé par :

- une électrode en acier doux,
- un milieu acide sulfurique 0.5M.

La vitesse de corrosion d'un système électrochimique métal /solution peut être déterminée par plusieurs méthodes classiquement utilisées par les expérimentateurs.

Nous avons utilisé, pour y parvenir, l'extrapolation des droites de Tafel à partir du tracé des courbes intensité - potentiel et les diagrammes d'impédance de type Nyquist.

Puis, nous avons calculé et commenté certaines valeurs thermodynamiques du processus d'adsorption (ΔG , ΔH et ΔS) à partir des isothermes d'adsorption.

Les effets du temps d'immersion, de la température et de l'ajout d'ions iodures, sur l'inhibition de la corrosion de cet acier en présence du même inhibiteur ont été également étudiés.

Pour compléter ces méthodes de base et afin de visualiser le film protecteur, nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage (MEB).

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Inhibiteurs testés

Les extraits aqueux des différentes parties de la plante ; Racines (R), feuilles/tiges (LS) et fleurs (F) ont été obtenus par un simple procédé. En effet, 100 g de matériel végétal nettoyés préalablement et séchés à température ambiante ont été extraits sous reflux avec de l'eau distillée pendant une heure.

Après décantation et filtration sur papier filtre, suivie d'une centrifugation à 5000 tours par minute pendant 30 min, le surnageant a été filtré pour éliminer d'éventuels résidus. Le filtrat a été séché à l'étuve à 40 °C jusqu'à obtention d'une poudre marron foncée pour les racines (R) et les fleurs (F) et marron claire pour les feuilles/tiges (LS) avec des rendements respectifs de 2.3 %, 2.9 % et de 3.6 %.

Le résidu solide est stocké dans le dessiccateur pour des expériences ultérieures.

II.2.2. Matériau utilisé

Les études sont effectuées sur un échantillon en acier doux dont la composition chimique (%) est donnée dans le tableau suivant:

Elément	C	Si	Mn	P	Cr	Ni	Al	Fe
(%) massique	≤ 0.1	≤ 0.03	≤ 0.2	≤ 0.02	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.03	balance

Tableau II.1 : Composition chimique de l'échantillon d'acier (en % massique)

Avant chaque mesure, l'échantillon en acier est manuellement poli sous courant d'eau, au papier abrasif SiC de granulométrie décroissante et allant jusqu'à 1200. Il est rincé à l'eau distillée, dégraissé dans l'acétone et séché avant utilisation.

II.2.3. Préparation des solutions

La solution corrosive est une solution d'acide sulfurique 0.5M (avec ou sans inhibiteur) obtenue par dilution à partir de l'acide commercial concentré à 98% (marque Prolabo).

La gamme de concentrations utilisée pour l'inhibiteur varie de 100 à 350 mg/L. Cette gamme de concentrations a été déterminée après étude de la solubilité de l'inhibiteur dans le milieu corrosif.

II.2.4. Mesures électrochimiques

Contrairement aux techniques gravimétriques, les mesures électrochimiques constituent une technique plus complète puisqu'elles étudient la base même du phénomène de corrosion, le processus électrochimique. La principale limite de la méthode électrochimique stationnaire est qu'elle ne rend compte que des étapes les plus lentes intervenant à l'interface métal/solution.

En conséquence, nous avons tenté, à l'aide de techniques électrochimiques (courbes de polarisation potentiodynamique, résistances de polarisation et spectroscopie d'impédance), d'approcher les différents processus pouvant intervenir lors de l'inhibition de la corrosion de l'acier en milieu acide en utilisant l'extrait aqueux de chacune des trois parties de *Anacyclus pyrethrum*.

II.2.4.1 La cellule électrochimique

Les expériences électrochimiques sont effectuées dans une cellule en verre pyrex, thermostatée (à double paroi) et équipée d'un montage conventionnel à trois électrodes (figure II.1) :

- L'acier comme électrode de travail (**ET**). Celle-ci se présente sous la forme d'un disque que nous introduisons dans un porte échantillon en polytétrafluoroéthylène qui permet de délimiter une section plane dont la surface active est égale à $0,5 \text{ cm}^2$. Ce porte échantillon est disposé face à l'électrode auxiliaire.
- Le platine comme électrode auxiliaire (**CE**) et
- Une électrode au calomel $\text{Hg} / \text{Hg}_2\text{Cl}_2 / \text{KCl}$ saturé (**ECS**) comme électrode de référence (**ER**). Cette dernière est munie d'un capillaire de Luggin dont l'extrémité est placée à proximité de l'électrode de travail afin de minimiser l'influence de la chute ohmique.

L'électrolyte est une solution acide maintenue à la température constante voulue.

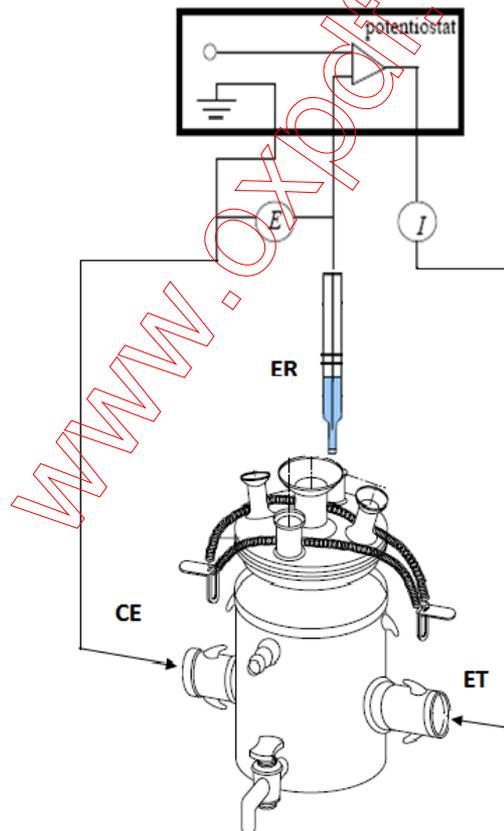


Figure II.1 : Dispositif de mesures électrochimiques

II.2.4.2 les courbes de polarisation

Les mesures électrochimiques sont réalisées à l'aide d'un montage comprenant un potentiostat-galvanostat PGZ 301 de type VOLTALAB 40 et de marque Radiometer, piloté par un logiciel d'analyse « VoltaMaster4 ».

Dans la méthode potentiodynamique, le potentiel appliqué à l'échantillon varie de façon continue de -750 à -300 mV vs ECS, avec une vitesse de balayage de 30 mV.mn^{-1} . Nous avons opté pour une vitesse de balayage relativement faible afin de maintenir un régime quasi-stationnaire.

Avant le tracé de ces courbes (cathodiques puis anodiques), l'électrode de travail est maintenue à son potentiel d'abandon pendant une heure.

La constance de la température envisagée de l'électrolyte est assurée grâce à un bain thermostaté à circulation de marque Julabo.

L'intensité de courant est mesurée entre l'électrode de travail et la contre-électrode de platine.

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 et par conséquent le taux d'inhibition dans les conditions opératoires utilisées.

II.2.4.3 La spectroscopie d'impédance électrochimique

Les mesures d'impédance électrochimique sont effectuées après une heure d'immersion en milieu acide sulfurique H_2SO_4 0.5M à la température d'étude désirée.

Le système électrochimique et les conditions opératoires utilisés sont les mêmes que ceux des courbes de polarisation.

L'amplitude de la tension sinusoïdale appliquée au potentiel de polarisation est de 20 mV crête à crête, à des fréquences comprises entre 10 kHz et 100 mHz, avec 5 points par décade.

Les mesures déterminées au potentiel d'abandon sont automatiquement traitées par le logiciel VoltaMaster 4.

A partir des diagrammes d'impédance réalisés au potentiel de corrosion (E_{corr}), nous accédons aux résistances de transfert de charge (R_t), aux capacités de la double couche (C_{dl}) et donc au taux d'inhibition dans les conditions opératoires utilisées.

II.2.4.4 Mesures des paramètres électrochimiques : formules utilisées

L'efficacité inhibitrice P% est déterminée à partir des relations suivantes:

- A partir des courbes de polarisation :

$$P (\%) = \left(1 - \frac{i'_{corr}}{i_{corr}}\right) \times 100 \quad (\text{II.1})$$

où :

i_{corr} et i'_{corr} représentent respectivement les densités de courant de corrosion déterminées par extrapolation des droites cathodiques de Tafel au potentiel de corrosion sans et avec addition de l'inhibiteur.

- Par les mesures des résistances de polarisation :

La détermination des résistances de polarisation est faite dans les mêmes conditions que celles du tracé des courbes de polarisation c'est à dire avec une vitesse de balayage de 0.5 mV/s qui nous a permis de nous placer dans des conditions quasi-stationnaires et d'avoir une bonne reproductibilité des résultats [30]. La mesure est réalisée dans un intervalle de potentiel de ± 10 mV centré au potentiel d'abandon.

L'efficacité inhibitrice est déterminée, dans ce cas, par la relation suivante:

$$P (\%) = \left(1 - \frac{R_p}{R'_p}\right) \times 100 \quad (\text{II.2})$$

où :

R_p et R'_p représentent respectivement les résistances de polarisation en absence et en présence de l'inhibiteur.

- A partir des mesures d'impédance électrochimique :

$$P (\%) = \left(1 - \frac{R'_t}{R_t}\right) \times 100 \quad (\text{II.3})$$

où :

R'_t et R_t représentent respectivement les valeurs de la résistance de transfert de charges en présence et en absence de l'inhibiteur.

Les valeurs de la résistance de transfert de charges sont calculées à partir de la différence d'impédance aux hautes et basses fréquences sur l'axe des réels [31].

La capacité de la double couche C_{dl} est déterminée à partir de l'élément constant de phase (CPE) dont l'impédance d'un tel élément est donnée par Z_{CPE} est décrit par des expressions [32]

$$Z_{CPE} = Q^{-1} (j\omega)^{-n} \quad (II.4)$$

$$Q = \frac{(C R_t)^n}{R_t} \quad (II.5)$$

où :

Q est un facteur de proportionnalité, tandis que n a une signification de déphasage. L'équation ci-dessus (II.5) fournit des informations au sujet du degré de non idéalité dans le comportement de la capacité. Sa valeur permet de différencier entre le comportement d'un condensateur idéal à $n = 1$ et d'un CPE lorsque $n < 1$.

Soulignons que les valeurs de Q et n sont déterminées par "fittage" de nos résultats expérimentaux par rapport au circuit électrique approprié en utilisant le logiciel Z-view.

www.oxpdf.com

II.3. Résultats et discussions.

II.3.1. Influence de la concentration de l'inhibiteur

Les courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier doux en milieu H_2SO_4 0.5M à 30 °C, en absence et en présence de l'extrait aqueux des feuilles/tiges (LS) de la plante à différentes concentrations sont présentées dans la figure II.2 et celles obtenues en présence des extraits des trois parties (LS, F et R) à la concentration optimale dans la figure II.3

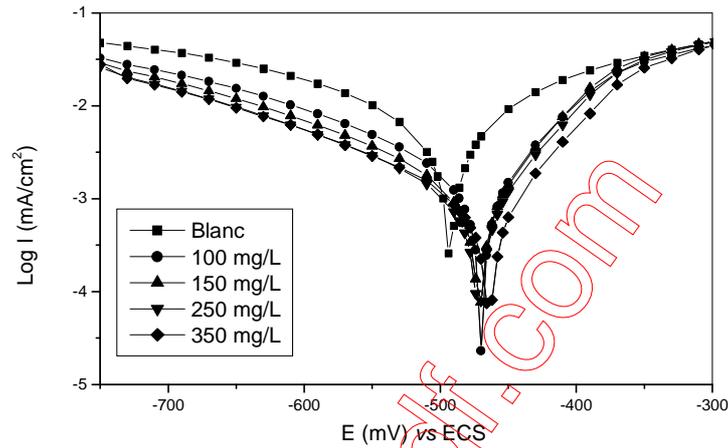


Figure II.2 : Courbes de polarisation de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M sans et avec addition de l'extrait LS à différentes concentrations et à $T = 30^\circ C$

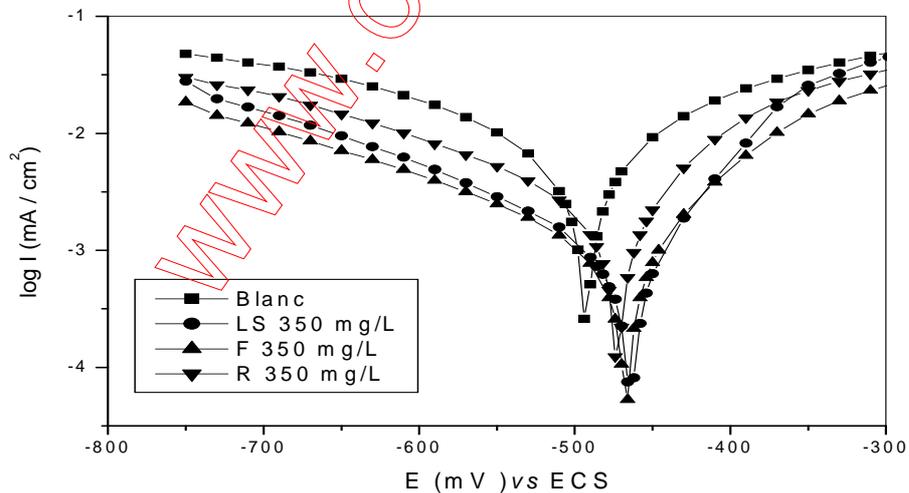


Figure II.3 : Courbes de polarisation de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M sans et avec addition des extraits des trois parties (LS, F et R) de la plante à 350mg/L et à $T = 30^\circ C$.

Le tableau II.2 rassemble les valeurs associées aux paramètres électrochimiques déterminées à partir de ces courbes ainsi que l'efficacité inhibitrice de la corrosion obtenue à partir des formules (I.1) et (I.2) sus citées.

Tableau II.2 : Paramètres électrochimiques de l'acier dans H₂SO₄ 0.5M sans et avec addition de l'inhibiteur à différentes concentrations à 30°C.

	Conc. (mg/L)	E _{corr} (mV vs ECS)	I _{corr} (mA /cm ²)	b _c (mV/dec)	P% (I _{corr})	R _p (Ω. Cm ²)	P% (R _p)
Blanc	----	-494	8.22	285	---	6.35	---
Feuilles /tiges (LS)	100	-470	2.63	232	68.00	14.39	55.87
	150	-470	2.04	234	75.20	19.54	67.50
	250	-469	1.51	222	81.64	24.13	73.68
	350	-469	1.48	229	82.00	26.60	76.13
Fleurs (F)	100	-475	2.23	253	72.87	19.21	66.94
	150	-468	1.74	245	78.83	21.80	70.87
	250	-475	1.38	240	83.21	30.32	79.5
	350	-474	1.29	245	84.30	31.41	79.78
Racines (R)	100	-484	3.02	215	63.26	11.07	42.63
	150	-473	2.62	227	68.13	14.23	55.37
	250	-482	2.50	238	69.60	13.69	53.61
	350	-480	1.65	200	79.92	17.71	64.14

Nous remarquons d'après le Tableau II.2 qu'en présence de l'inhibiteur :

- On assiste à un déplacement des deux branches de la courbe de polarisation (anodiques et cathodiques). Ce résultat montre que l'ajout de l'extrait aqueux des différentes parties de la plante réduit la dissolution anodique et retarde également la réaction de dégagement d'hydrogène

- Les valeurs du potentiel de corrosion varient régulièrement vers les potentiels anodiques par rapport au potentiel de corrosion d'acier en présence d'acide seul. Cette observation montre clairement que les molécules de l'extrait aqueux de la plante sous investigation peuvent être classées comme inhibiteur de corrosion mixte avec une tendance anodique.

- Les valeurs des pentes de Tafel cathodiques varient dans l'intervalle 285-200 mV/décade. Ceci indique que la présence de l'inhibiteur agit sur le mécanisme de la réaction de réduction de H⁺ à la surface de l'acier doux. Un comportement de ce type a été également observé dans de nombreux travaux. Citons dans ce contexte, à titre d'exemple le comportement de l'acier XC38 dans l'acide sulfurique en présence du 2-Mercapto-1-methyl Imidazole [33].

- L'addition de l'extrait aqueux au milieu corrosif conduit à une diminution des densités de courant de corrosion au fur et à mesure que la concentration en inhibiteur augmente et par conséquent une augmentation des résistances de polarisation.

- Les efficacités inhibitrices des extraits des trois parties augmentent avec la concentration et atteignent approximativement 82% pour l'extrait LS, 84% pour l'extrait F et 80% pour l'extrait R à 350 mg/L.

Concernant les mesures d'impédance électrochimique, les figures II.4 et II.5 représentent respectivement, les diagrammes de Nyquist de l'acier doux dans une solution H_2SO_4 0.5M non désaérée en absence et en présence des molécules inhibitrices LS de l'extrait aqueux à différentes concentrations et ceux en présence des extraits des trois parties (LS, F et R) à la concentration optimale.

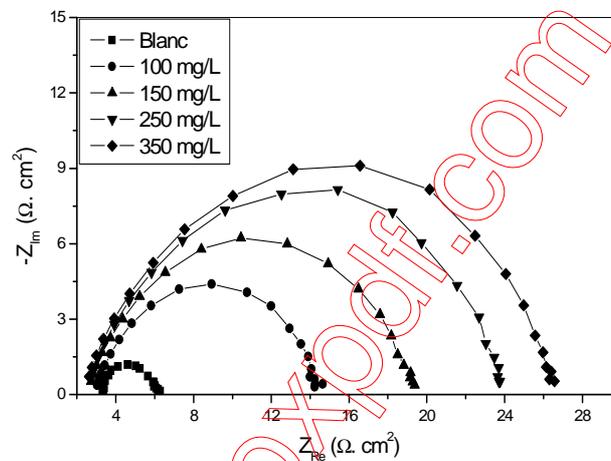


Figure II.4 : Spectres d'impédance de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M sans et avec addition de la partie LS à différentes concentrations à $T = 30^\circ C$.

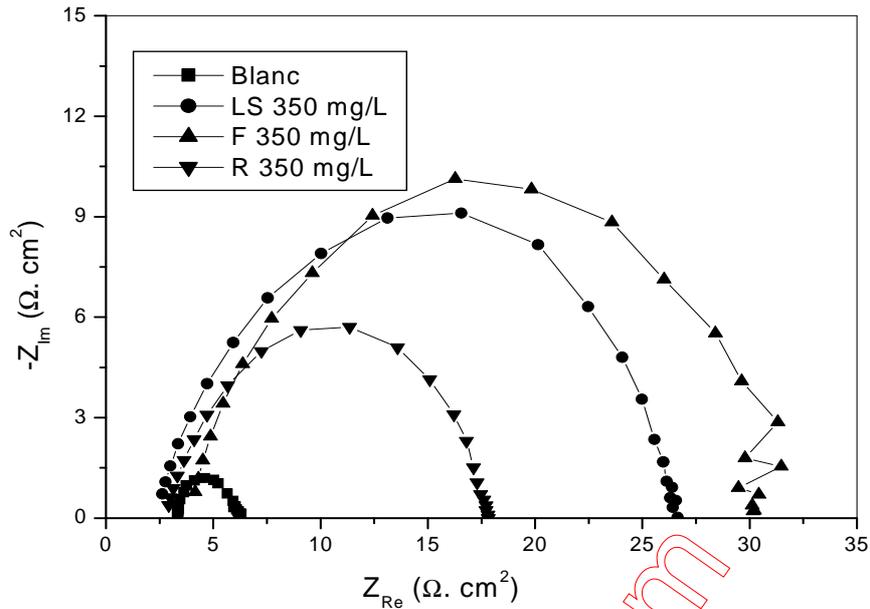


Figure II.5 : Spectres d'impédance de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M sans et avec addition des extraits des trois parties (LS, F et R) de la plante à 350 mg/L et à $T = 30^\circ C$.

Nous remarquons, pour toutes les concentrations des différents extraits, la présence d'une seule boucle capacitive correspondant à la résistance de transfert de charge (R_t). A partir de ces diagrammes réalisés aux potentiels d'abandon (potentiel de corrosion), nous avons pu accéder aux valeurs de la résistance de transfert de charge R_t et de la capacité de la double couche C_{dl} et par conséquent à l'efficacité inhibitrice de l'extrait dans les conditions opératoires considérées.

La capacité de la double couche C_{dl} est déterminée à partir de l'élément constant de phase (CPE) comme a été détaillé précédemment.

Les paramètres relatifs aux mesures des impédances électrochimiques de l'acier en milieu H_2SO_4 0.5M avec et sans extrait aqueux sont regroupés dans le tableau II.3 à partir duquel nous pouvons faire les remarques suivantes :

Tableau II.3 : Paramètres électrochimiques et efficacités inhibitrices pour différentes concentrations des extraits aqueux pour la corrosion de l'acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M à T = 30°C.

	Conc. (mg/ L)	Q (s ⁿ Ω ⁻¹ .cm ⁻²)	n	R _t (Ω.cm ²)	C _{dl} (μ F cm ⁻²)	P (%)
Blanc	-----	0.00100	0.81	3.13	259	-----
Feuilles	100	0.00030	0.81	11.69	80	73.22
/tiges	150	0.00028	0.78	17.08	62	81.67
(LS)	250	0.00021	0.79	21.65	50	85.54
	350	0.00021	0.78	24.11	47.28	87.01
Fleurs	100	0.00028	0.79	15.14	65.31	79.33
(F)	150	0.00024	0.78	18.80	52.31	83.35
	250	0.00016	0.80	26.60	40.87	88.23
	350	0.00018	0.79	28.14	44.17	88.88
Racines	100	0.00040	0.82	7.73	114.12	64.52
(R)	150	0.00038	0.80	10.45	95.39	70.04
	250	0.00037	0.80	11.10	92.40	71.80
	350	0.00030	0.81	15.12	86.71	79.30

- La résistance de transfert de charge augmente avec la concentration de l'inhibiteur tandis que la capacité de la double couche diminue au fur et à mesure que la quantité de l'inhibiteur croît. La diminution de C_{dl} est due à l'adsorption de l'inhibiteur à la surface de l'acier qui a pour effet de réduire la constante diélectrique du milieu ε, et/ou d'augmenter l'épaisseur de la double couche électrique d ($C_{dl} = \frac{\epsilon\epsilon_0}{d}$).

Le comportement électrochimique au potentiel d'abandon, peut être décrit par un schéma électrique équivalent simple constitué par une capacité en parallèle avec une résistance, le tout en série avec la résistance de l'électrolyte.

- Les efficacités inhibitrices augmentent avec la concentration de l'inhibiteur pour atteindre respectivement une valeur maximale de 87.01%, 88.88% et 79.30% à 350 mg /L pour les extraits aqueux LS, F et R. Ces résultats sont en bon accord avec ceux déterminés à partir des courbes de polarisation.
- De plus, on remarque que les extraits des parties aériennes (LS et F) sont plus efficaces que l'extrait de la partie sous terrain (R).

L'analyse des diagrammes d'impédance conduit à la recherche des schémas électriques équivalents susceptibles de traduire le comportement de l'interface métal/solution, compatibles avec l'allure des courbes courant- tension stationnaires.

Ainsi, le circuit équivalent permettant la bonne description de ces types de spectres d'impédances est donné dans la figure II.6 où l'ensemble constitué d'un élément constant de phase (CPE) en parallèle à une résistante correspondante à une résistance de transfert de charge (R_t), est en série avec une autre résistance de faible valeur correspondant à la résistance d'électrolyte de la solution (R_s).

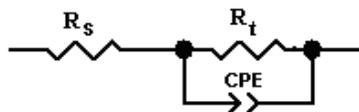


Figure II.6 : Circuit équivalent utilisé pour “fitter” les spectres d'impédance.

II.3.2. Isothermes d'adsorption

L'inhibition de la corrosion des métaux par un extrait aqueux d'une plante contenant différentes familles chimiques est expliquée par l'adsorption de ses composés organiques.

La nature physique ou chimique de l'adsorption dépend de plusieurs paramètres à savoir : la nature du métal et sa charge, la structure chimique des molécules organiques ainsi que le type de l'électrolyte.

La plupart des études sur le mécanisme d'action des inhibiteurs de corrosion montrent que le processus d'adsorption chimique est dû à un transfert ou une mise en commun d'électrons entre les molécules de l'inhibiteur et les atomes du métal possédant des orbitales vacantes “ d ” formant ainsi des liaisons de coordination. Le transfert d'électrons se fait avec les orbitales des molécules organiques ayant des électrons non liants, des liaisons multiples ou des noyaux aromatiques possédant des électrons π .

L'existence d'un groupement fonctionnel dans une molécule organique ainsi que la présence d'hétéroatomes ayant des doublets électroniques non liants, sont considérés comme le centre actif d'une adsorption chimique. Dans le cas de composés aromatiques, la densité électronique sera affectée par l'introduction de substituants, ce qui influe sur l'efficacité inhibitrice de la corrosion.

L'efficacité inhibitrice peut également être due à la taille des molécules se trouvant dans un extrait et qui retardent ainsi la corrosion en recouvrant de vastes zones sur la surface métallique [34]

Le taux de recouvrement (θ) pour différentes concentrations de l'extrait aqueux de chacune des trois parties de la plante en milieu acide est évalué en adoptant la spectroscopie d'impédance électrochimique comme méthode d'étude, on peut écrire :

$$\theta = 1 - R_t / R'_t \quad (\text{II.6})$$

où : R_t et R'_t sont respectivement, les résistances de transfert de charge de l'acier doux en absence et en présence de l'extrait aqueux.

Les lois de variation de la quantité adsorbée en fonction de la concentration de l'inhibiteur en solution pour une température donnée peuvent être décrites par des isothermes d'adsorption. Pour décrire ces isothermes, plusieurs modèles théoriques ont été développés.

Au cours de cette étude, c'est l'isotherme de Langmuir qui a été testé. Dans ce cas, le taux de recouvrement de la surface métallique est donné par la relation :

$$\theta = \frac{KC}{KC + 1} \quad (\text{II.7})$$

où :

K : le coefficient d'adsorption ou la constante d'équilibre du processus d'adsorption

C : la concentration de l'inhibiteur.

La relation (II.7) donne :

$$\frac{C}{\theta} = \frac{1}{K} + C \quad (\text{II.8})$$

Pour le traçage d'une isotherme à une température donnée, la valeur du taux de recouvrement θ relative à chaque concentration de l'inhibiteur doit être préalablement calculée à partir de l'équation (II.6).

Les variations du rapport $\frac{C}{\theta}$ en fonction de la concentration C de l'extrait aqueux de chacune des trois parties de la plante sont représentées dans la figure II.7

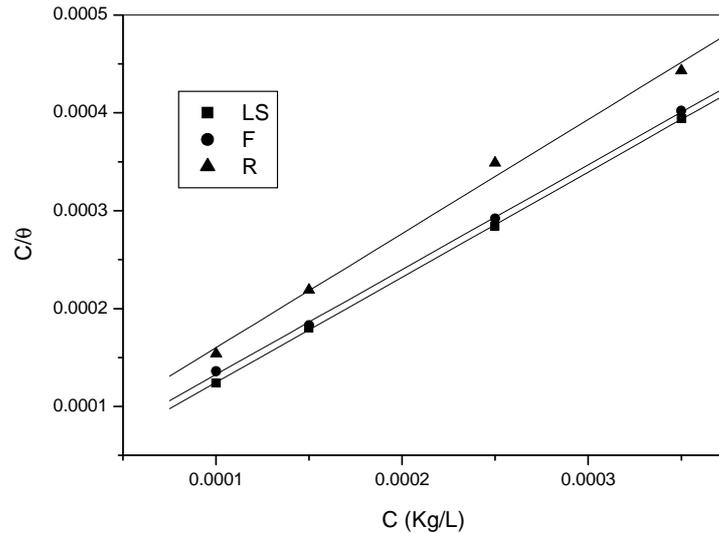


Figure II.7 : Isothermes d'adsorption de Langmuir de l'acier dans H_2SO_4 0.5M en présence des extraits aqueux LS, F et R à $T=30^\circ C$.

Le tracé de ces courbes montre que ces variations sont linéaires avec une valeur du coefficient de régression très proche de l'unité (de l'ordre de 0.999). Cela montre que l'adsorption de l'extrait aqueux de chacune des trois parties de la plante sur la surface de l'acier en milieu H_2SO_4 0.5M obéit à l'isotherme d'adsorption de Langmuir.

Les valeurs des constantes d'adsorption des différentes parties de la plante qui sont obtenues en extrapolant les droites des isothermes d'adsorption de Langmuir par rapport à l'axe $\frac{C}{\theta}$, sont de l'ordre de 2.3×10^4 pour les feuilles/tiges (LS), 3.8×10^4 pour les fleurs (F) et de 5.85×10^4 L/Kg pour les racines (R). Les valeurs assez élevées de K sont une caractéristique d'une forte adsorption chimique de l'inhibiteur à la surface de l'acier [35].

Par ailleurs, la constante d'adsorption K est liée à l'énergie libre standard d'adsorption (ΔG°_{ads}) par l'équation suivante :

$$K = \frac{1}{55,5} \exp\left(\frac{-\Delta G^\circ_{ads}}{RT}\right) \quad (II.9)$$

Les valeurs de l'énergie libre standard d'adsorption ΔG°_{ads} calculées à partir de la formule (II.9) pour les différentes parties de la plante sont : - **35.41 kJ/mol** pour l'extrait LS, - **36.74 kJ/mol** pour l'extrait F et - **37.77 kJ/mol** pour la l'extrait R. L'examen de ces valeurs montre qu'elles sont négatives et voisines de - 40 kJ/mole.

Le signe négatif de $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$ indique la spontanéité du processus d'adsorption et la stabilité de la double couche adsorbée sur la surface métallique.

Par ailleurs, plusieurs chercheurs [26, 36, 37, 38, 39] ont montré que des valeurs de $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$ voisines ou supérieures à -20 kJ.mol^{-1} sont généralement liées à des interactions électrostatiques entre les molécules chargées et les charges du métal (physisorption). En revanche, des valeurs de $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$ voisines ou inférieures à -40 kJ/mole correspondent à un transfert de charges entre les molécules de l'inhibiteur et la surface du métal avec formation de liaisons covalentes (chimisorption).

Dans notre cas, les valeurs de $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$ calculées sont très proches de -40 kJ mol^{-1} , montrant que les molécules de l'extrait aqueux sont chimisorbées sur la surface métallique.

Enfin, nous pouvons dire que l'étude de l'adsorption constitue une approche intéressante afin de proposer le mécanisme probable d'inhibition de corrosion de l'acier dans une solution d'acide sulfurique.

Le screening phytochimique de l'extrait aqueux de la plante sous investigation a permis la mise en évidence de plusieurs familles chimiques (polyphénols, alcaloïdes, saponosides, acides aminés...). Dans le milieu acide considéré, les molécules appartenant à ces familles de composés hétérocycliques peuvent être adsorbées sous forme de molécules neutres par l'intermédiaire d'une chimisorption impliquant la mise en commun des doublets électroniques libres des hétéroatomes (l'azote dans les alcaloïdes, l'oxygène et le groupement hydroxyle - OH dans les tanins et les flavonoïdes..) existants dans la molécule et le métal. L'adsorption des molécules de l'extrait peut se produire également suite aux interactions des électrons π du noyau aromatique de la molécule et l'acier [40].

La chimisorption pourrait être due aussi au groupement amine ($-\text{NH}_2$) des acides aminés. En effet, en raison de la protonation de la fonction amine dans une solution acide, les molécules inhibitrices s'adsorbent sur la surface de l'acier doux [34]. Les espèces protonées peuvent donc, rivaliser avec la réduction des ions H^+ de l'acide en contrôlant la réaction cathodique [41].

L'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux est le résultat d'une synergie obtenue par des composés possédant plusieurs groupements fonctionnels: C'est l'effet de synergie intramoléculaire, comme elle peut être due à une synergie intermoléculaire [42].

II.3.3. Etude de l'influence de quelques paramètres sur l'inhibition de corrosion de l'extrait aqueux LS de la plante

II.3.3.1. Influence du temps d'immersion

L'étude du mécanisme d'inhibition par les mesures d'impédance électrochimiques prouve que cette technique est particulièrement adaptée à la détermination du mode d'action des inhibiteurs, et à l'évaluation des caractéristiques diélectriques du film formé et permet de suivre leur évolution en fonction de nombreux paramètres. Elle permet aussi d'explicitier les processus chimiques ou électrochimiques se développant à travers les films formés.

Le suivi de l'évolution de la résistance de transfert de charge (R_t) de l'acier ainsi que la capacité de la double couche (C_{dl}) en fonction du temps d'immersion dans le milieu corrosif avec et sans addition de l'inhibiteur permet d'avoir des notions importantes sur la stabilité du film ainsi formé lors du phénomène d'inhibition.

Dans notre cas, les diagrammes d'impédance ont été réalisés au potentiel de corrosion E_{corr} et les valeurs de R_t et C_{dl} dans les conditions opératoires utilisées à différents temps d'immersion ont été obtenues en se servant des formules citées précédemment.

Le choix de la concentration de 350 mg/L de l'extrait aqueux LS est justifié par le fait, qu'à cette concentration, l'efficacité est maximale.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau II.4

Les figures II.8(a) et II.8(b) représentent les différents spectres d'impédance électrochimique obtenus en fonction du temps d'immersion de l'acier dans la solution en absence et en présence de l'extrait aqueux LS à sa concentration optimale et à $T=30^\circ\text{C}$.

Tableau II.4 : Paramètres électrochimiques à différents temps d'immersion pour l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M seul et en présence de l'extrait aqueux LS à 350 mg /L pour $T = 30^\circ C$

Temps d'immersion (min)		R_t (Ωcm^2)	C_{dl} ($\mu F cm^{-2}$)	P (%)
5	Blanc	4.11	63.11	---
	350mg/L	17.36	35.46	76.32
15	Blanc	3.09	89.81	----
	350mg/L	19.24	37.94	83.94
30	Blanc	2.97	164.20	----
	350mg/L	21.84	40.93	86.40
60	Blanc	3.13	259	----
	350mg/L	24.11	47.28	87.01
120	Blanc	3.10	373.93	----
	350mg/L	26.45	52.38	88.23
240	Blanc	2.74	594.27	----
	350mg/L	28.74	24.68	90.46

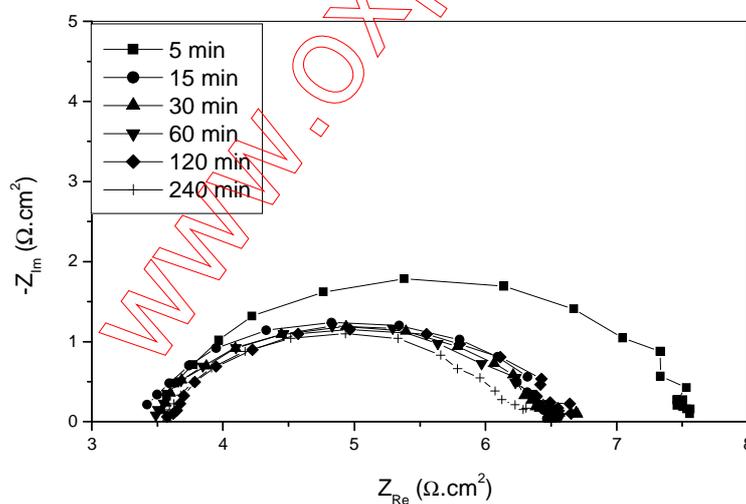


Figure II.8 (a) : Digrammes de Nyquist à différents temps d'immersion de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M seul, à $T = 30^\circ C$

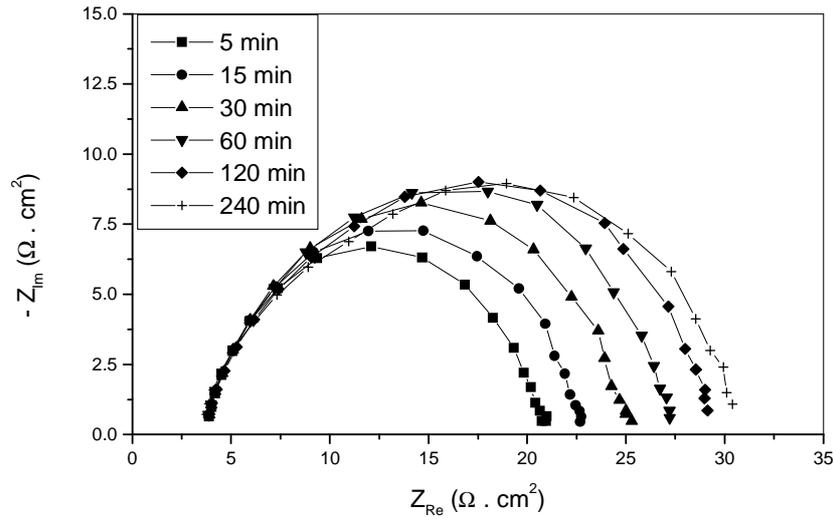


Figure II.8 (b) : Digrammes de Nyquist à différents temps d'immersion de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M en présence de l'extrait LS à 350mg/L, à $T = 30^\circ C$

L'analyse de ces figures nous permet de constater qu'en présence de l'inhibiteur à sa concentration optimale, la résistance de transfert de charge (R_t) de l'acier ainsi que l'efficacité inhibitrice ($P\%$) qui en résulte, augmentent avec le temps d'immersion. Cette dernière passe de 76% à 91% après quatre heures d'immersion. Contrairement, à ces deux paramètres, on remarque que la capacité de la double couche (C_{dl}) augmente d'une manière importante en absence de l'inhibiteur qu'en sa présence.

En outre, l'écart entre les valeurs de la capacité de la double couche de l'acier, en présence et en absence de l'inhibiteur pour le même temps d'immersion, augmente au fur et à mesure que ce dernier augmente. Cette augmentation est peut-être due au remplacement des molécules du solvant (l'eau) par les molécules de l'extrait aqueux sur la surface métallique, d'où la formation d'un film stable diminuant ainsi la vitesse des réactions de dissolution du métal [43, 44].

Les figures II.9(a) et II.9(b) présentent respectivement, la variation de la résistance de transfert de charge (R_t) et la capacité de la double couche (C_{dl}) de l'acier en absence et en présence de l'extrait à la concentration optimale.

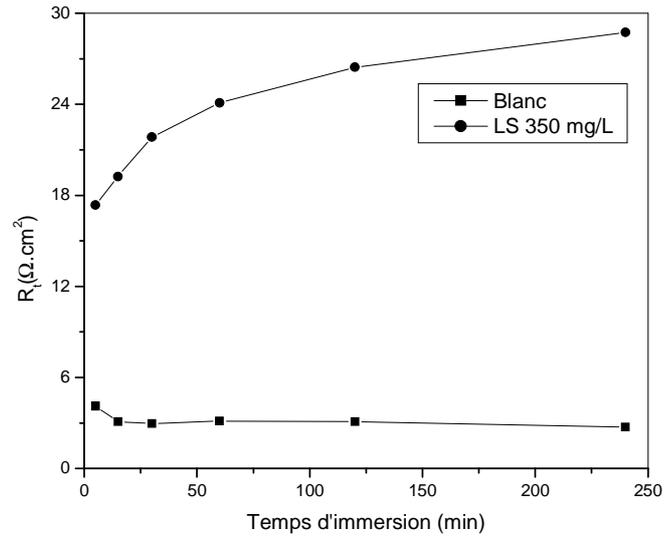


Figure II.9 (a) : Variation de la résistance de transfert de charge de l'acier en absence et en présence de l'extrait LS à 350mg/L, à T = 30°C

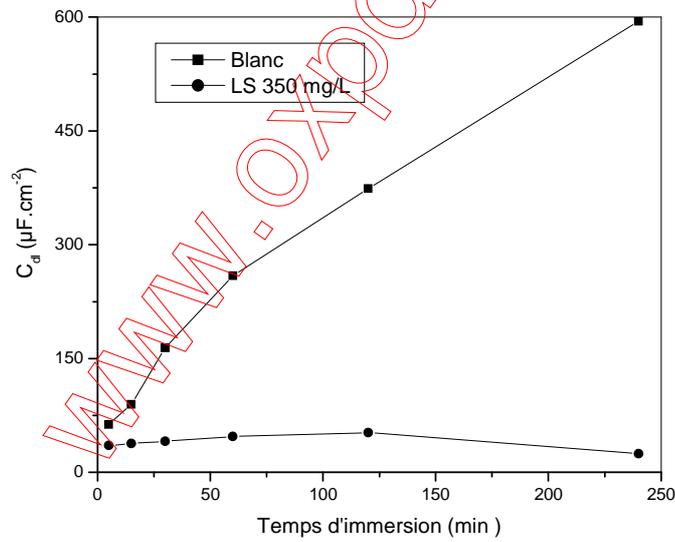


Figure II.9 (b) : Variation de la capacité de la double couche (C_{dl}) de l'acier en absence et en présence de l'extrait LS à 350mg/L, à T = 30°C

II.3.3.2. Influence de la température

La température est l'un des facteurs susceptibles de modifier à la fois le comportement d'un acier dans un milieu corrosif et la nature de l'interaction métal/inhibiteur.

L'augmentation de la température peut avoir une incidence importante sur la formation du film inhibiteur. En effet, une élévation de température favoriserait la désorption de l'inhibiteur ainsi qu'une dissolution rapide des composés organiques ou des complexes formés, provoquant ainsi un affaiblissement de la résistance à la corrosion de l'acier [45].

Afin d'examiner l'influence de ce paramètre sur l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (LS) de la plante à différentes concentrations, nous avons effectué des mesures électrochimiques stationnaires en mode potentiodynamique dans un intervalle de températures, allant de 25 à 40°C pendant une durée d'immersion d'une heure.

Nous avons donc tracé les courbes de polarisation de l'acier sans et avec ajout de l'extrait aqueux LS (figures II.10 et II. 11).

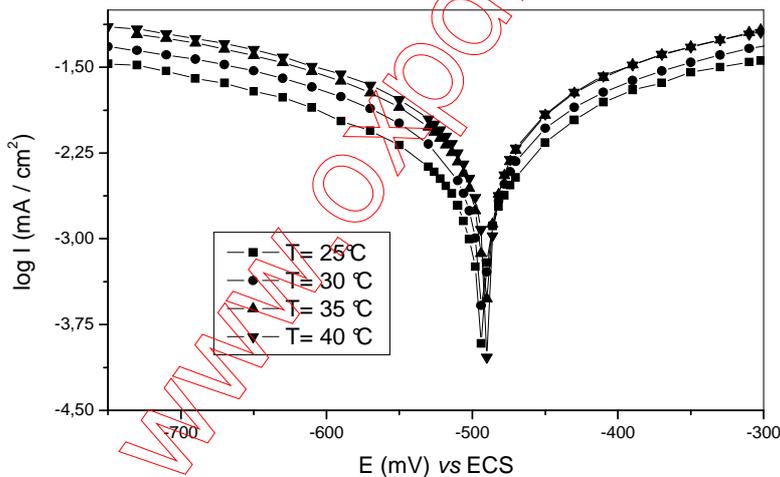


Figure II.10 : Effet de la température sur les courbes de polarisation de l'acier en milieu H_2SO_4 0.5M.

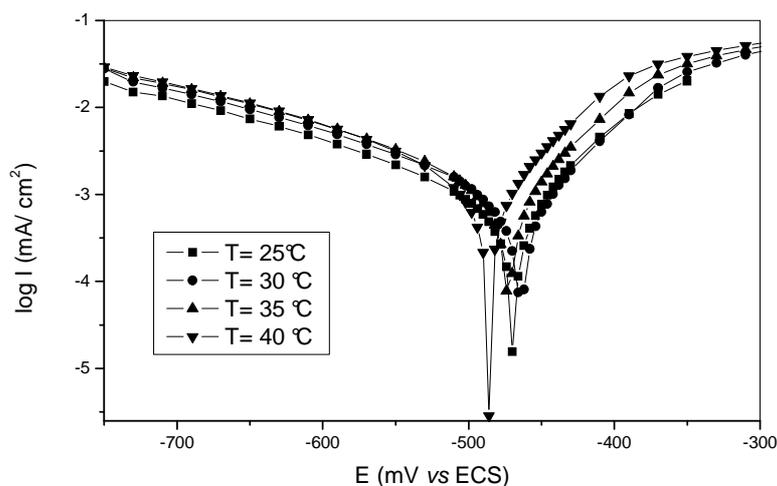


Figure II.11 : Effet de la température sur les courbes de polarisation de l'acier en milieu H_2SO_4 0.5M en présence de l'extrait LS à 350 mg/L.

Les valeurs des paramètres électrochimiques ainsi que celles des efficacités inhibitrices correspondant à la corrosion de l'acier dans H_2SO_4 0.5M sans et avec ajout de l'extrait LS à différentes concentrations et à différentes températures sont rassemblées dans le tableau II.5

La figure II.12 illustre la variation de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux LS en fonction de la concentration à différentes températures

L'analyse de ces résultats montre que :

- Le potentiel de corrosion se déplace très légèrement vers les valeurs positives dans le milieu acide seul alors qu'en présence de l'extrait, les valeurs du potentiel de corrosion restent presque constantes. Selon Plusieurs chercheurs [8, 44], une variation de l'ordre de ± 10 mV est non significative, d'où, on peut dire que le potentiel de corrosion peut être considéré comme constant en absence et en présence de l'extrait.
- La densité de courant de corrosion croît avec l'augmentation de la température aussi bien en absence qu'en présence de l'extrait. Toutefois, cette augmentation est plus rapide en absence de l'inhibiteur confirmant ainsi une dissolution métallique croissante quand la température augmente
- L'efficacité inhibitrice augmente nettement avec la température pour atteindre 87% à 40°C pour une concentration de 350 mg/L.

Ces résultats confirment l'efficacité de l'extrait aqueux LS en tant qu'un bon inhibiteur dans l'intervalle des températures choisies. Plusieurs auteurs ont attribué ce phénomène à :

- ✓ L'existence d'interactions spécifiques entre la surface du métal et l'inhibiteur [46].
- ✓ L'augmentation de la densité électronique au voisinage des centres d'adsorption et par conséquent du taux de recouvrement de la surface par l'inhibiteur quand la température augmente [47, 48].
- ✓ La transformation de la nature de l'adsorption qui passe d'une physisorption à basse température vers une chimisorption aux températures élevées [49]

Tableau II.5 : Paramètres électrochimiques et efficacités inhibitrices de la corrosion de l'acier dans H₂SO₄ 0.5M sans et avec ajout de l'extrait LS à différentes concentrations et à différentes températures.

Conc. (mg/L)	Temp. (°C)	E_{corr} vs ECS (mV)	I_{corr} (μA cm⁻²)	P (%)
Blanc	25	-497	5.01	----
	30	-494	8.22	----
	35	-490	10.92	----
	40	-490	13.49	----
100	25	-469	1.65	67.07
	30	-470	2.63	68.00
	35	-474	3.02	72.34
	40	-470	3.80	71.83
150	25	-470	1.55	69.06
	30	-470	2.04	75.20
	35	-474	2.45	77.56
	40	-470	2.69	80.06
250	25	-474	1.15	77.05
	30	-469	1.51	81.64
	35	-474	1.82	83.33
	40	-470	2.04	84.88
350	25	-474	1.10	78.08
	30	-469	1.48	82.00
	35	-474	1.63	85.07
	40	-486	1.77	86.88

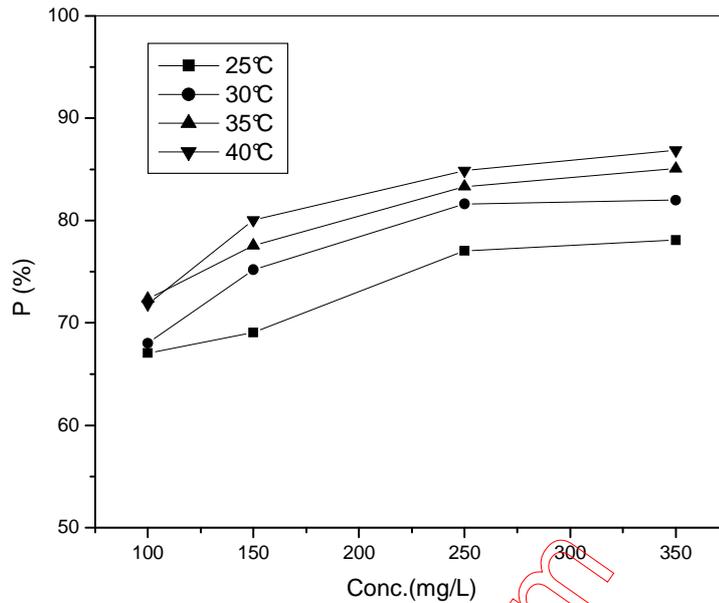


Figure II.12 : Variation de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux LS en fonction de la concentration à différentes températures

D'autre part et dans le but de déterminer les paramètres d'activation du processus de corrosion, d'autres mesures électrochimiques ont été faites aux différentes températures précédentes, en absence et en présence du même extrait. En effet, l'énergie d'activation (E_a) a été déterminée en utilisant les valeurs de I_{corr} obtenues à partir des courbes de polarisation tracées à différentes températures.

Dans ce cas, la loi d'Arrhénius permet d'écrire [50] :

$$I_{corr} = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\text{II.10})$$

d'où :

$$\log I = -\frac{E_a}{2.303 RT} + \log A \quad (\text{II.11})$$

où :

E_a : l'énergie d'activation ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)

R : la constante des gaz parfaits ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)

T : la température absolue (K).

A : un facteur pré exponentiel.

D'autre part, on a [51] :

$$\log \frac{I}{T} = -\frac{\Delta H_a^0}{2.303 R T} + B \quad (\text{II.12})$$

L'enthalpie d'activation (ΔH_a^0) est obtenue à partir de la relation [52] :

$$\Delta H_a^0 = E_a - RT \quad (\text{II.13})$$

Les figures II.13 et II.14 montrent respectivement la variation du logarithme de la densité du courant de corrosion $\text{Log}(i_{\text{corr}})$ et $\text{Log}(i_{\text{corr}}/T)$ de l'acier doux dans H_2SO_4 seul et en présence de l'extrait aqueux LS à différentes concentrations, en fonction de l'inverse de la température absolue ($1/T$).

Nous remarquons que les variations $\text{Log}(i_{\text{corr}}) = f(1/T)$ et $\text{Log}(i_{\text{corr}}/T) = f(1/T)$ sont sensiblement linéaires dont le coefficient de régression est de l'ordre de 0.99 et qu'elles obéissent à la loi d'Arrhénius aussi bien en absence qu'en présence de l'extrait aqueux LS.

Ce résultat nous a permis de calculer les énergies d'activation apparentes, les facteurs pré-exponentiels et les enthalpies de dissolution de l'acier en absence et en présence de l'inhibiteur.

Les valeurs des grandeurs thermodynamiques relatives à cet inhibiteur tirées à partir des figures II.13 et II.14 et celles obtenues en se servant de la relation (II.13), sont données dans le Tableau II.6.

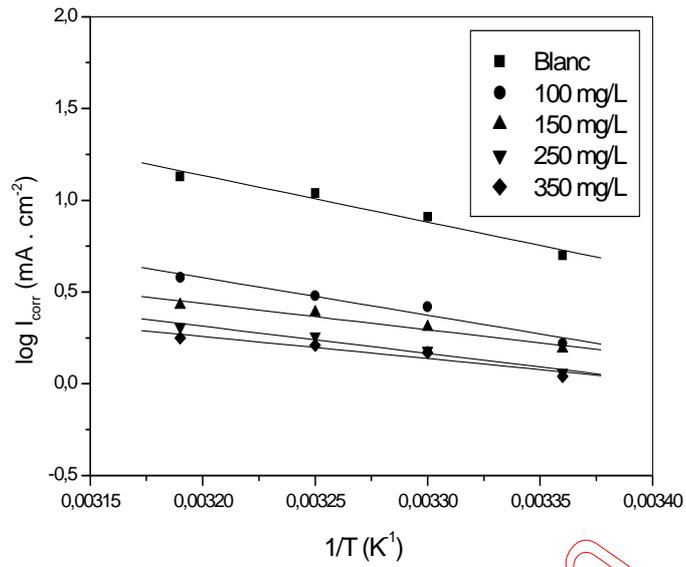


Figure II.13 : Evolution de $\text{Log}(i_{\text{corr}}) = f(1/T)$

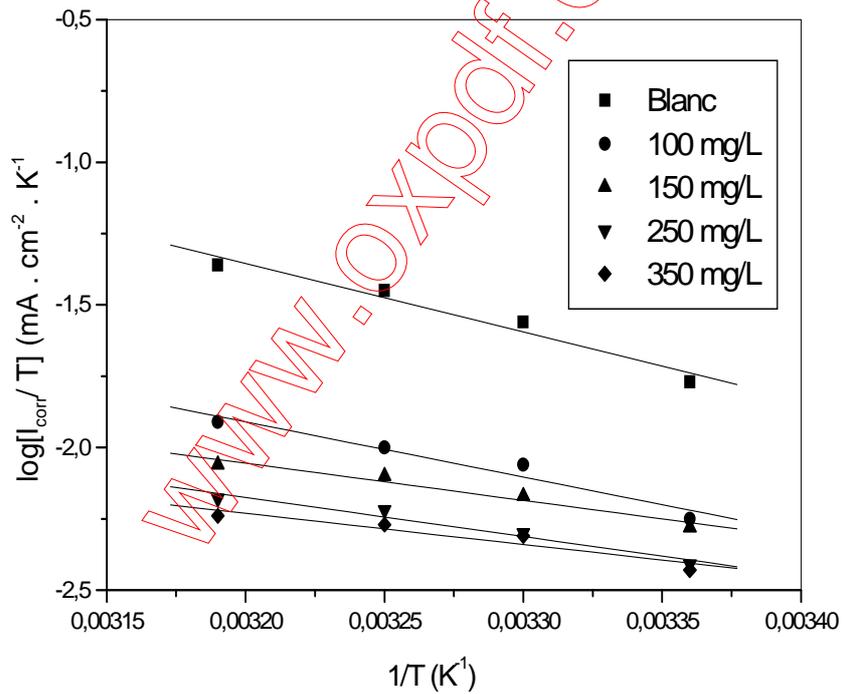


Figure II.14 : Evolution de $\text{Log}(i_{\text{corr}}/T) = f(1/T)$

Figures II.13 et II.14 : Effet de la température sur la vitesse de corrosion de l'acier doux dans H_2SO_4 0.5M en absence et en présence de l'extrait LS à différentes concentrations.

Tableau II.6 : Paramètres d'activation du processus de corrosion de l'acier doux dans H₂SO₄ 0.5M en absence et en présence de l'extrait LS à différentes concentrations

Conc. (mg/L)	E _a (kJ.mol ⁻¹)	A (mA.cm ²)	ΔH° _a (kJ mol ⁻¹)	ΔH° _a (équation (II.13)) (kJ mol ⁻¹)
Blanc	48.63	1.84×10 ¹⁰	45.85	46.11
100	39.14	1.30×10 ⁷	37.07	36.62
150	27.32	1.00×10 ⁵	24.94	24.80
250	28.33	1.12×10 ⁵	26.27	25.81
350	22.98	1.25×10 ⁴	20.91	20.46

A partir des résultats du tableau II.6, nous remarquons que :

- les valeurs des énergies d'activation, des facteurs pré exponentiels ainsi que celles des enthalpies de dissolution de l'acier en présence de l'extrait aqueux LS sont inférieures à celles correspondant à l'acide H₂SO₄ 0.5M seul.
- D'autre part, les enthalpies d'activation obtenues à partir du graphe $\text{Log}(i_{\text{corr}}/T) = f(1/T)$ et de la formule (II.13) sont en bonne concordance. Les valeurs positives de ces enthalpies indiquent la nature endothermique du processus de dissolution de l'acier.
- Notons que la diminution de l'énergie d'activation en présence de l'extrait aqueux peut être attribuée à la chimisorption de l'inhibiteur sur la surface de l'acier doux [53, 54]. Selon de Souza et coll. [15], les faibles valeurs de l'énergie d'activation obtenues en présence de l'extrait aqueux par rapport à celles dans l'acide seul, indiquent une chimisorption de l'inhibiteur. Les inhibiteurs de ce type sont très efficaces ; les molécules organiques contenues dans l'extrait s'adsorbent à la surface métallique en formant des liaisons datives fortes et l'adsorption est de nature chimique [55].

II.3.3.3 Isothermes d'adsorption

Le taux de recouvrement (θ) pour différentes concentrations de l'extrait LS en milieu acide est évalué à partir des mesures électrochimiques des courbes de polarisation en utilisant l'équation (II.14) [56].

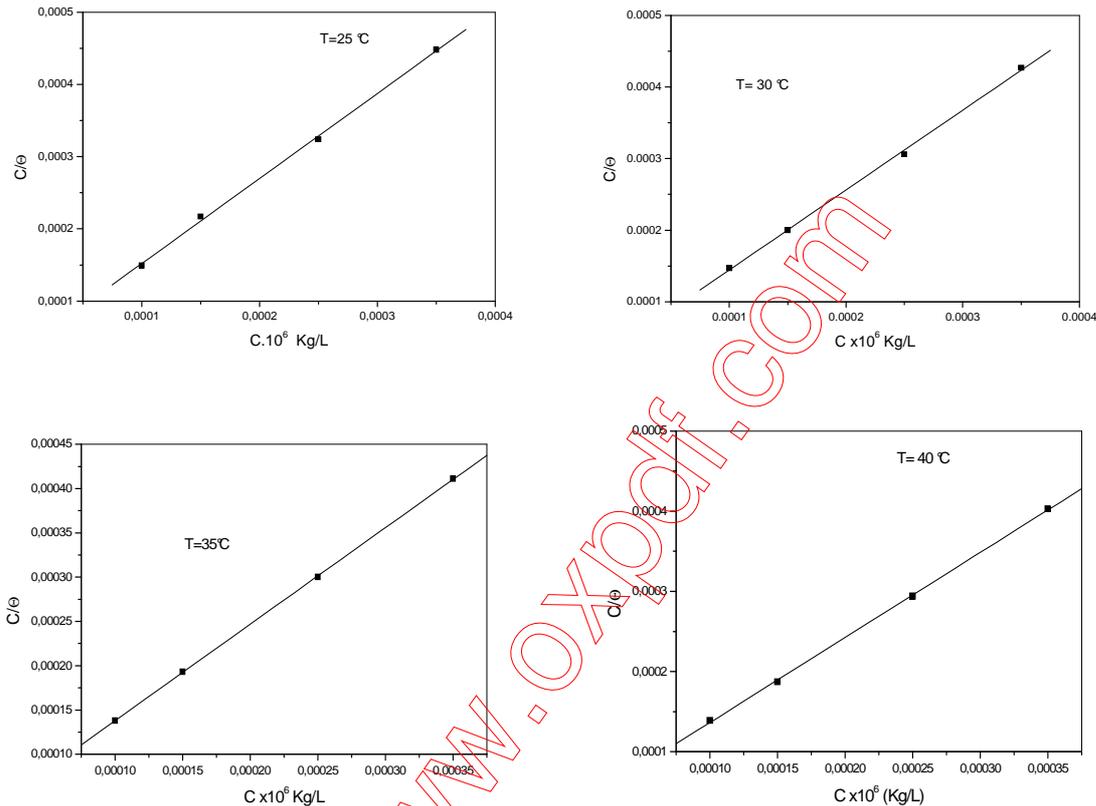
$$\theta = 1 - \frac{I'_{\text{corr}}}{I_{\text{corr}}} \quad (\text{II.14})$$

où :

I_{corr} et I'_{corr} sont les valeurs de la densité de courant de corrosion de l'acier déterminées par extrapolation des droites cathodiques de Tafel, après immersion en milieu acide respectivement sans et avec addition de l'inhibiteur.

Dans cette étude, l'isotherme de Langmuir est toujours adoptée.

Les variations du rapport $\frac{C}{\theta}$ en fonction de la concentration C de l'inhibiteur à différentes températures sont représentées dans les figures II.15



Figures II.15 : Isothermes d'adsorption de Langmuir de l'acier dans H_2SO_4 0.5M en présence de l'extrait aqueux LS à différentes températures.

L'analyse des figures II.15 montre que, pour chacune des températures étudiées, la variation du rapport $\frac{C}{\theta}$ en fonction de la concentration de l'extrait aqueux LS est linéaire (les coefficients de corrélation sont tous proches de l'unité). Ceci indique que l'adsorption de l'inhibiteur sur la surface de l'acier en milieu H_2SO_4 0.5M obéit à l'isotherme d'adsorption de Langmuir confirmant la validité du modèle choisi pour le domaine de températures choisi.

Les valeurs des constantes d'adsorption à différentes températures qui sont obtenues en extrapolant les droites des isothermes d'adsorption de Langmuir par rapport à l'axe $\frac{C}{\theta}$, sont de l'ordre de 3×10^4 L/Kg (tableau II.7). Les valeurs assez élevées de K sont une caractéristique d'une forte adsorption chimique de l'inhibiteur à la surface de l'acier [35].

Toutefois, toutes les valeurs des pentes sont légèrement supérieures à 1. Cette petite différence par rapport à l'unité est vraisemblablement liée soit, à l'existence d'interactions entre les molécules adsorbées à la surface du métal sachant que lesdites interactions ne sont pas prises en considération dans le modèle de l'isotherme de Langmuir [57, 58], soit par l'occupation de plus d'un site actif par une seule molécule adsorbée [59,60, 61].

Les valeurs de $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ calculées à partir de la formule (II.9) et à différentes températures, sont reportées dans le tableau II.7

Pour toutes les températures étudiées, la spontanéité du processus d'adsorption ($\Delta G^\circ_{\text{ads}} < 0$) et la stabilité des molécules adsorbées sur la surface métallique suivant une adsorption chimique (valeurs de $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ voisines de -40 kJ/ mol) sont assurées.

La variation de l'énergie libre standard d'adsorption ($\Delta G^\circ_{\text{ads}}$) en fonction de la température (Figure II.16) permet de calculer l'enthalpie standard d'adsorption ($\Delta H^\circ_{\text{ads}}$). L'entropie standard d'adsorption ($\Delta S^\circ_{\text{ads}}$) peut être calculée par l'équation suivante :

$$\Delta G^\circ_{\text{ads}} = \Delta H^\circ_{\text{ads}} - T \Delta S^\circ_{\text{ads}} \quad (\text{II.15})$$

L'évolution de $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ en fonction de la température est linéaire, indiquant la bonne corrélation entre les paramètres thermodynamiques (le coefficient de régression est de 0.999).

A partir de l'étude thermodynamique de l'adsorption, nous pouvons tirer des informations sur le mécanisme d'inhibition de la corrosion de l'acier. En effet, la chimisorption dans notre cas, est un processus exothermique ($\Delta H^\circ_{\text{ads}} < 0$). La valeur élevée et positive de l'entropie standard $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ en présence de l'extrait aqueux LS, traduit une augmentation du désordre qui intervient lors de la formation du complexe métal/molécules adsorbées [62]. Un tel désordre résulte de la désorption de plusieurs molécules d'eau à la surface du métal par l'adsorption d'une seule molécule de l'inhibiteur [57, 63, 64].

Tableau II.7 : Paramètres thermodynamiques d'adsorption de l'extrait aqueux LS sur l'acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M à différentes températures.

T (K)	K (L/Kg)	Pente	R	ΔG°_{ads} (kJ/mol)	ΔH°_{ads} (kJ/mol)	ΔS°_{ads} (J/K.mol)
298	2.92 x 10 ⁴	1.17	0.999	-35.42	-7.03	142.6
303	3.05 x 10 ⁴	1.11	0.999	-36.17		
308	3.45x 10 ⁴	1.08	0.999	-37.00		
313	3.30 x 10 ⁴	1.06	0.999	-37.52		

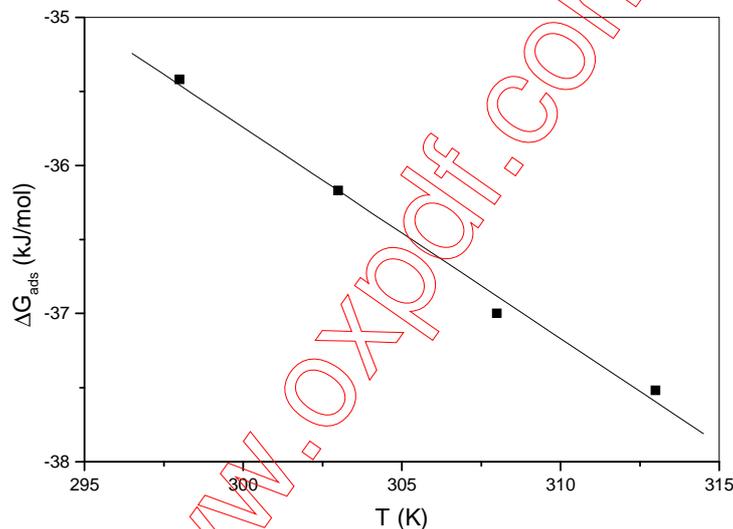


Figure II.16 : Variation de ΔG°_{ads} en fonction de la température.

II.3.3.4. Etude de l'effet des ions iodures

Cette partie du travail est consacrée à l'évaluation de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux des feuilles et des tiges LS de la plante dans le milieu corrosif H₂SO₄ 0.5M en présence des ions halogénures I⁻ ajoutés sous forme d'iodure de potassium KI. La même technique électrochimique précédente sera utilisée. Nous étudierons l'influence des iodures sur certains paramètres électrochimiques et la perturbation sur le système qui en découle.

On parle d'effet de synergie quand la présence de plusieurs inhibiteurs dans le milieu corrosif peut améliorer l'inhibition de la corrosion.

Plusieurs travaux ont porté sur l'utilisation des halogénures en général afin d'améliorer l'efficacité inhibitrice en diminuant la vitesse de corrosion de l'acier [65, 66, 67].

L'étude du pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux LS de la plante sur la corrosion de l'acier en présence des iodures, en milieu acide H_2SO_4 0.5M est effectuée à 30°C pour une durée d'immersion d'une heure.

La technique expérimentale utilisée est la spectroscopie d'impédance électrochimique où nous mesurons les résistances de transfert de charge R_t .

Dans un premier temps, afin d'examiner l'influence de la concentration des ions iodures sur l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (LS) de la plante à une concentration de 350 mg/L, nous avons effectué des mesures de R_t pour une gamme de concentrations (exprimées en pourcentage) allant de 0.0175 à 0.2. Les efficacités inhibitrices ont été calculées en utilisant l'équation (II.3)

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau II.8 La figure II.17 représente les diagrammes de Nyquist de l'acier doux dans une solution H_2SO_4 0.5M en présence de l'extrait aqueux LS à 350 mg/L et des ions iodures à différentes concentrations.

Nous avons donc tracé les courbes donnant la variation du R_t en fonction de la concentration de la solution en iodures exprimée en % (figure II.18).

Tableau II.8 : Valeurs de résistance de transfert de charges (R_t) et de l'efficacité inhibitrice (P) dans une solution de H_2SO_4 0.5 M contenant l'extrait aqueux LS à 350 mg/L avec KI à différentes concentrations.

	Conc. en I (%)	R_t ($\Omega.cm^2$)	P (%)
Acide seul	-----	3.13	-----
	-----	24.11	87.01
	0.0175	34.78	91.00
Extrait aqueux LS à 350 mg/L	0.04	35.69	91.23
	0.1	38.58	91.89
	0.2	38.75	91.92

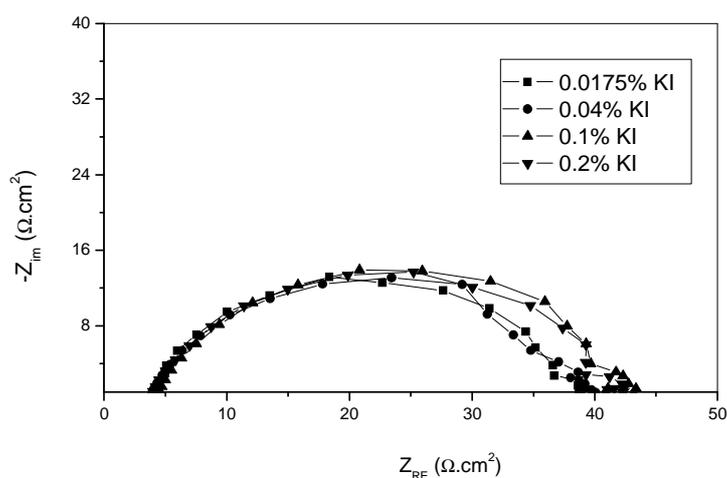


Figure II.17 : Digrammes de Nyquist de l'acier doux dans une solution de H₂SO₄ 0.5M contenant l'extrait aqueux LS à 350 mg/L avec KI à différentes concentrations, à T = 30°C

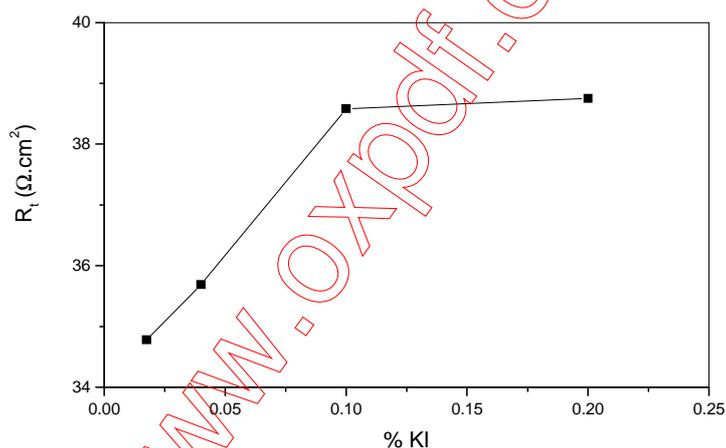


Figure II.18 : Variation de la résistance de transfert de charges (R_t) en fonction de la concentration en KI (%) pour une concentration de l'extrait aqueux LS à 350 mg/L, à T = 30°C

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons remarquer que :

- Les résistances de transfert de charges R_t et par conséquent les efficacités inhibitrices augmentent avec la concentration en KI.

- L'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux LS de la plante passe de 87% quand il seul, à 92% en présence de KI à 0.2% (soit une augmentation de plus de 5%). C'est cette concentration en iodures qui sera retenue pour la suite de l'étude.

Dans le but d'étudier l'effet de l'ajout de l'iodure de potassium à la concentration optimale de 0.2% sur l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (LS) de la plante à différentes concentrations dans une solution H_2SO_4 0.5M, à une température de 30°C pour un temps d'immersion d'une heure, nous avons effectué des mesures de la résistance de transfert de charge R_t .

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau II.9

La figure II.19 représente les diagrammes de Nyquist de l'acier doux dans une solution H_2SO_4 0.5M en présence et en absence de (l'extrait aqueux LS à différentes concentrations et des ions iodures à 0.2%).

Nous avons donc tracé les courbes donnant la variation du R_t en fonction de la concentration de l'extrait aqueux en présence et en absence de KI à 0.2% (figure II.20).

Tableau II.9 : Valeurs de la résistance de transfert de charges R_t dans une solution de H_2SO_4 0.5M de l'extrait aqueux LS à différentes concentrations en présence et en absence des ions iodures à 0.2%

Extrait aqueux LS (mg/L)	R_t ($\Omega.cm^2$)	
	◇ sans KI	avec KI à 0.2%
100	11.69	18.58
150	17.08	23.32
250	21.65	27.76
350	24.11	38.75

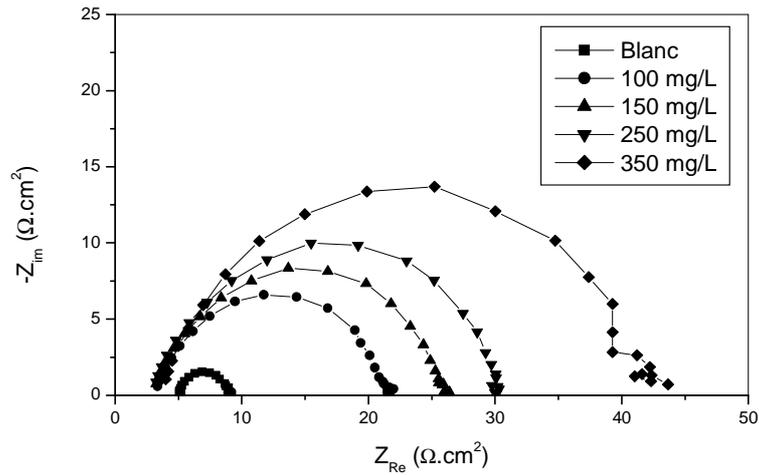


Figure II.19 : Diagrammes de Nyquist de l'acier doux dans une solution H_2SO_4 0.5M en absence et en présence de (l'extrait aqueux LS à différentes concentrations avec KI à 0.2%).

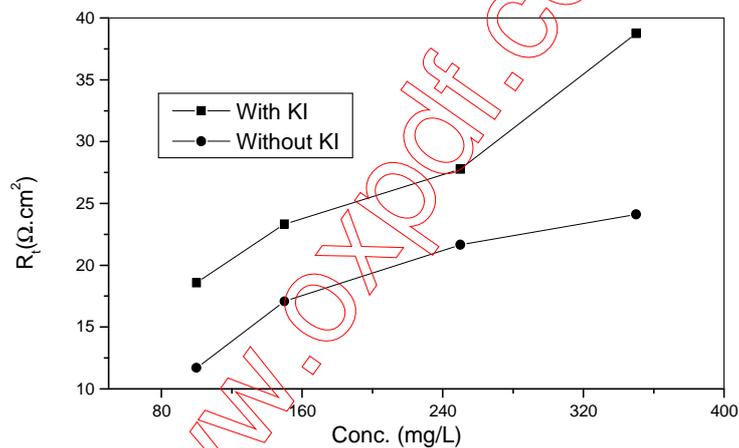


Figure II.20 : Variation de la résistance de transfert de charges R_t en fonction de la concentration de l'extrait aqueux LS à différentes concentrations avec et sans KI à 0.2%

D'après ces résultats, nous pouvons constater que les valeurs de la résistance de transfert de charges R_t pour l'extrait aqueux LS à différentes concentrations en présence de KI à 0.2% sont nettement supérieures à celles que nous avons obtenues en absence du KI.

Les figures II.18 et II.20 montrent clairement l'existence d'un phénomène de synergie entre les ions iodures et l'extrait aqueux LS de la plante à différentes concentrations.

L'effet de synergie entre l'extrait aqueux LS de la plante et l'iodure de potassium KI peut être expliqué par le fait que l'addition de KI stabilise l'adsorption des molécules de l'extrait à la surface de l'acier.

Cette stabilisation résulte des interactions électrostatiques entre ces molécules et les anions Γ par formation de ponts intermédiaires entre la surface du métal et l'extrémité positive de l'inhibiteur organique. L'efficacité inhibitrice de la corrosion due à cette synergie résulte alors du taux de recouvrement de la surface qui a augmenté grâce à la formation d'une paire d'ions (les cations organiques et les anions) [68]. L'efficacité inhibitrice augmente donc, en présence des ions iodures.

Afin de confirmer l'établissement dudit synergisme, plusieurs paramètres doivent être calculés. En effet, Aramaki et coll. [69] ont proposé la formule suivante permettant de calculer le paramètre de synergie (S) entre deux substances 1 et 2 mises en solution.

$$S = \frac{1 - P_{1+2}}{1 - P'_{1+2}} \quad (\text{II.16})$$

où :

P est l'efficacité inhibitrice non exprimée en pourcentage ($P = \% P/100$)

$$P_{1+2} = (P_1 + P_2) - (P_1 \times P_2);$$

P_1 est l'efficacité inhibitrice de la substance 1 (l'extrait aqueux LS de la plante)

P_2 est l'efficacité inhibitrice de la substance 2 (KI),

P'_{1+2} est la valeur de l'efficacité inhibitrice de la substance 1 (l'extrait aqueux LS) en présence de la substance 2.

Ici, les valeurs de P sont tirées des mesures de la spectroscopie d'impédance.

La valeur de S est voisine de 1 quand il n'y a pas d'interaction entre les molécules de l'inhibiteur, alors que $S > 1$ indique un effet de synergie. Dans le cas où $S < 1$, l'adsorption de chaque molécule s'oppose à l'adsorption des autres molécules.

Les valeurs de S sont données dans le tableau II 10

Tableau II.10 : Paramètres de synergie (S) pour différentes concentrations de l'extrait aqueux LS de la plante.

Conc. (mg/ L)	S
100	1.21
150	1.04
250	0.97
350	1.22

L'analyse des résultats montre qu'à l'exception de la concentration 250 mg/L, les valeurs de S pour les autres concentrations sont supérieures à l'unité. Le synergisme entre les ions iodures et l'extrait aqueux LS de la plante est ainsi confirmé.

II.3.3.5. Etude de la surface du métal par microscopie électronique à balayage (MEB)

Dans le but d'évaluer la morphologie de la surface de l'acier doux afin de prouver si l'inhibition est due à la formation d'un film de molécules organiques à sa surface, nous avons étudié la morphologie de cette dernière par microscopie électronique à balayage (M.E.B). Les micrographies de l'acier ont été enregistrées en utilisant un microscope analytique de marque HITACHI TM 1000.

Nous avons effectué l'analyse de la surface de l'acier après 6 h d'immersion dans H₂SO₄ 0.5M à 30°C en présence et en absence de l'extrait aqueux à 350 mg/L.

L'image de la surface de l'acier doux après 6 h d'immersion dans H₂SO₄ 0.5M seul à 30°C (Figure II.21a) montre clairement que cette dernière est attaquée et que la corrosion subie par l'acier est plus au moins uniforme. Par contre, en présence de l'extrait aqueux LS de la plante, nous constatons à travers l'image de la surface de l'acier doux après le même temps d'immersion dans H₂SO₄ 0.5M à 30°C (Figure II.21b) que la surface est uniformément recouverte d'un produit de couche apparemment fine et dépourvue de flocons observés sur la micrographie de l'acier dans l'acide seul. Cette observation montre que l'inhibition est due à la formation d'un dépôt adhérent, stable et insoluble limitant ainsi l'accès de l'électrolyte à la surface de l'acier.

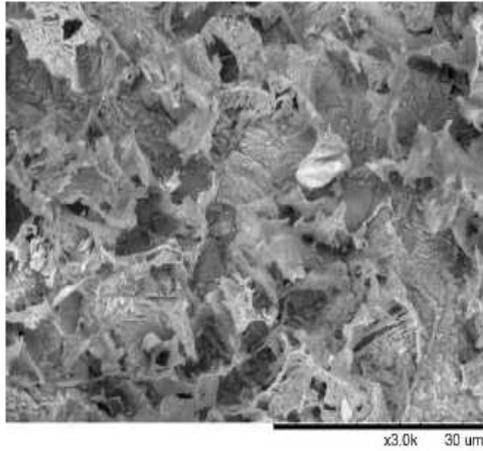


Figure II.21a : Micrographie (MEB) de la surface de l'acier doux après 6 h d'immersion à 30°C dans H₂SO₄ 0.5M

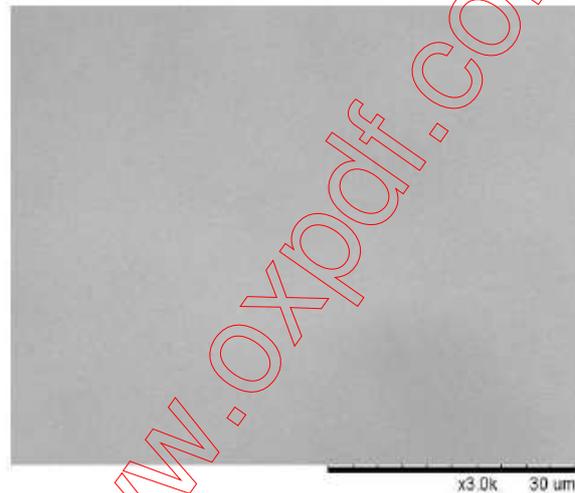


Figure II.21b : Micrographie (MEB) de la surface de l'acier doux après 6 h d'immersion à 30°C dans H₂SO₄ 0.5M en présence de l'extrait aqueux LS à 350 mg/L

www.xpdf.com

CONCLUSION

Conclusion

Le travail présenté dans cette deuxième partie de la thèse constitue une contribution à l'utilisation d'un nouveau type d'inhibiteurs de corrosion de métaux dits inhibiteurs verts.

L'étude consiste à déterminer l'efficacité inhibitrice des extraits aqueux d'une plante (*Anacyclus pyrethrum*) vis-à-vis de la corrosion de l'acier doux en milieu acide H_2SO_4 0.5M par des méthodes électrochimiques (courbes de polarisation, résistances de polarisation et mesures de l'impédance électrochimique).

En effet, les extraits aqueux des différentes parties de *Anacyclus pyrethrum* ont été testés. Les trois extraits inhibent efficacement la corrosion de l'acier dont l'efficacité des extraits de la partie aérienne (LS et F) est meilleure que celle de l'extrait des racines (R).

L'ajout de ces extraits réduit la dissolution anodique et retarde la réaction de dégagement d'hydrogène. Les molécules existant dans ces extraits agissent comme un inhibiteur de corrosion mixte avec une légère tendance anodique. L'efficacité augmente avec la concentration de l'inhibiteur. L'adsorption des différents extraits sur la surface de l'acier en milieu acide sulfurique suit l'isotherme de Langmuir. Les valeurs obtenues des constantes d'adsorption des différentes parties de la plante sont caractéristiques d'une forte adsorption chimique de l'inhibiteur à la surface de l'acier. Les grandes valeurs négatives de ΔG°_{ads} prouvent qu'il s'agit d'une chimisorption et que le processus d'adsorption est spontané.

Les effets du temps d'immersion de l'acier doux dans un milieu acide H_2SO_4 0.5M contenant l'extrait aqueux des feuilles et des tiges LS, de la température du milieu corrosif ainsi que l'influence de l'ajout des ions iodures ont été étudiés. En effet, la résistance de transfert de charge (R_t) de l'acier ainsi que le pouvoir d'inhibition augmentent avec le temps d'immersion. L'efficacité inhibitrice augmente nettement avec la température pour atteindre 87% à 40°C pour une concentration de 350 mg/L. l'étude thermodynamique de l'adsorption de l'extrait aqueux LS à différentes températures montre que la chimisorption dans notre cas, est un processus exothermique ($\Delta H^{\circ}_{ads} < 0$) suivi d'un grand désordre (valeur élevée et positive de l'entropie standard ΔS°_{ads}). L'addition des ions iodures à l'extrait aqueux LS améliore son efficacité inhibitrice par l'effet de synergie.

La caractérisation de la surface de l'acier doux par microscopie électronique à balayage a permis de montrer à travers les micrographies obtenues que l'inhibition de la corrosion est due à

la formation d'une couche adhérente, stable et insoluble limitant ainsi l'accès de l'électrolyte à la surface de l'acier.

En perspective, Il serait plus judicieux d'étudier l'inhibition de la corrosion de l'acier en adoptant d'autres techniques comme la méthode gravimétrique afin de pouvoir la comparer aux méthodes électrochimiques.

Ce travail pourrait être poursuivi en ciblant des familles chimiques bien précises comme les alcaloïdes dont les molécules ont des structures définies, en essayant de mettre en évidence l'existence éventuelle d'une corrélation entre la structure moléculaire et l'efficacité inhibitrice.

Pour la caractérisation de surface, l'utilisation d'autres méthodes comme XPS est plus que souhaitable.

Enfin, nous souhaiterons que cette étude contribue d'une manière ou d'une autre à la valorisation des produits naturels en tant qu'inhibiteurs biodégradables. Ces derniers présentent un intérêt économique important à l'heure où les inhibiteurs organiques synthétisés sont toxiques et très coûteux.

www.oxpdf.com

Références bibliographiques

- [1] M Pourbaix, P Van Rysselberghe, *Electrochimica Acta* Volume 45, Issues 15-16, 3 (2000) XIII-XVI.
- [2] Corrosion engineering. Mc graw Hill International Edition. New- York. 1987
- [3] NACE International 2007 Glossary of Corrosion Related Terms (www.nace.org).
- [4] C. Fiaud, *Inhibiteurs de corrosion, Techniques de l'ingénieur, COR1005.*
- [5] M. Elayyachy, A. El Idrissi, B. Hammouti, *Corros. Sci.* 48 (2006) 2470
- [6] K.C. Emregul, M. Hayvali, *Corros. Sci.* 48 (2006)797.
- [7] M.A. Quraishi, D. Jamal, *J. Appl. Electrochem.* 32 (2002)425.
- [8] M.Lebrini. thèse de Doctorat, Lille (France) (2005)
- [9] Pandian Bothi Raja, Mathur Gopalakrishnan Sethuraman, *Materials letters* 62(2008)113-116.
- [10] Abdel-Gaber, A.M., Abd-El-Nabey, B.A., Sidahmed, I.M., El-Zayady, A.M., Saadawy, M.*Corros. Sci.* 48(2006) 2765–2779.
- [11] Bouyanzer A., Hammouti B., Majidi L.*Mater. Lett.* 60 (2006) 2840.
- [12] Oguzie E. E., *Mater. Chem. Phys.* 99 (2006) 441.
- [13] Okafor P.C., Ikpi M.E., Uwah I.E., Ebenso E.E., Ekpe U.J., Umoren S.A.,*Corros. Sci.* 50 (2008) 2310.
- [14] Satapathy A.K., Gunasekaran G., Sahoo S.C., Kumar Amit, Rodrigues P.V., *Corros. Sci.* 51 (2009) 2848.
- [15] de Souza F.S., Spinelli A., *Corros. Sci.* 51 (2009) 642.
- [16] Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Haloui, B., *Portug. Electrochim. Acta* 28(2010)165-172.
- [17] da Rocha, J.C., Gomes, J.A.P., D'Elia, E.,*Corros. Sci.* 52(2010)2341–2348.
- [18] Eddy, N.O.,*Pigm. Resin Technol.* 39(2010), 348–354.
- [19] Kumpawat, N., Chaturvedi, A., Upadhyay, R.K., *Protect. Metals Phys. Chem. Surf.* 46(2010) 267–270.
- [20] El bribri , A., Tabyaoui, M., El Attari, H., Boumhara, K., Siniti, M., Tabyaoui, J. *Mater. Environ. Sci.* 2 (2011) 156.
- [21] Loto, C. A., *Mater. Environ. Sci.* 2 (4) (2011) 335.
- [22] J. O'M. Bockris et D.A.D. Swinkels, *J. Electrochem. Soc.*, 111, 736 (1965).
- [23] J. G. N. Thomas, 5th European Symposium on Corrosion Inhibitors, Ann. Univ. Ferrara, Italy, 453 (1980).
- [24] D.M. Ruthven. Principles of adsorption and adsorption processes. John Wiley and Sons.

1984. [25] D.
C. Zoicher, Mater. Perform. 15, 33 (1976). [26]
A. Raman, E.S. Gawalt, *Langmuir*, 23 (2007) 2284.
[27] D. Landolt, Corrosion et Chimie de Surface des Métaux. Traité des matériaux, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (1993).
[28] C.Gabrielli et M. Keddam, *Electrochimica Acta.*, 19, 355 (1974).
[29] JORCIN J.B. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007.
[30] L.Bazzi, R. Salghi, E. Zine, S. El Issami, S. Kertit, B. Hammouti, *Can. J. Chem.* 80 (2002) 106. [31] T. Tsuru, S. haruyama et Boshoku Gijustu, *J. Jap. Soc. Corros. Engng.*, 27, 573 (1978). [32] M. Hukovic-Metikos, R. Babic, Z. Grutac, *J. Appl. Electrochem.* 32 (2002) 35. [33] O.Benali, L.Larabi., B.Tabti, Y.Harek . *Anti - Corrosion Methods and Materials*.5, 52(2005)
[34] G. Trabellini and F. Mansfeld, Editors, *Corrosion Mechanisms*, Marcel Dekker, New York (1987), p. 109.
[35] R.F.V. Villamil, P. Corio, J.C. Rubin, S.M.L. Agostinho, *J. Electroanal. Chem.* 535(2002)75 [36]
E. Bayol, K. Kayakırlmaz, M. Erbil, *Materials Chemistry and Physics*, 104 (2007) 74
[37] J. Aljourani, K. Raeissi, M.A. Golozar, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 1836.
[38] H.H. Hassan, *Electrochimica Acta*, 53 (2007) 1722.
[39] G. Moretti, F. Guidi, G. Grion, *Corros. Sci.*, 46 (2004) 387.
[40] M. P. Soriaga, *Chem. Tour.* , 90 , (1990) 771.
[41] Saratha. R, Meenakshi. R. *Der Pharma Chemica*, 2010, 2(1): 287-294
[42] F. B. Growcock and V. R. Lopp. *Corros. Sci.*, 28, 397-410, 1988.
[43] E. Kamis, F Bellucci, R.M. Latanision et E.S.H. El-Ashry, *Corrosion*, 47, 677 (1991).
[44] O.Benali. Thèse de Doctorat. Tlemcen (2007)
[45] J. Crousier, C. Antonione, Y. Massiani et J. P. Crousier, *Materials Chemistry*, 7 (1982) 587.
[46] I.A. Ammar et F.M. El Khorafi, *Werkst. und Korros.*, 24 (8) (1973) 702
[47] D.D.N. Singh, R.S. Chadhary, B. Prakash et al, *Br. Corros. J.*, 14 (1979) 235
[48] L.N. Putilova et al., *Metallic Corrosion inhibitors*, Pergamon Press, NY (1960) 196
[49] E.S. Ivanov, *Inhibitors for Metal Corrosion in Acid Media*, Metallurgy, Moscow (1986).
[50] G. Moretti, G. Quartarone, A. Tassan et A. Zingales, *Electrochim. acta.*, 41, 1971 (1996)
[51] El Ouali, B., Hammouti, B., Aouiniti, A., Ramli, Y., Azougagh, M., Essasi, E.M., Bouachrine, M., *J. Mater. Environ. Sci.* 1 (2010) 1

- [52] M. A. El morsi et A. M. Hassanein, Corro. Sci. , 41 (1999) 2337
- [53] Szauer T., Brandt A., Electrochim. Acta 26 (1981) 1257.
- [54] Sankarapavinasam S., Pushpanaden F., Ahmed M.F., Corros. Sci. 32 (1991) 193
- [55] A. Popova, S. Raicheva, E. Sokolova, Langmuir, 12 (1996) 2083.
- [56] Mccafferty E., Corros. Sci. 39 (1997) 243.
- [57] Y. Abboud, A. Abourriche, T. Saffaj et al., Desalination, 237 (2009) 175.
- [58] E.E.Oguzie, Y. Li et F.H. Wang, J. Coll. Interf. Sci., 310 (2007) 90.
- [59] M. Behpour, S.M. Ghoreishi, N. Soltani et al, Corros. Sci., 50 (2008) 2172.
- [60] L. Larabi, O. Benali, Y. Harek, Portug. Electrochem. Acta, 24 (2006) 337.
- [61] S. Cheng, S. Chen, T. Liu et al, Mater. Lett., 61 (2007) 3276
- [62] G. Banerjee et S.N. Malhotra, Corrosion, 48, 10 (1992)
- [63] Y. Feng, S. Chen, W. Guo et al., Appli. Surf. Sci., 253 (2007) 8734.
- [64] D. Loveday, P. Peterson, B. Rodgers, Gamry Instruments, JCT Coatings Tech, (2004) 88.
- [65] Benali O., Larabi L., Traisnel M., Gengembre L., Harek Y., Appl. Surf. Sci. 253 (2007) 6130
- [66] Gomma G. K., Mater. Chem. Phy. 55 (1998) 241.
- [67] Okafor P.C., Osabor V.I., Ebenso E.E., Pigm. Res. Tech. 36 (5) (2007) 299.
- [68] E.E. Oguzie et al. / Journal of Colloid and Interface Science 310 (2007) 90–98
- [69] Aramaki K., Hackerman N., J. Electrochem. Soc. 116 (1969) 5

www.xpof.com

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Notre travail de thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) dont l'un des objectifs est de valoriser les espèces végétales de l'ouest algérien.

La plante choisie, *Anacyclus pyrethrum* L, appartient à la famille des astéracées et fait partie des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète dans la région de Tlemcen. Toutefois, elle reste très peu étudiée.

L'ensemble des travaux présentés dans cette thèse s'articule autour de deux parties :

La première, constitue une contribution à une meilleure connaissance phytochimique de l'espèce et porte sur l'étude de certaines de ses activités biologiques à savoir l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la racine et l'activité anti microbienne des huiles essentielles des différentes parties (les racines, les feuilles/tiges et les fleurs) de la plante.

La deuxième partie permet de découvrir les propriétés anti corrosives de la plante vis-à-vis de l'acier doux en milieu acide sulfurique.

Dans un premier temps, après identification de l'espèce et sa description botanique, une revue bibliographique des travaux effectués antérieurement sur la plante sous investigation a montré, qu'à l'exception de certaines études anciennes sur la chimie de la racine, la plupart des travaux ont porté sur les activités biologiques et sur les propriétés thérapeutiques et pharmacodynamiques de la plante. En effet et contrairement à la chimie des autres espèces du même genre, *Anacyclus. pyrethrum* n'a pas donné lieu à d'importantes recherches scientifiques.

L'étude expérimentale commence par un criblage phytochimique des trois parties de la plante et qui a permis de mettre en évidence la grande richesse de *Anacyclus. pyrethrum* en métabolites secondaires, produits reconnus pour leurs activités biologiques remarquables.

Les huiles essentielles des trois parties de la plante qui n'ont jamais fait l'objet d'aucun travail auparavant, ont été obtenues par hydrodistillation au moyen d'un extracteur de type Clevenger. Le procédé d'extraction a été optimisé en tenant compte de deux facteurs pouvant influencer le rendement à savoir la quantité de la matière végétale et la durée d'extraction. Pour leur part, les autres variables n'ont pas été prises en considération.

Les huiles essentielles extraites dont le rendement est faible, sont liquides à température ambiante et ont la particularité de se solidifier à une température nettement supérieure à 0°C.

Pour la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle et de la mise en évidence d'une éventuelle spécificité, nous avons eu recours aux techniques chromatographiques

CPG et CPG/SM en utilisant deux colonnes capillaires, l'une polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et l'autre apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane).

Nous nous sommes intéressés à l'huile essentielle des feuilles/tiges de la plante en provenance de deux stations différentes Ain fezza (St1) et Beni snouss(St2).

L'huile essentielle est caractérisée par la prédominance de composés sesquiterpéniques ; une caractéristique de la famille des astéracées. De plus, celle-ci se révèle assez complexe par le nombre très important de ce type de constituants avec les coélutions qui s'en suivent. Toutefois, l'analyse chromatographique a permis d'identifier 87 composés représentant respectivement pour St1 et St2 près de 67% et 77% des compositions chimiques des deux huiles essentielles.

En outre, l'huile essentielle comporte plusieurs composés majoritaires comme le spathuléol (4.2-4.7%), le 4(14)-salviale-1-one (2.8-4.0%), eudesm-4(15),7-dien-1 β -ol (2.9-6.0%), t-cadinol (1.7-2.9%), caryophyllène oxyde (2.5-2.6%), le germacrène D (5.1-13.4%), α -ylangène (1.1-3.1%) (**26**), trans-caryophyllène (3.0-3.3%) et le δ -cadinène (2.1-5.3%) dont les propriétés confirment les utilisations multiples de la plante.

D'autre part, la comparaison entre les compositions chimiques des HE des deux stations n'a montré aucune différence substantielle.

Par ailleurs, pour l'activité antidiabétique de la plante, des études expérimentales réalisées *in vivo* sur des rats Wistar ont confirmé la capacité de l'extrait de la racine à contrôler la glycémie des rats diabétiques. En effet, cet extrait administré aux rats s'est révélé dépourvu de toxicité et a entraîné une diminution significative de la glycémie dès la première semaine du traitement. En plus, l'extrait aqueux ne provoque ni trouble de poids ni variation conséquente du taux de protéines chez les rats.

Ce résultat qui a donc permis de confirmer la propriété antidiabétique de *Anacyclus pyrethrum*, et de valider l'usage de cette plante dans le traitement du diabète, devrait inciter à une meilleure revalorisation de cette plante qui, en plus de ses multiples utilisations, peut servir de véritable rempart contre l'une des plus graves maladies à l'heure actuelle.

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, les tests de laboratoire ont consisté à l'étude *in vitro* des activités des huiles essentielles des trois parties de la plante. Cette activité a été évaluée contre neuf espèces bactériennes pathogènes et trois levures). A part, l'activité inhibitrice des HE des racines, et des feuilles/tiges sur les *S. aureus*, l'huile essentielle de *Anacyclus pyrethrum* des feuilles/tiges n'a pas eu l'effet prévisible sur les différents microorganismes et ce malgré sa richesse en composés oxygénés.

La deuxième partie de la thèse est consacrée aux propriétés inhibitrices de corrosion de *Anacyclus pyrethrum*, où nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'action d'une solution d'acide sulfurique 0.5M sur l'acier doux en absence et en présence d'un extrait aqueux de chacune des trois parties de la plante.

Pour ce faire, nous avons opté pour des méthodes électrochimiques (courbes de polarisation, résistances de polarisation et mesures de l'impédance électrochimique).

L'étude nous a permis de mettre en évidence l'existence d'une bonne efficacité inhibitrice des trois extraits aqueux dont ceux de la partie aérienne sont plus efficaces que l'extrait de la racine.

Les résultats obtenus montrent que ces extraits se comportent comme des inhibiteurs de corrosion mixtes avec un léger déplacement anodique. L'efficacité de chaque extrait croît quand la concentration augmente. L'adsorption des différents extraits sur la surface de l'acier en milieu acide sulfurique obéit à l'isotherme de Langmuir. A la lecture des valeurs obtenues des constantes d'adsorption des différentes parties de la plante et des énergies libres standards, nous pouvons dire qu'il s'agit d'une adsorption chimique forte et que le processus correspondant est spontané.

L'extrait aqueux des feuilles/tiges LS a été retenu pour la suite de l'étude où plusieurs paramètres pouvant influencer son efficacité inhibitrice ont été investigués à savoir le temps d'immersion de l'acier dans la solution acide, la température du milieu corrosif ainsi que l'ajout des ions iodures.

En effet, nous constatons que la résistance de transfert de charge (R_t) de l'acier ainsi que le pouvoir inhibiteur qui en découle, augmentent avec le temps d'immersion.

Par ailleurs, l'efficacité inhibitrice augmente nettement avec la température pour atteindre 87% à 40°C pour une concentration de 350 mg/L.

L'étude thermodynamique de l'adsorption de l'extrait aqueux LS à différentes températures montre que le processus d'adsorption chimique est exothermique entraînant un grand désordre dans la solution.

L'ajout des ions iodures à l'extrait aqueux LS améliore nettement son efficacité inhibitrice par effet de synergie.

L'examen de la topographie de la surface de l'acier doux au moyen d'un microscope électronique à balayage a permis d'observer un film adhérent et insoluble assurant ainsi, la protection de l'acier vis-à-vis de la corrosion du milieu.

Au vu de l'étape actuelle des résultats de notre étude, les produits naturels tels que les composés extraits de plantes semblent être une alternative écologique idéale pour remplacer les traditionnels inhibiteurs de corrosion.

Les présents résultats obtenus et exposés dans cette thèse sont encourageants et montrent qu'il pourrait y avoir d'autres plantes locales non exploitées dans les monts de Tlemcen. En effet, l'investigation de ces plantes pourrait révéler de nouveaux composés très actifs. Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales pour éviter la disparition de certaines espèces intéressantes et par conséquent assurer leur pérennité.

Par ce travail, nous espérons apporter notre modeste contribution à la valorisation de la flore de Tlemcen en voie de régression.

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

Pour la première partie de la thèse, il s'avère indispensable de :

- Poursuivre l'analyse de l'huile essentielle des feuilles/tiges par un fractionnement sur colonne ouverte facilitant ainsi la quantification et l'identification des composés minoritaires non encore identifiés.
- Elargir l'étude aux autres parties de la plante (racines et fleurs)

Afin de contribuer à une meilleure connaissance du potentiel antidiabétique de l'extrait aqueux de la racine, des recherches complémentaires et plus approfondies sont plus que nécessaires pour isoler, purifier et identifier les composés présents dans l'extrait et qui sont susceptibles d'être responsables de cette activité antidiabétique.

Pour la seconde partie de la thèse, il serait intéressant de :

- Compléter l'étude électrochimique de l'inhibition de corrosion de l'acier par une autre technique telle que la méthode gravimétrique.
- Caractériser la surface de l'acier par d'autres méthodes comme XPS.

ANNEXES

www.oxpot.com

Annexe 1 : TESTS PHYTOCHIMIQUES ET REACTIFS SPECIFIQUES

➤ Tests phytochimiques

1. Les Flavonoïdes

A 5 mL de l'infusé ajouter 5 mL d'alcool chlorhydrique, 1 mL d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration:

- rose orangée indique la présence de flavones
- rose violacée indique celle des flavanones
- rouge indique la présence de flavanols et flavanonols

Cette réaction est dite à la **Cyanidine**.

La même réaction sans copeaux de magnésium mais chauffée au bain marie pendant 15mn permet de détecter la présence de Leucoanthocyanes en cas d'apparition de coloration rouge cerise ou violacée.

2. Les Tanins

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 mL d'infusé à 5% puis 1 mL de solution aqueuse de FeCl_3 à 1%. La présence de tanin gallique ou catéchique se traduit par le développement d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre. Ainsi pour faire la différenciation entre les tanins nous avons utilisé le réactif de Stiasny dont le principe est le suivant:

A 30 mL d'infusé nous avons ajouté 15 mL de réactif de Stiasny (10 mL de formol à 40% + 5 mL de l'acide chlorhydrique concentré).

Nous avons chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. L'obtention de précipité indique la présence de tanin catéchique.

Nous avons filtré et saturé le filtrat avec de l'acétate de sodium pulvérisé. Le développement d'une teinte bleu noir après addition de quelques gouttes de FeCl_3 à 1% montre la présence de tanin gallique.

3. Les alcaloïdes :

Elle a été effectuée par des réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Mayer et Dragendorff ou Wagner).

5 mL de l'extrait brut a été ajouté à 2 mL d'acide chlorhydrique. Un millilitre de réactif Dragendorff a été ajouté à ce milieu acide. Formation d'un précipité orange ou rouge indique la présence d'alcaloïdes.

Prendre 25 mL de l'extrait aqueux, ajouter 15 mL de HCl 10%, porter l'ensemble à reflux pendant 30 mn, refroidir le mélange et l'extraire 3 fois avec l'éther diéthylique. Décanter et effectuer les tests sur les deux phases avec le réactif de Wagner ou de Mayer.

4. Les Saponosides

Ajouter à 2 mL de la solution aqueuse un peu d'eau et ensuite agiter d'une manière forte. Une écume persistante confirme la présence des saponosides. Abandonner le mélange pendant 20 mn et classer la teneur en saponosides :

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins de 1 cm : test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm : test positif
- Mousse plus de 2 cm : test très positif

5. Les acides aminés :

Ajouter quelques gouttes de réactif à la ninhydrine à un millilitre de l'extrait brut. L'apparition d'une couleur pourpre indique la présence d'acides aminés.

6. Les composés réducteurs

Nous avons procédé à une évaporation à sec de 5 mL du décocté aqueux à 10% au bain-marie.

L'obtention de précipité rouge brique après addition au résidu de 1 mL de réactif de Fehling nous oriente vers les composés réducteurs.

7. Les stérols et les triterpènes

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 1 g de poudre dans 20 mL d'éther. Ce mélange a été filtré et complété à 20 mL de l'éther.

La réaction de Libermann-Buchard

Nous avons procédé à une évaporation à sec de 10 mL de l'extrait au bain-marie. Le résidu a été repris avec 1 mL d'anhydride acétique puis 1 mL de chloroforme. Cette solution est partagée entre deux tubes à essai dans le tube (1) introduire 1 mL de réactif de Libermann.

Il se forme un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devient verte ou violette, cela traduit la présence de stéroïdes et de terpènes.

8. Les anthraquinones

Bouillir 1 g de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 mL de KOH 0,5 N et 1 mL d' H_2O_2 à 5%. Refroidir le mélange, filtrer puis acidifier le filtrat avec l'acide acétique.

Extraire la solution acide obtenue avec 10 mL de benzène. Agiter l'extrait benzénique en présence de 5 mL de NH_4OH . Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

➤ Réactifs spécifiques

1. Réactif de Dragendorff :

Nitrate de Bismuth pulvérisé.....	20.80 g
Iode.....	38.10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée.....	600 mL

Agiter pendant 30 minutes.

2. Réactif de Mayer :

Iodure de potassium	25 g
Chlorure mercurique.....	6.77 g
Eau distillée	250 mL

3. Réactif de Wagner :

Iodure de potassium	2 g
Iode.....	1.27 g
Eau distillée	100 mL

4. Liqueur de Fehling :

Réactif à chaud

Solution A

CuSO₄35 g
Eau distillée.....500 mL
H₂SO₄.....5 mL
Laisser refroidir puis compléter à un litre avec de l'eau distillée

Solution B

Sel de Seignette..... 150 g
Eau distillée.....500 mL
Refroidir puis ajouter 300 cc de lessive de soude non carbonatée, compléter à un litre avec de l'eau distillée.

NB : mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

5. Réactif à la ninhydrine :

Dissoudre 0,5 g de ninhydrine dans 100 mL d'alcool à 65 °.

www.oxpof.com

Annexe 2 : CHROMATOGRAMMES DES HUILES ESSENTIELLES DES FEUILLES/TIGES DES DEUX STATIONS

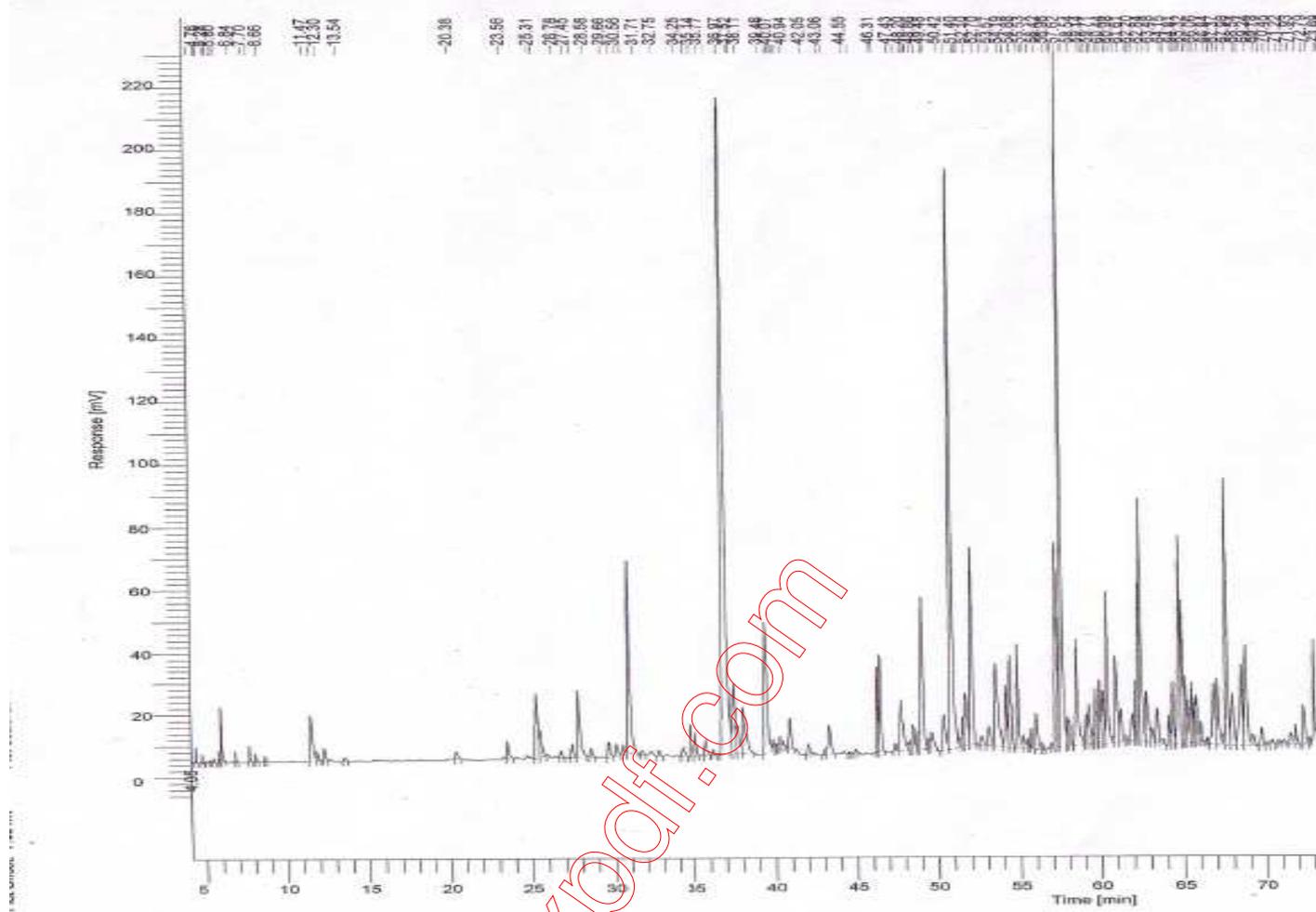


Figure : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles/tiges de la station St₁ (Colonne apolaire)

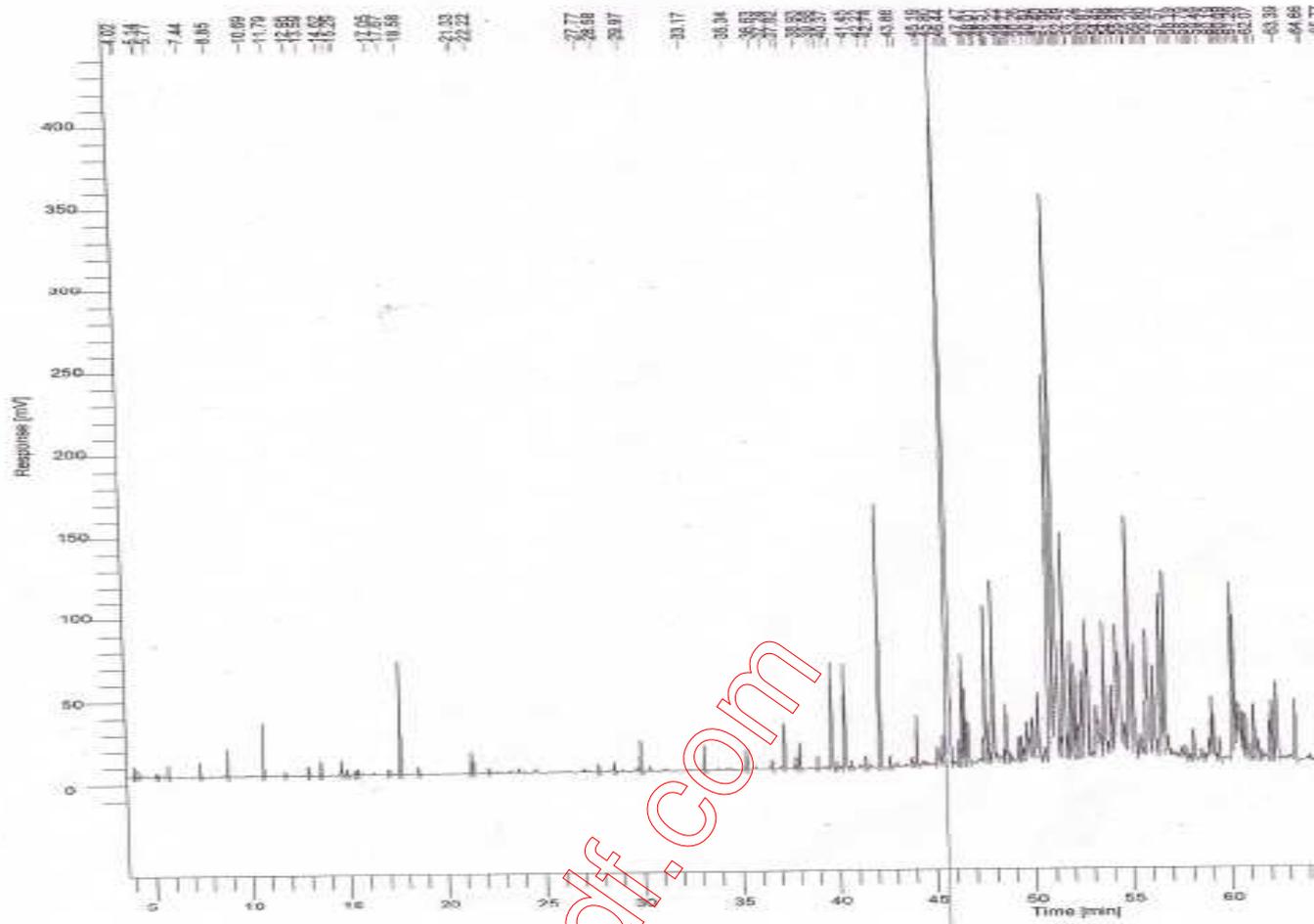
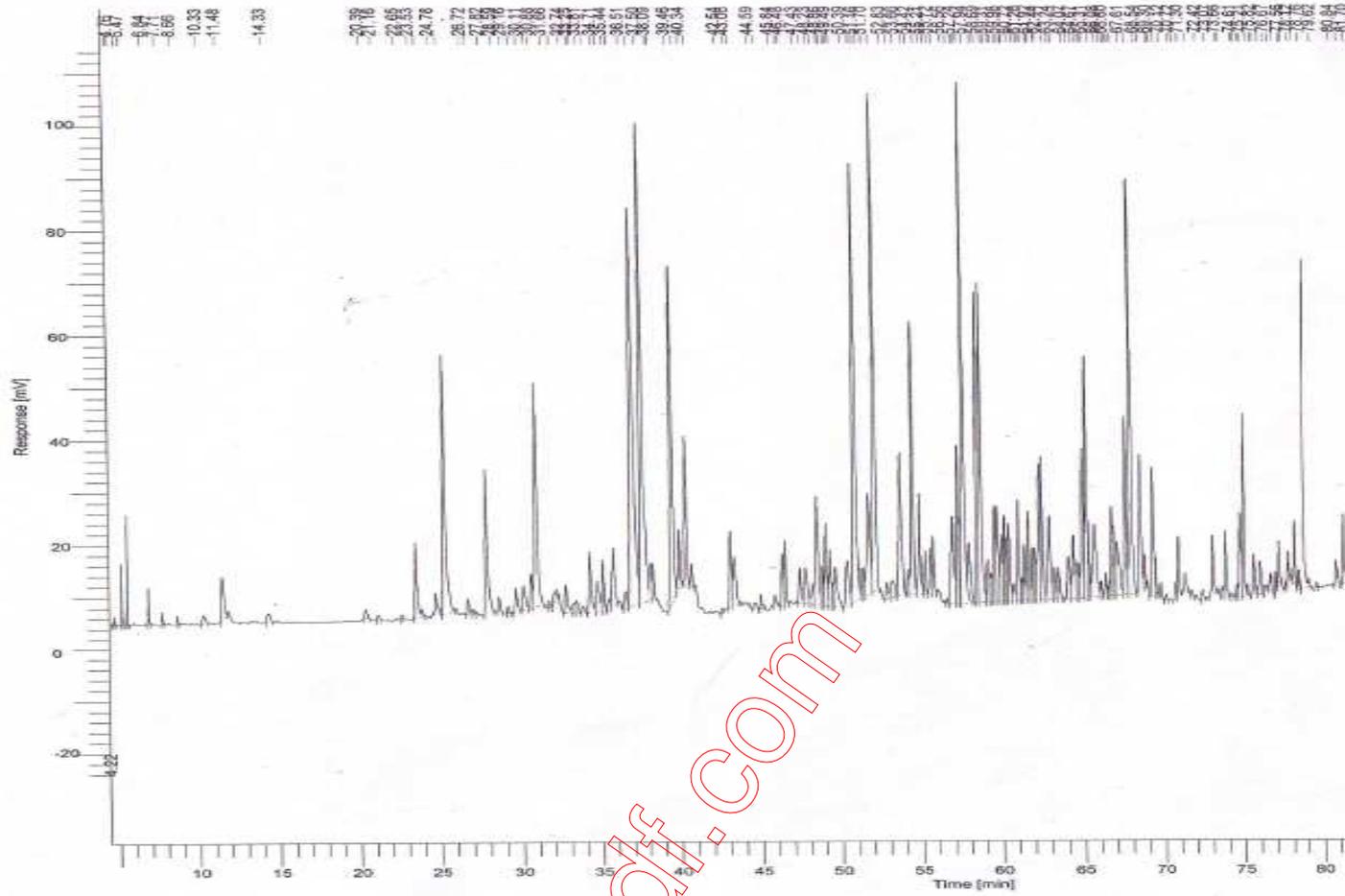


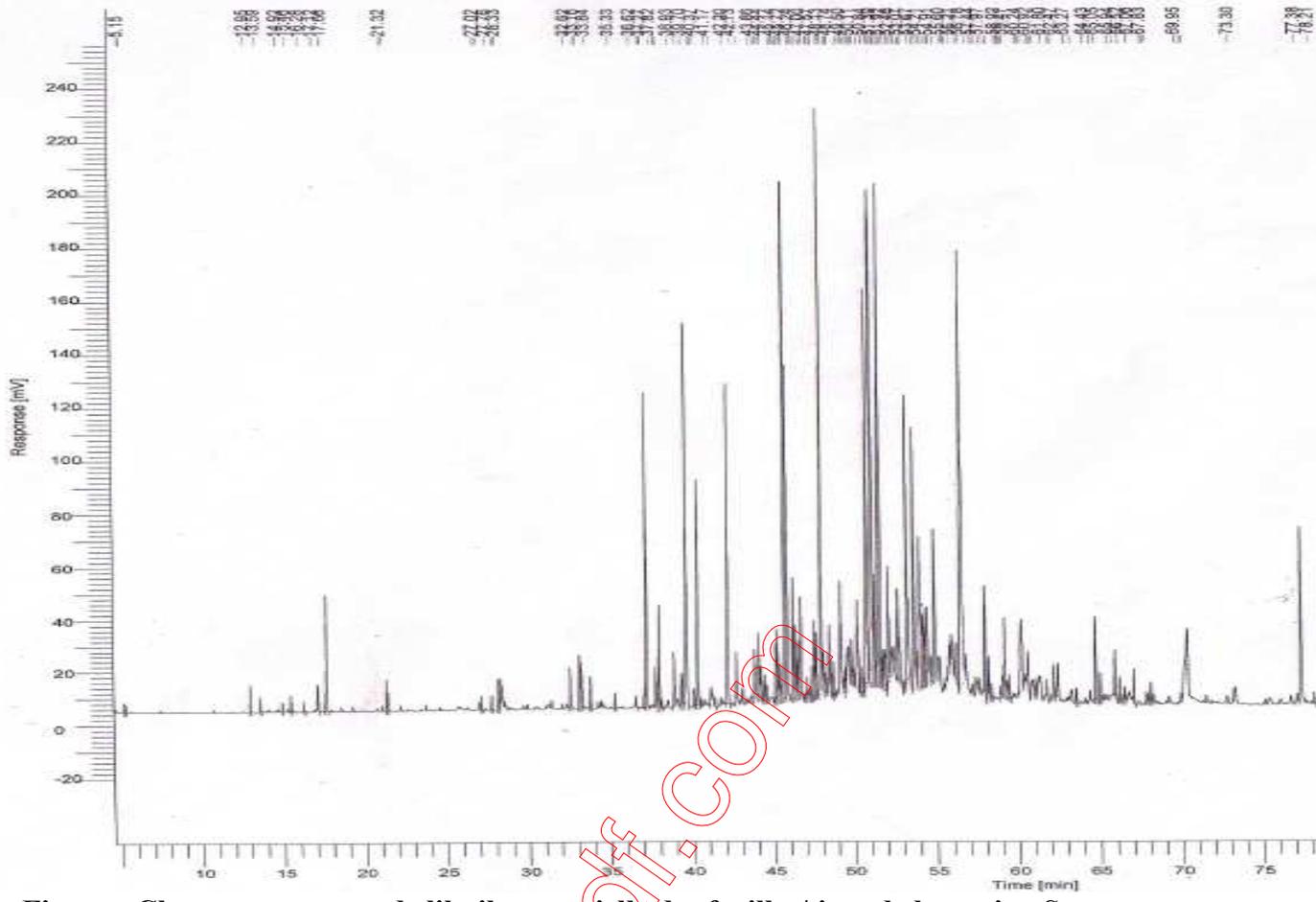
Figure : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles/tiges de la station St₁
(Colonne polaire)

www.oxpof.com



**Figure : Chromatogramme de l'huile essentielle des feuilles/tiges de la station St2
(Colonne apolaire)**

www.oxpof.com



PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Une partie des résultats de ce travail a fait l'objet de deux publications scientifiques et a été présentée sous forme de communications dans différents congrès.

Publications :

1. **Chaouki SELLES**, Omar BENALI, Boufeldja TABTI, Lahcen LARABI, Yahia HAREK

Green corrosion inhibitor: inhibitive action of aqueous extract of *Anacyclus pyrethrum* L. for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄.

J. Mater. Environ. Sci. 3 (1) (2012) 206-219

2. **Chaouki Selles**, Houria Medjdoub, Mohamed El Amine DIB, Meriem Zerriouh and Boufeldja Tabti.

Anti diabetic activity of aqueous root extract of *Anacyclus pyrethrum* L in streptozotocin induced diabetic rats

Journal of Medicinal Plants Research (2012)

Communications internationales:

- 1- **Chaouki SELLES**, Omar BENALI, Boufeldja TABTI, Lahcen LARABI, Yahia HAREK

« Green corrosion inhibitor: inhibitive action of aqueous extract of *Anacyclus pyrethrum* L. for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄. »

The fourth International Chemistry Conference. Riyadh- Saudi Arabia ,19-21/11/2011.

- 2- **Chaouki SELLES**, Omar BENALI, Boufeldja TABTI, Lahcen LARABI and Yahia HAREK

« Eco-friendly corrosion inhibitors: inhibitive action of aqueous extracts of *Anacyclus pyrethrum* L. for the corrosion of mild steel in H₂SO₄ solutions »

International Conference on Materials Science and its Applications “ Development and innovation” . Taif University, KSA, 13-15 February 2012.

- 3- O. BENALI, C. SELLES, B. TABTI, L.LARABI and Y. HAREK

« Anti-corrosive properties of *Anacyclus pyrethrum* L. plant extract on mild steel in 0.5 M H₂SO₄ solution »

The Fifth Saudi Science Conference SSC5'2012. Umm Al-Qura University. Makkah, KSA, April 16-18, 2012.

Communication acceptée :

- 4- Omar BENALI, **Chaouki SELLES**,

« Anti-Corrosive Properties of *Anacyclus Pyrethrum* L. plant. »

The 16th International Metallurgy and Materials Congress, Istanbul, Turkey, 13-15 Sep 2012

يتمحور هذا العمل حول موضوعين الأول يرتبط بالتطوير الكيميائي-نباتي و البيولوجي لـ *Anacyclus pyrethrum* L. (Asteracées) نبتة طبية من منطقة تلمسان و الآخر يقوم على الكشف عن التأثير المضاد لتآكل المستخلص المائي للنبتة.

مكن التقطير المائي للأوراق/الزهور من الحصول على زيت أساسي مكون أساسا من مركبات Sesquiterpenes و يتميز بوجود مجموعة من المركبات الرئيسية. مردود الإستخلاص ضعيف و يتغير بدلالة الزمن و كمية المادة النباتية. للمستخلص المائي للجذر فعالية جيدة ضد سكر الدم تتيح التحقق من الإستخدام التقليدي للنبتة في علاج داء السكري. أظهرت الزيوت الأساسية للأجزاء الثلاثة للنبتة و المختبرة على عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة حساسية معتدلة لبعض السلالات تجاه هذه المواد.

أخيرا توصلنا إلى إثبات أن المستخلص المائي لكل جزء من النبتة يمنع بشكل فعال لتآكل الفولاذ الطري وسط حمض الكبريت 0.5م. الدراسة الديناميكية الحرارية لامتصاص المانع بينت أنه كيميائي و أن العملية الموافقة تلقائية و تخضع لنموذج لانغمير. المدة الزمنية للغمر، درجة الحرارة و إضافة شوارد اليود عوامل تؤثر على فعالية منع التآكل لهذا المستخلص. سمح MEB برؤية طبقة ملتصقة و مستقرة على سطح الفولاذ. الكلمات المفتاحية : زيوت أساسية – مضاد لسكر الدم – مضاد الجراثيم – مضاد التآكل.

Résumé :

Ce travail s'articule autour de deux axes, l'un porte sur la valorisation phytochimique et biologique de *Anacyclus pyrethrum* L. (Asteracées) une plante médicinale de la région de Tlemcen et l'autre sur la mise en évidence de l'activité anti corrosive de l'extrait aqueux de la plante.

L'extraction des feuilles/tiges par hydrodistillation a permis d'obtenir une huile essentielle constituée principalement par des composés sesquiterpéniques et caractérisée par la présence de plusieurs composés majoritaires. Le rendement d'extraction est faible et varie en fonction du temps et de la quantité du matériel végétal.

L'extrait aqueux de la racine possède une bonne activité hypoglycémiant ce qui permet de valider l'usage traditionnel de la plante dans le traitement du diabète. Par ailleurs, les huiles essentielles des trois parties de la plante testées sur une multitude de microorganismes ont montré une sensibilité modérée de quelques souches vis-à-vis de ces produits.

En dernier, nous avons montré que l'extrait aqueux de chaque partie de la plante inhibe efficacement la corrosion d'un acier doux en milieu acide sulfurique 0.5M. L'étude thermodynamique de l'adsorption de cet inhibiteur prouve qu'il s'agit d'une chimisorption et que le processus correspondant est spontané et suit l'isotherme de Langmuir. Le temps d'immersion, la température et l'ajout d'iodures influent sur l'efficacité inhibitrice de l'extrait. Le MEB a permis la visualisation d'une couche adhérente et stable à la surface de l'acier.

Mots clés : *Anacyclus pyrethrum* L, Huile essentielle, antidiabétique, antimicrobien, anticorrosif.

Adstract :

This work is structured around two axes, one deals with the development of phytochemical and biological *Anacyclus pyrethrum* L. (Asteraceae) a medicinal plant in the region of Tlemcen and the other on the detection of anti corrosive effect of aqueous extract of the plant.

The extraction of the leaves/stems by hydrodistillation yielded an essential oil composed mainly of sesquiterpene compounds and characterized by the presence of several major compounds. The extraction yield is low and varies with time and amount of plant material.

The aqueous extract of the root has a good hypoglycemic activity which validates the traditional use of the plant in the treatment of diabetes. Moreover, the essential oils of the three parts of the plant tested on a multitude of microorganisms have shown a moderate sensitivity of some strains vis-à-vis these products.

Finally, we showed that the aqueous extract of each plant part inhibits effectively corrosion of mild steel in 0.5M sulfuric acid medium. The thermodynamic study of the adsorption of this inhibitor shows that it is a chemisorption and that the corresponding process is spontaneous and follows the Langmuir isotherm. The immersion time, temperature and the addition of halide affect the inhibition efficiency of the extract. The SEM allowed the visualization of an adherent and stable layer on the surface of the steel.

Keywords: *Anacyclus pyrethrum* L, essential oil, antidiabetic, antimicrobial, anti-corrosive.



Green corrosion inhibitor: inhibitive action of aqueous extract of *Anacyclus pyrethrum* L. for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄

Chaouki SELLES^a, Omar BENALI^{b,*}, Boufeldja TABTI^a,
Lahcen LARABI^c, Yahia HAREK^c

^aLaboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO),
Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen

^bDépartement de Biologie, Faculté des sciences et de la technologie, Université Dr. Tahar Moulay - Saïda

^cLaboratoire d'électrochimie et de chimie analytique (LECA),
Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen

Received in 26 Sept 2011, Revised 11 Oct 2011, Accepted 11 Oct 2011.

Email: benaliomar@hotmail.com (corresponding author); Telephone / Fax: +213(0) 48 47 48 50

Abstract

The efficacy of an aqueous extract of the leaves and stems of *Anacyclus pyrethrum* L (LS-AP) as corrosion inhibitor for mild steel in 0.5 M sulphuric acid medium was carried out using the electrochemical methods. Experiments are performed by concentration of the inhibitor, temperature, synergism effect and varying immersion period. The results showed variation in inhibition performance of the inhibitor with varying concentration, temperature, iodide concentration and immersion time. Langmuir model was tested to describe the adsorption behaviour of inhibitor on the mild steel surface for all temperatures. Some thermodynamic functions of dissolution and adsorption processes were also determined.

Keywords: alloys, corrosion test, electrochemical techniques, adsorption.

1. Introduction

Use of inhibitors is one of the most practical methods for protection against corrosion especially in acid solutions to prevent unexpected metal dissolution and acid consumption [1-3].

Different organic and inorganic compounds have been studied as inhibitors to protect metals from corrosion attack. Usually, organic compounds exert a significant influence on the extent of adsorption on the metal surface and therefore can be used as effective corrosion inhibitors. The efficiency of these organic corrosion inhibitors is related to the presence of polar functions with S, O or N atoms in the molecule, heterocyclic compounds and p electrons [4-7]. The polar function is usually regarded as the reaction center for the establishment of the adsorption process [8-10]. The known hazardous effects of most synthetic organic inhibitors and restrictive environmental regulations have now made researchers to focus on the need to develop cheap and environmentally benign natural products as corrosion inhibitors. These natural organic compounds are either synthesized or extracted from aromatic herbs, spices and medicinal plants. Plant extracts are viewed as an incredibly rich source of naturally synthesized chemical compounds that can be extracted by simple procedures with low cost and are biodegradable in nature. The use of these natural

products such as extracted compounds from leaves or seeds as corrosion inhibitors have been widely reported by several authors [2, 11–19].

Anacyclus pyrethrum L. (Link) (Compositae, Asteraceae), commonly known as “African Pyrethrum” and referred to as ‘Tigenthast’, is a perennial, procumbent herb, which is native from the North of the Africa and is cultivated in the Mediterranean [20].

The plant grows to about 30 to 50 cm high and has tough double-pinnate leaves. The stems are numerous, procumbent and somewhat branched. The root which represents the medicinal part of the plant is almost cylindrical, long, thick, fibrous, rough, brown outside and white inside [21].

Anacyclus pyrethrum L. is being widely used in the local traditional medicinal treatment system to several diseases: it is used in the treatment of some rheumatic and neuralgic affection of the head, the tooth and face. A local ethnobotanical survey carried out showed its possible anti-diabetic activity [22].

Previous chemical studies indicate that the plant possesses immunomodulatory properties [23-24].

Everywhere in Algeria, the root is used as sternutatory, sialagogue and diaphoretic. It is regarded as a tonic to the nervous system. It is also used in respiratory infections and in the treatment of liver disease [20, 23]. In some other countries, the roots are also considered aphrodisiac and sexual stimulant. In Indian medicine, the plant is widely recognized as tonic and rejuvenator [25]. It has been reported that the *Anacyclus pyrethrum* root has antibacterial and anti-inflammatory activities and is known for its insecticidal properties [20].

This study aims to gain some insight into the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ in the presence of the aerial parts (Leaves and Stems) of *Anacyclus pyrethrum* L. (LS-AP) extract as a corrosion inhibitor. The inhibitor effect of this naturally occurring biological molecule on the corrosion of mild steel in 0.5M H₂SO₄ was investigated by potentiodynamic polarization and electrochemical impedance methods. Thermodynamic parameters such as adsorption heat, adsorption entropy and adsorption free energy can be obtained from experimental data of the studies of the inhibition process at different temperatures. The kinetic data such as apparent activation energy and pre-exponential factor at different inhibitor concentrations are calculated and discussed. The synergism effect of LS-AP extract and iodide anion and influence of immersion time were also studied.

2. Experimental

2. 1. Plant material

The aerial parts (Leaves and Stems) of *Anacyclus pyrethrum* L. were harvested from the mounts of Tlemcen (north-west of Algeria), in April 2009. The authenticity and the botanical identification of the species were confirmed, according to the “Nouvelle Flore de l’Algérie” [21] by Pr. Noury Benabadi, “Laboratoire d’Ecologie et Gestion des Ecosystèmes”, University of Tlemcen (Algeria). A voucher specimen was deposited in this laboratory.

2. 2. Preparation of the extract

Fresh leaves and stems were dried at room temperature. Aqueous extract was obtained as follows. In brief, 100 g of dried leaves and stems were extracted by refluxing with distilled water for one hour. Thereafter, it was decanted and filtered with filter paper and followed by centrifugation for 30 min at 5000 rpm. The supernatant was filtered to eliminate any residues. The filtrate was dried in the oven at 40 °C to make a powder yielding 3.6 % (w/w). The solid residue was stored in dessicator prior use for subsequent experiments.

2. 3. Phytochemical screening

Phytochemical screening was carried out on the aqueous extract freshly prepared according to the common phytochemical methods described by Harborne [26]. The different chemical constituents tested, included reducing sugars, gallic and catechol tannins, saponins, alkaloids, sterols and triterpenes, anthraquinones and flavonoids.

2. 4. Solution and material

A 0.5 M H₂SO₄ solution was prepared from an analytical reagent grade of H₂SO₄ 98% and distilled water and was used as corrosion media in the studies.

For the electrochemical measurements, the experiments were carried out in solution of 0.5 M sulfuric acid (uninhibited and inhibited) on mild steel of composition (wt%) : C ≤ 0.1%, Si ≤ 0.03%, Mn ≤ 0.2%, P ≤ 0.02%, Cr ≤ 0.05%, Ni ≤ 0.05%, Al ≤ 0.03% and the remainder iron. Specimens in the form of disc were abraded successively with different grades of emery paper up 1200 grade.

2. 5. Electrochemical measurements

Electrochemical experiments were carried out in a glass cell (CEC/TH-Radiometer) with a capacity of 500 ml. A platinum electrode (1cm²) and a saturated calomel electrode (SCE) were used as a counter electrode and a reference electrode, respectively. The working electrode (WE) was in the form of a disc cut from mild steel under investigation and was embedded in a Teflon rod with an exposed area of 0.5 cm². Electrochemical impedance spectroscopy (EIS), potentiodynamic and linear polarization tests were conducted in an electrochemical measurement system (VoltaLab40) which comprises a PGZ301 potentiostat, a personal computer and VoltaMaster 4 and Zview software. The potentiodynamic current–potential curves were recorded by changing the electrode potential automatically from –750 to –300 mV with scanning rate of 0.5 mV s⁻¹. The polarization resistance measurements were performed by applying a controlled potential scan over a small range typically 20 mV with respect to E_{corr}. The resulting current is linearly plotted against potential, the slope of this plot at E_{corr} being the polarization resistance (Rp). All experiments were carried out in freshly prepared solution at constant temperatures, 25, 30, 35 and 40 ± 0.1 °C using a thermostat. The ac impedance measurements were performed at corrosion potentials (E_{corr}) over a frequency range of 10 kHz – 100 mHz, with a signal amplitude perturbation of 10 mV. Nyquist plots were obtained. From the measured polarization resistance value, the inhibition efficiency has been calculated using the relationship:

$$IE (\%) = (1 - R_{0p}/R_{ip}) \times 100 \quad (1)$$

where R_{0p} and R_{ip} are the polarization resistance in absence and in presence of inhibitor, respectively. The inhibition efficiency was evaluated from the measured I_{corr} values using the relationship:

$$IE (\%) = (1 - i_{icorr}/i_{0corr}) \times 100 \quad (2)$$

where i_{0corr} and i_{icorr} are the corrosion current density in absence and in presence of inhibitor, respectively. The inhibition efficiency of the inhibitor has been found out from the charge transfer resistance values using the following equation:

$$IE (\%) = (1 - R_{0t}/R_{it}) \times 100 \quad (3)$$

where R_{0t} and R_{it} are the charge transfer resistance in absence and in presence of inhibitor, respectively.

2. 6. Scanning electron microscopy (SEM) analysis

The scanning electron microscope images of the samples were recorded using HITACHI TM 1000 analytical scanning electron microscope.

3. Results and discussion

3. 1. Phytochemical screening

The findings of the phytochemical screening of the aerial parts of plant's aqueous extract are shown in Table 1. The results of the phytochemical analysis showed that the aqueous extract contained flavonoids, sterols and triterpenes, catechol tannins, reducing sugars, saponins and alkaloids. The number of positive signs is proportional to the intensity of the reactions that reflects the available quantity. The assays for gallic tannins and anthraquinones gave negative results.

Table 1. Phytochemical screening of extract of the aerial parts (Leaves and Stems) of *Anacyclus pyrethrum* L

Chemical constituent	Screening
Reducing sugars	++
Gallic tannins	-
Catechol tannins	++
Saponins	+
Alkaloids	+
Sterols and triterpenes	+++
Anthraquinones	-
Flavonoids	+++

-, Negative test, +, slightly positive test; ++, positive test and ++++, very positive test .

3. 2. Polarization measurements

Potentiodynamic anodic and cathodic polarization scans were carried out at 30 ± 0.1 °C in 0.5 M H_2SO_4 with different concentrations of LS-AP extract.

Anodic and cathodic polarization curves in the absence and in the presence of inhibitor at different concentrations after 1 h of immersion are shown in Figure 1.

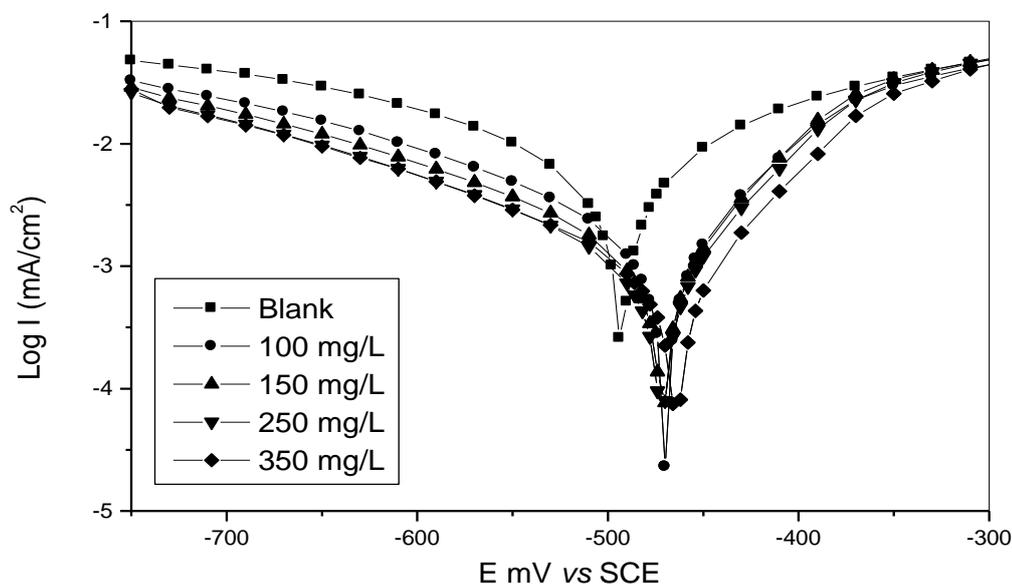


Figure 1. Potentiodynamic polarization curves for mild steel in 0.5 M H_2SO_4 containing different concentrations of LS-AP extract at 30 °C.

From this figure, it can be seen that with the increase of LS-AP extract concentrations, both anodic and cathodic currents were inhibited. This result shows that the addition of LS-AP extract inhibitor reduces anodic dissolution and also retards the hydrogen evolution reaction.

Table 2 gives the values of kinetic corrosion parameters as the corrosion potential E_{corr} , corrosion current density I_{corr} , Tafel slope b_c , R_p values and inhibition efficiency for the corrosion of mild steel in 0.5 M H_2SO_4 with different concentrations of LS-AP extract. The corrosion current densities were estimated by Tafel extrapolation of the cathodic curves to the open circuit corrosion potential.

From this table, it can be concluded that:

- The I_{corr} values decrease with increasing inhibitor concentration.
- The cathodic Tafel slopes were found to vary over a range of 285 - 222 mV dec⁻¹. Therefore, the cathodic slope value was found to change with increasing concentration of LS-AP extract in 0.5 M H₂SO₄. This result indicates the influence of the inhibitor on the kinetics of the hydrogen evolution reaction [8].
- The values of inhibition efficiency (P %) increase with inhibitor concentration reaching a maximum value (82%) at 350 mg /L.
- The LS-AP extract is a mixed inhibitor with small shift in anodic values.

Table 2. Electrochemical parameters and the corresponding corrosion inhibition efficiencies for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ containing different concentrations of AP-LS extract at 30 °C.

Conc. (mg/L)	E _{corr} (mV vs CSE)	I _{corr} (mA /cm ²)	R _p (Ω. Cm ²)	b _c (mV/dec)	P% (I _{corr})	P% (R _p)
Blank	-494	8.22	6.35	285.00	---	---
100	-470	2.63	14.39	232.60	68.00	55.87
150	-470	2.04	19.54	234.70	75.20	67.50
250	-469	1.51	24.13	222.20	81.64	73.68
350	-469	1.48	26.60	229.30	82.00	76.13

3.3. Electrochemical impedance spectroscopy measurements

Nyquist plots of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ in the presence and absence of different concentrations of LS-AP extract at 30°C and after 1 h of immersion are given in Figure 2. All the plots display a single capacitive loop [27]. Impedance parameters derived from the Nyquist plots and percent inhibition efficiencies are given in Table 3.

The circuit consists of a constant phase element (CPE) Q, in parallel with a resistor R_t. The use of CPE-type impedance has been extensively described [28–30]:

$$Z_{\text{CPE}} = [Q(j\omega)^n]^{-1} \quad (4)$$

The above equation provides information about the degree of non-ideality in capacitance behavior. Its value makes it possible to differentiate between the behavior of an ideal capacitor (n = 1) and of a CPE (n < 1).

Considering that a CPE may be considered as a parallel combination of a pure capacitor and a resistor that is inversely proportional to the angular frequency,

the value of capacitance, C_{dl}, can thus be calculated for a parallel circuit composed of a CPE (Q) and a resistor (R_t), according to the following formula [31, 32]:

$$Q = (C_{\text{dl}}R_t)^n/R_t \quad (5)$$

The impedance spectra of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ with and without inhibitor were analyzed by using the circuit in Figure 3, and the double layer capacitance (C_{dl}) was calculated in terms of Eq. 5. Values of elements of the circuit corresponding to different corrosion systems, including values of C_{dl}, are listed in Table 3.

As can be seen from Table 3, the increase in resistance in the presence of LS-AP extract compared to H₂SO₄ alone is related to the corrosion protection effect of the phytochemical constituents. The value of C_{dl} decreases in the presence of LS-AP extract, suggesting that the extract plant molecules function by adsorption at the metal solution/interface. It is important to point out that n reaches approximately the same value of 0.80. This result can be interpreted as an indication of the degree of heterogeneity of the metal surface, corresponding to a small depression of the double layer capacitance semicircle [9]. The values of inhibition efficiency increase with inhibitor concentration at a maximum value (87%) at 350 mg /L.

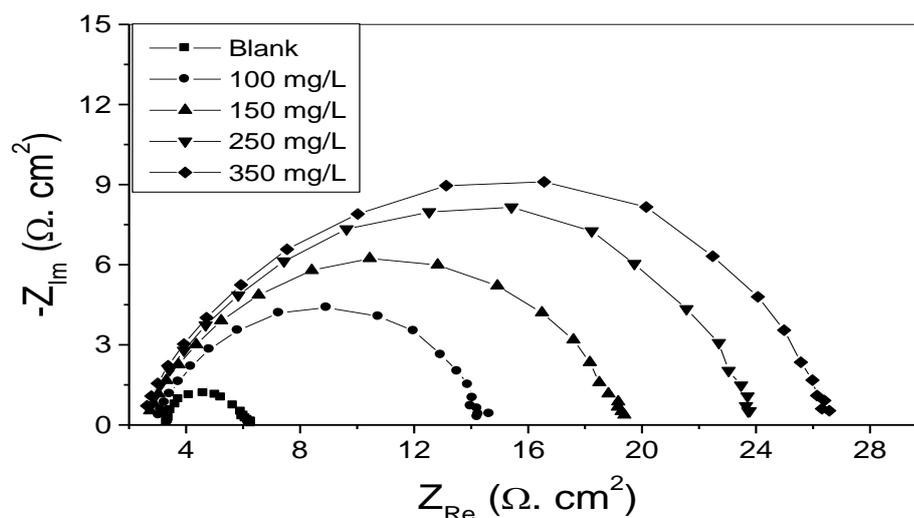


Figure 2. Complex plane plots for mild steel in 0.5 M H₂SO₄ solution in the absence and in the presence of different concentrations of LS-AP extract at 30°C.

Table 3 . Impedance parameters and inhibition efficiency for the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ containing different concentrations of AP-LS extract at 30°C

Conc. (mg/ L)	Q (s ⁿ Ω ⁻¹ .cm ⁻²)	n	R _t (Ω.cm ²)	C _{dl} (μ F cm ⁻²)	P (%)
Blank	0.00100	0.81	3.13	259	----
100	0.00030	0.81	11.69	80	73.22
150	0.00028	0.78	17.08	62	81.67
250	0.00021	0.79	21.65	50	85.54
350	0.00021	0.78	24.11	47.28	87.01

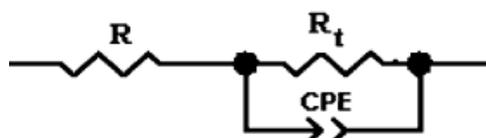


Figure 3. The equivalent circuit of the impedance spectra obtained for LS-AP extract.

3.4. Effect of temperature

To investigate the mechanism of inhibition and to calculate the activation energies of the corrosion process, polarization measurements were taken at various temperatures in the absence and the presence of different concentrations of LS-AP extract. Corresponding data are given in Table 4. In the studied temperature range (25 - 40 °C) the corrosion current density increases with increasing temperature both in uninhibited and inhibited solutions and the values of the inhibition efficiency of LS-AP extract increases with the temperature. The corrosion current density of steel increases more rapidly with temperature in the absence of the inhibitor, these results confirm that LS-AP extract acts as an efficient inhibitor in the range of temperature studied.

The activation parameters for the corrosion process were calculated from Arrhenius type plot according to the following equation [3]:

$$\log I = -\frac{E_a}{2.303 RT} + \log A \quad (6)$$

and from transition state plot according to the following equation[3]:

$$\log \frac{I}{T} = -\frac{\Delta H_a^0}{2.303 R T} + B \quad (7)$$

where E_a is the apparent activation energy, A the pre-exponential factor, R the universal gas constant, ΔH_a the enthalpy of activation and T the absolute temperature.

The variations of logarithm of the corrosion rate of mild steel ($\log I$) in sulphuric acid containing various concentrations of LS-AP extract used and $\log (I/T)$ with reciprocal of the absolute temperature are presented in Figs. 4 and 5, respectively. Straight lines with coefficients of correlation (c. c) of 0.99 are obtained.

The E_a and ΔH_a values were determined from the slopes of these plots. The calculated values of E_a and ΔH_a in the absence and the presence of different concentrations of LS-AP extract are given in Table 5. Inspection of these data reveal that the apparent activation energy E_a and pre-exponential factor (A) in 0.5 M H_2SO_4 in absence of LS-AP extract was 48.63 kJ/mol and 1.84×10^{10} mA.cm², respectively. The addition of LS-AP extract to the acid solution decreases the activation energy and exponential factor (A) and the extent of the decrease is very pronounced at 350 mg/L. Note that the reduction of the activation energy in the presence of LS-AP extract may be attributed to the chemisorption of the LS-AP extract inhibitor on mild steel surface [33, 34].

Table 4. Effect of temperature on the inhibition efficiency and electrochemical parameters of the mild steel in 0.5 M H_2SO_4 with and without LS-AP extract at different concentrations

Conc. (mg/L)	Temp. (°C)	E_{corr} vs.SCE/ mV	I_{corr} ($\mu A\ cm^{-2}$)	P (%)
Blank	25	-497	5.01	----
	30	-494	8.22	----
	35	-490	10.92	----
	40	-490	13.49	----
100	25	-469	1.65	67.07
	30	-470	2.63	68.00
	35	-474	3.02	72.34
	40	-470	3.80	71.83
150	25	-470	1.55	69.06
	30	-470	2.04	75.20
	35	-474	2.45	77.56
	40	-470	2.69	80.06
250	25	-474	1.15	77.05
	30	-469	1.51	81.64
	35	-474	1.82	83.33
	40	-470	2.04	84.88
350	25	-474	1.10	78.08
	30	-469	1.48	82.00
	35	-474	1.63	85.07
	40	-486	1.77	86.88

The lower E_a value obtained in the presence of LS-AP extract when compared to that in its absence indicates chemisorption of the corrosion inhibitor [19]. According to Radovici, cited by Popova et al. [35], lower E_a values in solutions containing inhibitor indicate a specific type of adsorption of the inhibitors, while Szauer

and Brandt [36] associate this behavior with the chemisorption of the inhibitor to the metal surface and Machu, cited in reference [19, 35], to the action of powerful corrosion inhibitors.

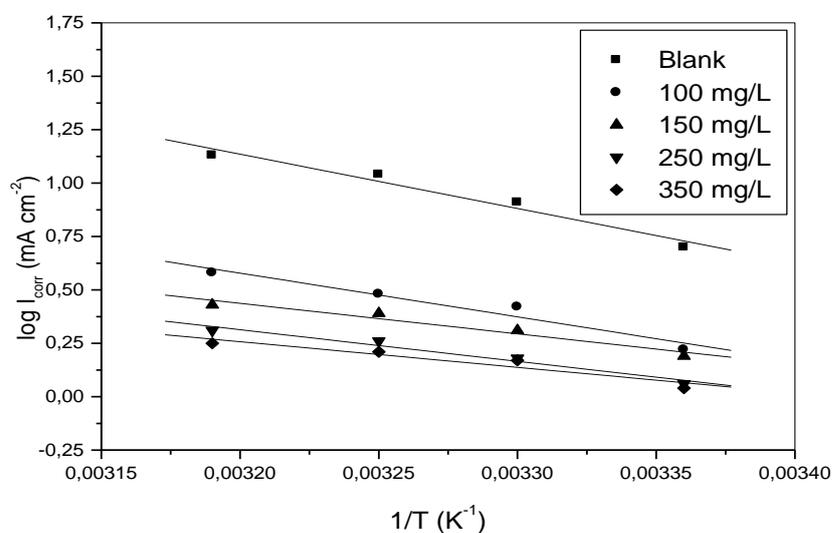


Figure 4. $\log I_{\text{corr}}$ vs T for mild steel dissolution in in 0.5 M H_2SO_4 in the absence and the presence of different concentrations of LS-AP extract.

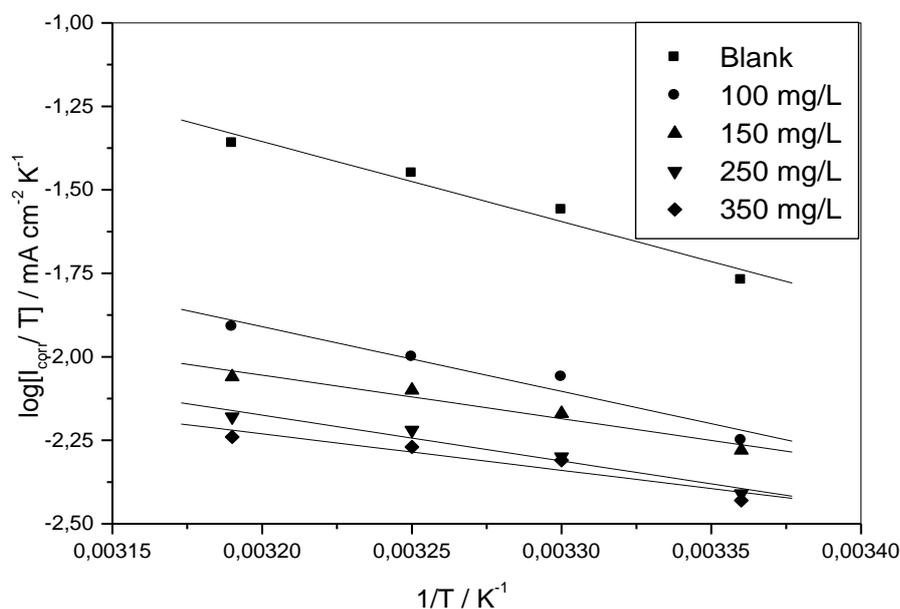


Figure 5. $\log I_{\text{corr}}$ vs $1/T$ for mild steel dissolution in in 0.5 M H_2SO_4 in the absence and the presence of different concentrations of LS-AP extract.

Taking into consideration these references and the E_a value calculated from Arrhenius plots, the action of LS-AP extract as a corrosion inhibitor for mild steel in acid solution can be attributed to a strong adsorption bond which is of a chemisorptive nature, involving charge sharing or charge transfer from the molecules of LS-AP extract to the mild steel surface to form a coordinate-type bond.

Table 5. The apparent activation energy E_a and the activation enthalpy ΔH_a° of dissolution of mild steel in 0.5 M H_2SO_4 in the absence and presence of different concentrations of LS-AP extract.

Conc. (mg/L)	E_a (kJ.mol ⁻¹)	Pre-exponential Factor (A) (mA.cm ²)	ΔH_a° (kJ mol ⁻¹)	ΔH_a° (kJ mol ⁻¹) (from equation (8))
Blank	48.63	1.84x10 ¹⁰	45.85	46.11
100	39.14	1.30x10 ⁷	37.07	36.62
150	27.32	1.00x10 ⁵	24.94	24.80
250	28.33	1.12x10 ⁵	26.27	25.81
350	22.98	1.25x10 ⁴	20.91	20.46

Moreover one remark that the ΔH_a values obtained from the slopes of plots $\log(I_{corr}/T)$ vs $f(1/T)$ and those determined from the equation (8) are in good agreement:

$$\Delta H_a = E_a - RT \quad (8)$$

3.5. Adsorption

Basic information on the interaction between the inhibitor and the mild steel can be provided by the adsorption isotherm. The adsorption of the organic compounds can be described by two main types of interaction: physical adsorption and chemisorption. These are influenced by the chemical structure of the inhibitor, the type of the electrolyte and the charge and nature of the metal. The surface coverage θ of the metal surface by the adsorbed inhibitor was calculated [30] assuming no change in mechanism of the cathodic reaction using the equation:

$$\theta = (I_{0corr} - I_{icorr})/I_{0corr} \quad (9)$$

where I_{0corr} and I_{icorr} are the currents densities in the presence and absence of the inhibitor.

The θ values for different inhibitor concentrations at different temperatures were tested by fitting to various isotherms. By far the best fit was obtained with the Langmuir isotherm. According to this isotherm θ is related to concentration inhibitor C via

$$\frac{C}{\theta} = \frac{1}{K} + C \quad (10)$$

where K is the adsorptive equilibrium constant.

The obtained values of adsorption constant, slope and regression factors are given in Table 6.

Table 6. Thermodynamic parameters for of mild steel in 0.5 M H_2SO_4 in the absence and presence of different concentrations of LS-AP extract.

T (K)	K (L/mg)	slope	R
298	2.92 x 10 ⁴	1.17	0.999
303	3.05 x 10 ⁴	1.11	0.999
308	3.45x 10 ⁴	1.08	0.999
313	3.30 x 10 ⁴	1.06	0.999

3. 6. Synergistic consideration

Halides ions have been widely reported to synergistically increase the inhibition of the corrosion of metals in acidic medium by organic compounds [4, 37-42]. The enhanced corrosion inhibition on addition of the halides was attributed to promotion of the adsorption of the organic molecules on the metal surface. The effect of KI on the inhibition efficiency of LS-AP extract was investigated in the present work at 30°C. Figure 6 shows the plot of different values of R_i for all concentration of LS-AP extract in the absence and presence of 0.2% KI at 30°C after one hour of immersion.

Similarly, Figure 7 shows the plot of R_t values vs. KI concentration added to a fixed extracts' concentration (350 mg/L) for LS-AP extract at 30°C after one hour of immersion.

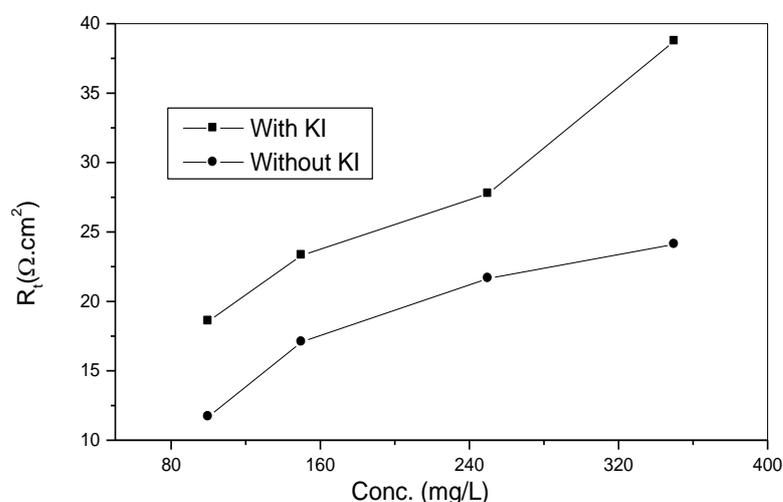


Figure 6. R_t values in the absence and presence of 0.2% KI for different concentrations of LS-AP extract. Figs. 6 and 7 clearly reveals the existence of synergism phenomenon between iodide ions and the LS-AP extract considering that R_t was increased on addition of the iodide ions to the extracts in comparison to the extract alone.

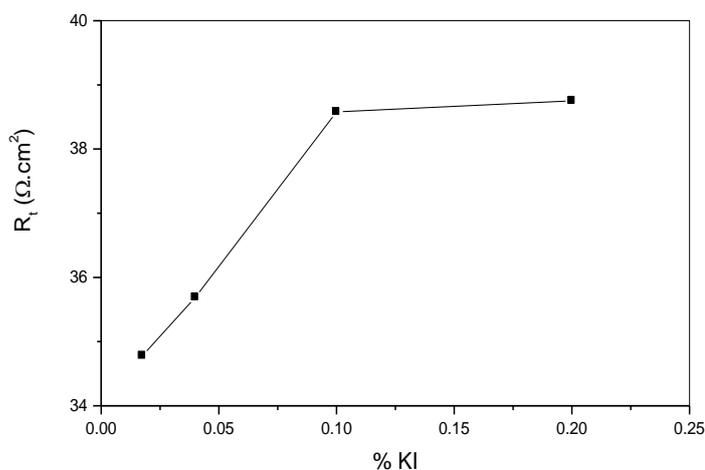


Figure 7. The plot of R_t values vs. % KI for LS-AP extract at 350 mg/L.

To further confirm whether synergism is taking place, one has to determine the synergism parameter (s), the synergism parameters were calculated using the relationship proposed by Aramaki and Hackerman [43]:

$$S = \frac{1 - P_{1+2}}{1 - P'_{1+2}} \quad (11)$$

where $P_{1+2} = (P_1 + P_2) - (P_1 \times P_2)$; P_1 is the inhibition efficiency (no exprimed in percent) of substance 1 (LS-AP extract), P_2 is the inhibition efficiency of substance 2 (KI), P'_{1+2} is the measured inhibition efficiency for substance 2 in combination with substance 1. Here, P that is equal to % $P/100$ is determined from impedance measurements. S approaches 1 when no interaction between the inhibitor compounds exists, while $S > 1$ points to a synergistic effect. In the case of $S < 1$, the adsorption of each compound antagonizes the others adsorption. Values of S are given in Table 7. It can be seen from this table that most of values are

greater than unity. This result suggests that the improvement of inhibition efficiency generated by the addition of KI to LS-AP extract is generally due to a synergistic effect, exceptionally for 250 mg/L.

Table 7. Values of synergisms parameter (S) for different concentrations of LS-AP extract

Conc. (mg/L)	S
100	1.21
150	1.04
250	0.97
350	1.22

2. 7. Immersion time

The impedance spectra of mild steel in 0.5 M H₂SO₄ with and without 350 mg/L of LS-AP extract are shown in Figs 8a and 8b. The Nyquist plots were recorded after different immersion periods and each spectrum is characterized by a single full semi-circle.

The calculated values of R_t and C_{dl} for mild steel immersed in the inhibited H₂SO₄ solution at different exposure times are shown in Table 8.

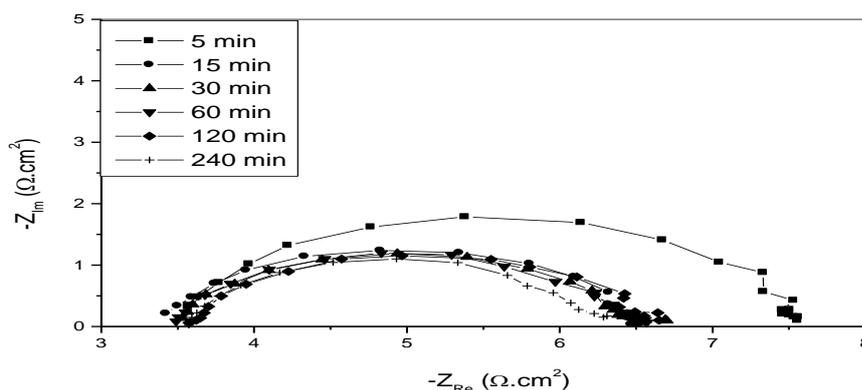


Figure 8a. Effect of immersion time on Nyquist plots of mild steel in 0.5M H₂SO₄ in absence of LS-AP extract.

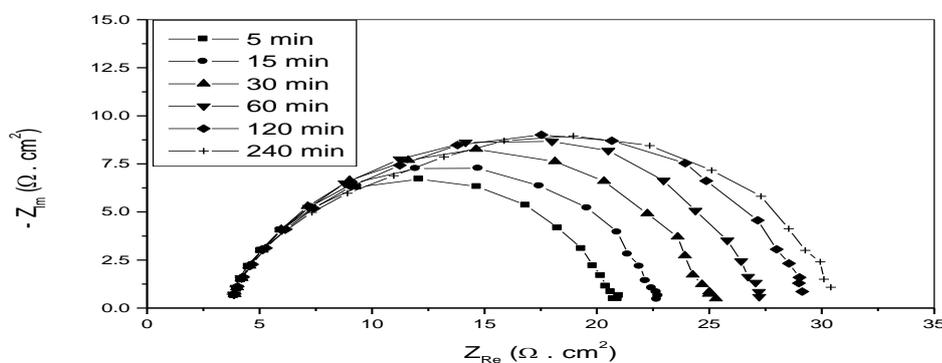


Figure 8b. Effect of immersion time on Nyquist plots of mild steel in 0.5M H₂SO₄ in presence of 350mg/L of LS-AP extract.

Table 8 . Effect of immersion time on R_t , C_{dl} and inhibition efficiency for mild steel in 0.5M H_2SO_4 with and without 350mg/L of AP-LS extract

Immersion time (min)		R_t (ohm cm^2)	C_{dl} (μF cm^{-2})	P (%)
5	Blank	4.11	63.11	---
	350mg/L	17.36	35.46	76.32
15	Blank	3.09	89.81	-----
	350mg/L	19.24	37.94	83.94
30	Blank	2.97	164.20	-----
	350mg/L	21.84	40.93	86.40
60	Blank	3.13	259	----
	350mg/L	24.11	47.28	87.01
120	Blank	3.10	373.93	-----
	350mg/L	26.45	52.38	88.23
240	Blank	2.74	594.27	-----
	350mg/L	28.74	24.68	90.46

As can be seen from Table 8, we notice that as when the immersion time increases the difference between the double-layer capacity of mild steel immersed in acid alone and those in the presence of 350 mg/L of LS-AP extract increases, this phenomenon is attributed to the film formed by the protective molecule inhibitors is thicker when the immersion time increases. In addition, we note that the inhibition efficiency increases from 76% to 91% after 4 hours of immersion.

As the thickness (d) of the protective film can be related to the film's capacitance (C) by the expression [8]:

$$d = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A}{C_{dl}} \quad (12)$$

where ϵ_0 , vacuum permeability; ϵ_r , dielectric constant of the film ; A , area of electrode , it can be assumed that film thickness increases with decrease in C_{dl} .

2. 8. Scanning Electron Microscopy

In order to evaluate the surface morphology of the composite surface in contact with sulphuric solution, a superficial analysis was carried out.

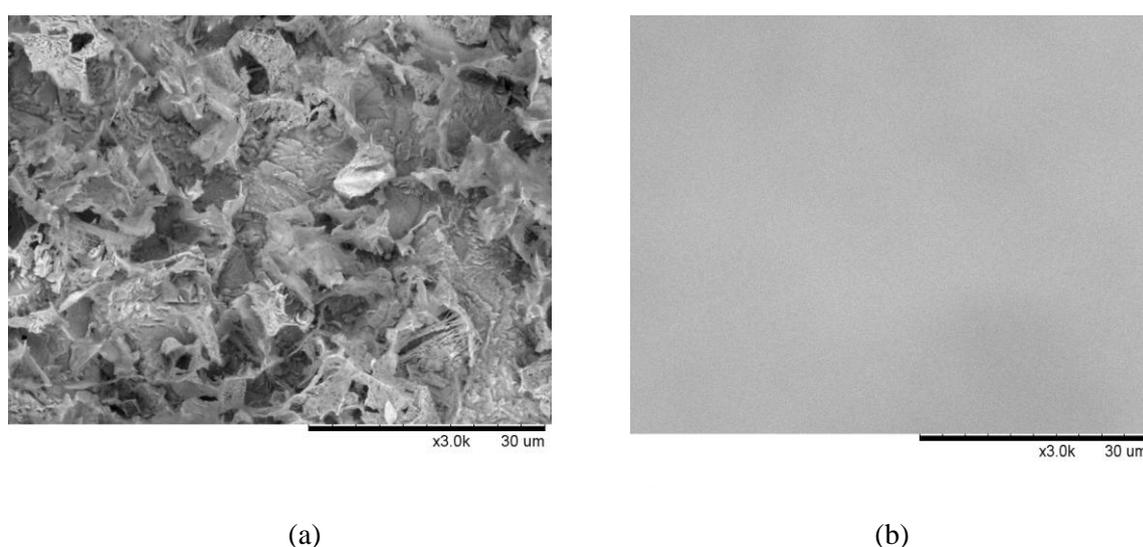


Figure 10. SEM image of the surface of mild steel after immersion for 6 h in 0.5 M H_2SO_4 solution at 30 °C (a) in the absence of inhibitor (b) in the presence of 350 mg/L of LS-AP extract

The SEM micrograph of the corroded specimen after 6 hour of immersion in 0.5 M H₂SO₄ solution is shown in Fig 9(a). The faceting seen in the figure is due to the attack of aggressive solution on the composite sample, causing more or less uniform corrosion. Fig 9(b) depicts the SEM of the specimen after 6 hour of immersion in 0.5 M H₂SO₄ solution in the presence of 350 ppm of LS-AP extract. It can be seen that the flakes on the surface of the specimen are reduced when compared with the micrograph given in Fig 9(a). The specimen surface can be observed to be covered with a thin layer of the inhibitor molecules, giving protection against corrosion.

Conclusion

The results obtained show that LS-AP extract is a good corrosion inhibitor for mild steel under acidic conditions. The maximum inhibition efficiency was 87%. Good agreement between the inhibition efficiencies calculated using different techniques was obtained. The adsorption of the organic inhibitor onto the mild steel surface was characterized by the decrease in (i) the cathodic and anodic current densities observed in the potentiodynamic polarization curves carried out in the presence of LS-AP extract, (ii) the polarization resistance in the solutions containing the inhibitor, (iii) the double-layer capacitance computed from electrochemical impedance spectroscopy experiments. Also, the components of the inhibitor acts by blocking the cathodic and anodic surface sites and by modifying activation energy of the both cathodic and anodic reaction. The chemisorption aspect of the adsorption process was well-established by the values of ΔG_{ads}^0 calculated from the slope of the Langmuir isotherm at different temperatures, which best fitted the experimental data of the relationship between LS-AP extract concentration and surface coverage. The lower activation energy of the corrosion process in the presence of the corrosion inhibitor, when compared to that in its absence, also demonstrated the chemisorptive nature of the adsorption. The synergism parameter (S) evaluated for 0.2% KI was found to be greater than unity showing that the enhanced inhibition efficiency of LS-AP extract on the addition of iodide ions was due to synergistic effect. The values of the inhibition efficiency increased with the immersion time and leads to the formation of a protective film which grows with increasing exposure time.

References

1. Sorkhabi H.A., Seifzadeh D., Hosseini M.G., *Corros. Sci.* 50 (2008) 3363.
2. Satapathy A.K., Gunasekaran G., Sahoo S.C., Kumar Amit, Rodrigues P.V., *Corros. Sci.* 51 (2009) 2848.
3. El Ouali, B., Hammouti, B., Aouiniti, A., Ramli, Y., Azougagh, M., Essasi, E.M., Bouachrine, M., *J. Mater. Environ. Sci.* 1 (2010) 1.
4. Benali O., Larabi L., Traisnel M., Gengembre L., Harek Y., *Appl. Surf. Sci.* 253 (2007) 6130.
5. Merah S., Larabi L., Benali O., Harek Y., *Pigm. Resin. Technol.* 37 (5) (2008) 291.
6. Benali O., Larabi L., Harek Y., *J. Appl. Electrochem.* 39 (2009) 769.
7. Benali O., Larabi L., Harek Y., *J. Saud. Chem. Soc.* 14 (2) (2010) 231.
8. P. R. Roberge, Corrosion inhibitors, in: Handbook of Corrosion Engineering, McGraw-Hill, New York, (1999).
9. Benali O., Larabi L., Tabti B., Harek Y., *Anti-Corros. Meth. Mat.* 52 (2005) 280.
10. Benali O., Larabi L., Mekelleche S.M., Harek Y., *J. Mater. Sci.* 41 (2006) 7064.
11. Oguzie E. E., *Mater. Chem. Phy.* 99 (2006) 441.
12. Okafor P.C., Ikpi M.E., Uwah I.E., Ebenso E.E., Ekpe U.J., Umoren S.A., *Corros. Sci.* 50 (2008) 2310.
13. Radojic I., Berkovic K., Kovac S., Furac J.V., *Corros. Sci.* 50 (2008) 1498.
14. Raja P.B., Sethuraman M.G., *Mater. Lett.* 62 (2008) 113.
15. El bribri, A., Tabyaoui, M., El Attari, H., Boumhara, K., Siniti, M., Tabyaoui, B., *J. Mater. Environ. Sci.* 2 (2) (2011) 156.
16. Loto, C. A., *J. Mater. Environ. Sci.* 2 (4) (2011) 335.
17. Goncalves R.S., Mello L.D., *Corros. Sci.* 43 (2001) 457.
18. Bouyanzer A., Hammouti B., Majidi L., *Mater. Lett.* 60 (2006) 2840.
19. de Souza F.S., Spinelli A., *Corros. Sci.* 51 (2009) 642.

20. Bellakhdar J., *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires* - Saint -Etienne, Edit. Ibis Press, (1997).
21. P. Quezel, and S. Santa .*Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, vol. 2, Edition CNRS. Paris, (1963).
22. Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B., Ghalem S. and Benabadji N., *Asian J. Chem.* 20 (4) (2008) 270.
23. Bendjeddou D., Lalaoui K., Satta D., *J. Ethnopharmacol.* 88 (2003) 155.
24. Ching A. W., Jia J. W., Meei J. T., R. Y. Chen, *J. Ethnopharmacol.* 113 (2007) 300.
25. Singh G., Mukherjee T., *Indian Drugs* 34 (1998) 175.
26. J. B. Harborne, *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*, Chapman & Hall, London , (1998).
27. Özcan M., Gülfeza Kardaş R., Dehri İ, *Colloid Surface A.* 325 (2008) 57.
28. Hukovic-Metikos M., Babic R., Grutac Z., *J. Appl. Electrochem.* 32 (2002) 35.
29. Mansfeld F., *Corrosion* 37 (1981) 301.
30. Mccafferty E., *Corros. Sci.* 39 (1997) 243.
31. Wu X., Ma H., Chen S., Xu Z., Sui A., *J. Electrochem. Soc.* 146 (1999) 1847.
32. Ma H., Chen S., Yin B., Zhao S., Liu X., *Corros. Sci.* 45 (2003) 867.
33. Szauer T., Brandt A., *Electrochim. Acta* 26 (1981) 1257.
34. Sankarapavinasam S., Pushpanaden F., Ahmed M.F., *Corros. Sci.* 32 (1991) 193.
35. Popova A., Sokolova E., Raicheva S., Christov M., *Corros. Sci.* 45 (2003) 33.
36. Szauer T., Brandt A., *Electrochim. Acta* 26 (1981) 1253.
37. Gomma G. K., *Mater. Chem. Phy.* 55 (1998) 241.
38. Zhang D. Q., Gao L. X., Zhou G. D., *J. Appl. Electrochem.* 33 (2003) 361.
39. Ebenso E.E., Ibok U.J., Ekpe U.J., Umoren S., Jackson E., Abiola O.K., Oforika N.C., Martinez S., *Trans of SAEST* 39 (4) (2004) 117.
40. Oguzie E.E., *Mater. Chem. Phy.* 87 (2004) 212.
41. Okafor P.C., Osabor V.I., Ebenso E.E., *Pigm. Res. Tech.* 36 (5) (2007) 299.
42. Eduok U.M., Umoren S.A., Udoh A.P., *doi:10.1016/j.arabjc.2010.09.006*.
43. Aramaki K., Hackerman N., *J. Electrochem. Soc.* 116 (1969) 568.

(2012) <http://www.jmaterenvironsci.com/>

Full Length Research Paper

Anti-diabetic activity of aqueous root extract of *Anacyclus pyrethrum* L. in streptozotocin-induced-diabetic rats

Chaouki Selles¹, Houria Medjdoub², Mohammed El Amine Dib^{1*}, Meriem Zerriouh¹ and Boufeldja Tabti¹

¹Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Aboubekr Belkaïd BP 119, Tlemcen 13000, Algérie.

²Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Mascara., Algérie.

Accepted 30 January, 2012

The present work is to study for the first time the anti-diabetic properties of aqueous extract of roots of *Anacyclus pyrethrum* L. in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats and to achieve a primary pharmacological screening contained in the aqueous extract. A total of 20 rats including 10 diabetics and 10 normal rats were used for this study. The anti-diabetic activity of aqueous extract of roots was evaluated by using normal and STZ induced diabetic rats at a dose of 250 mg/kg *p.o* daily for 21 days. Blood glucose levels were measured using GOD-POD. Screening for major classes of phytochemical was done using standard chemical tests. Per oral administration of the aqueous extract of the roots (250 mg/kg body weight) to streptozotocin-induced diabetic rats exhibited a significant antihyperglycemic activity in STZ-induced diabetic rats, whereas in normal rats no hypoglycemic activity was observed. Phytochemical screening showed a wealth in compounds: Tannins, saponins, alkaloids, amino acids, steroids and terpenoids. Aqueous extract of roots exhibit attractive properties and can therefore, be considered a promising candidate for future application as alternative therapeutic agents, particularly in the development of anti-diabetic drugs.

Key words: *Anacyclus pyrethrum* L, anti-diabetic activity, streptozotocin, aqueous root extract, phytochemical screening.

INTRODUCTION

Diabetes is one of the most prevalent chronic diseases in the world, It is characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both. Considerable attention has been placed on understanding the pathophysiology of diabetes mellitus because of its importance in human health. The chronic hyperglycemia of diabetes is associated with long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels (American Diabetes Association, 2008). Current treatment includes insulin therapy, although this provides

good glycemic control, it can do little to prevent secondary complications. Besides, these drugs are associated with side-effects or diminution in response after prolonged use (Mahadeva and Subramanian, 2009). Moreover, providing modern medical healthcare across the world is still a far-off goal due to economic constraints. Thus, it is necessary that we continue to look for new and, if possible, more efficacious drugs, and the vast reserves of phytotherapy may be an ideal target (Mahadeva and Subramanian, 2009). Plants have played a significant role in maintaining human health and improving quality of life for thousands of years. In particular, herbs have been used as food and for medicinal purposes for centuries. The use of medicinal plants is increasing because of their widespread use and for their curative effects on various diseases (Bhavsar et

*Corresponding author. E-mail: a_dibdz@yahoo.fr. Tel/Fax: +213 43286530.

al., 2009). In order to discover other hypoglycaemic agents, many investigations have been performed in traditional medicine testing eventual hypoglycaemic plants (Girija et al., 2011; Meliani et al., 2011; Salahuddin et al., 2010; Kumar et al., 2010; Solati et al., 2010; Adeneye et al., 2009). *Anacyclus pyrethrum* L. (Compositae, Asteraceae), commonly known as "African pyrethrum" and referred to as "Tigenthast", is a perennial, procumbent herb, which is native from Northern Africa and is cultivated in the Mediterranean (Bellakhdar, 1997). The root of *A. pyrethrum* is being widely used in the local traditional medicinal treatment system for a variety of several diseases: it is used in the treatment of some rheumatic and neuralgic affection of the head, the tooth and face. A local ethnobotanical survey carried out showed its possible anti-diabetic activity (Allali et al., 2008). Previous chemical studies indicate that the plant possesses immunomodulatory properties (Bendjeddou et al., 2003; Ching et al., 2007). Everywhere in Algeria, the root is used as sternutatory, sialagogue and diaphoretic. It is regarded as a tonic to the nervous system. It is also used in respiratory infections and in the treatment of liver disease (Bellakhdar, 1997; Bendjeddou et al., 2003). In some other countries, the roots are also considered aphrodisiac and sexual stimulant. In Indian medicine, the plant is widely recognized as tonic and rejuvenator (Singh et al., 1998). It has been reported that the *A. pyrethrum* root has antibacterial and anti-inflammatory activities and is known for its insecticidal properties (Bellakhdar, 1997). However, the literature indicates that there is no scientific evidence to support the anti-diabetic effect of *A. pyrethrum* in spite of its ethnobotanical usage. The aim of the present work was evaluate for the first time the anti-diabetic activity of *A. pyrethrum* to ascertain the scientific basis for the use of this plant in the treatment of diabetes and to do the phytochemical preliminary screening of roots.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The roots of *A. pyrethrum* were harvested from the mounts of Tlemcen (north-west of Algeria), in April 2009. The plants collected were identified by Pr. Noury Benabadji, "Laboratory of Ecology and Ecosystem Management", University of Tlemcen (Algeria). A voucher specimen was deposited in this laboratory. Plant samples were dried in the shade and conserved for future use.

Preparation of aqueous extract

Fresh roots were dried at room temperature. Aqueous extract was obtained as follows. In brief, 100 g of dried roots were cut into small bits and extracted by refluxing with distilled water for one hour. Thereafter, it was decanted and filtered with filter paper and followed by centrifugation for 30 min at 5000 rpm. The supernatant was filtered to eliminate any residues. The filtrate was dried in the oven at 40°C to make a powder yielding 2.3% (w/w). The solid residue was stored in dessicator prior use for subsequent

experiments.

Phytochemical analysis

Alkaloids

Five milliliters of the crude extract were added to 2 mL of hydrochloric acid. One milliliter of Dragendroff's reagent was added to this acidic medium. An orange or red precipitation was produced which indicates the presence of alkaloids (Kokate, 2001).

Amino acids

One milliliter of the crude stock extract was added a few drops of Ninhydrin reagent. The purple colour appearance shows the presence of amino acids (Harborn, 1998).

Saponins

The crude extract solution was diluted with 20 mL of distilled water and it was agitated in a graduated cylinder for 15 min. The formation of 1 cm foam layer showed the presence of saponins (Kokate, 2001; Harborn, 1998).

Flavonoids and tannins

To one milliliter of the crude stock extract, 10 mg magnesium turnings were added into 1 mL of the filtrate, followed by the addition of 0.05 mL concentrated sulphuric acid. The presence of magenta red observed within 3 min confirmed the presence of flavonoids. The presence of blue-black precipitates resulting from the addition of ferric chloride (0.01 g/mL) reagent indicated the presence of tannins (Harborn, 1998).

Steroids and terpenoids

Screening the presence of steroids and terpenoids was performed as described by Kumar (Kumar et al., 2009). 0.2 g of extract was dissolved in 10 mL methanol and filtered. 1 mL of chloroform and 1 mL of concentrated sulphuric acid were then added into 1 mL of filtrate by the side of the tube and the presence of yellow with green fluorescence at the sulphuric acid layer indicated the presence of steroids. For the detection of terpenoids, 1 mL of acetic anhydride and 2 mL of concentrated sulphuric acid were added into 1 mL filtrate. Presence of reddish brown on interface indicated the presence of terpenoids.

Animals

Male wistar rats between 12-13 week of age and weighing 250-300g were procured from Mascara University Animal house, Algeria. The animals were under standard conditions and fed with rodent diet and water *ad libitum*.

Induction of diabetes

Diabetes was induced in rats by intravenous (*i.v*) injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 50 mg/kg body weight, dissolved in 0.1M cold citrate buffer (pH = 4.5) (Sancheti et al., 2010). Blood glucose level was measured using GOD-POD (Kit spinreact). Blood samples were withdrawn from retro-orbital plexus under light ether

Table 1. Phytochemical prospection of aqueous extract roots of *A. pyrethrum*.

Extract	Metabolites						
	1	2	3	4	5	6	7
Aqueous							
Root	+	-	+	+	+	+	+

1: tannins; 2: flavononols; 3: saponins; 4: terpenoids; 5: steroids; 6: alkaloids; 7: amino acids; +: presence; -: absence.

anaesthesia before. A fortnight later, diabetes was confirmed.

Acute toxicity

Acute toxicity study on *A. pyrethrum* roots extract was performed in experimental rats. Graded doses of the aqueous extract of roots (100, 250, 500 and 1000 mg/kg body weight) were administered *p.o* and the animals were observed for 2 weeks following administration (Olagbende-Dada et al., 2010). The dosage schedule was fixed as 250 mg/kg body weight/rat/day for 21 days.

Experimental protocol

The normal rats and those with hyperglycemia (blood glucose 200-360 mg/100 mL) were divided into four groups of five animals each and treated by per oral as shown below.

Group 1: Normal control given only saline (9 g/L) (NC),

Group 2: Control treated with aqueous extract at dose of 250 mg/Kg (NTAE),

Group 3: Diabetic control given only saline (9 g/L) (DC),

Group 4: Diabetic rats treated with aqueous extract at dose of 250 mg/Kg (DTAE).

Blood samples and body weight were measured at weekly intervals on days 0, 7, 14 and 21, till the end of study. Blood glucose levels were measured using GOD-POD (Kit spinreact) (Trinder, 1996). At the end of the experiment, an oral glucose tolerance (OGTT) test was practised. Animals (four groups) were loaded with glucose (3 g/kg). Blood glucose level was determined at 0, 60 and 120 min after glucose loading.

Statistical analysis

All the values of body weight, fasting blood sugar, and OGTT were expressed as mean \pm SEM. Data were analyzed statistically using the student's *t*-test. In all cases, $p < 0.05$ was used as the criterion of statistical significance.

RESULTS

Preliminary phytochemical screening

Table 1 shows the presence of various compounds such as tannins, amino acids, alkaloids, saponins steroids and terpenoids. However, flavonoids are completely absent.

Through phytochemical prospecting of the extract, it was possible to determine the presence of diverse classes of secondary metabolites that show a wide variety of biological activities such as antimicrobial (Todkar et al., 2010), antioxidant (Benhammou et al., 2009) and anti-diabetic (Debbab et al., 2010).

Acute toxicity study

In the present study, all animals that were fed with amounts of 100, 250, 500 and 1000 mg/kg body weight of *A. pyrethrum* aqueous extract have reacted well after treatment and showed no signs of toxicity or behavioral changes at any doses selected until the end of study.

Changes in body weight

Figure 1, shown the change in body weight gain in control rats and control treated with aqueous extract. The body weight was decreased in diabetic rats while oral administration of root extract improves the body weight gain in STZ-induced diabetes.

Oral glucose tolerance test in normal rats (OGTT)

Oral glucose tolerance test in diabetic and normal rats showed an increasing in blood glucose level one hour after glucose administration. A significant reduction was marked in diabetic treated ($P < 0.05$) with aqueous extract 2 h (Figure 2) after treatment and suppressed the rise in blood glucose compared with standard group.

Antihyperglycaemic effect of aqueous extract

The effect of the aqueous extract of roots on the fasting blood glucose levels of both normal and diabetic rats are given in Table 2. The fasting blood glucose levels of diabetic untreated rats (Group 4) were significantly higher than those of normal untreated rats (Group 1). The extract of roots at a dosage of 250 mg/kg produced the

Table 2. Effect of 3-week treatment with aqueous extract of roots of *A. pyrethrum* on blood glucose level in STZ (50 mg/Kg ip),-induced diabetic in rats (Mean±SEM).

Group (n=4)	Treatment	Dose (mg/kg)	Blood glucose concentration (mg/dl)			
			Day 0	Day 7	Day 14	Day 21
1	NC		119.7 ± 5.1	120.0 ± 4.5	113.0 ± 8.0	97.0 ± 1.9
2	NTAE	250	107.7 ± 2.4	107.7 ± 1.0	97.7 ± 6.3	106.0 ± 1.5
3	DC		226.7 ± 2.4*	297.7 ± 2.9*	281.2 ± 3.4*	360.6 ± 4.1*
4	DTAE	250	221.0 ± 2.0	120.7 ± 1.7**	107.7 ± 1.2**	83.7 ± 1.6**

STZ single dose of 50 mg/kg *p.o* on day 0; * $p < 0.05$ when compared with normal control, ** $p < 0.001$ when compared with diabetic control.

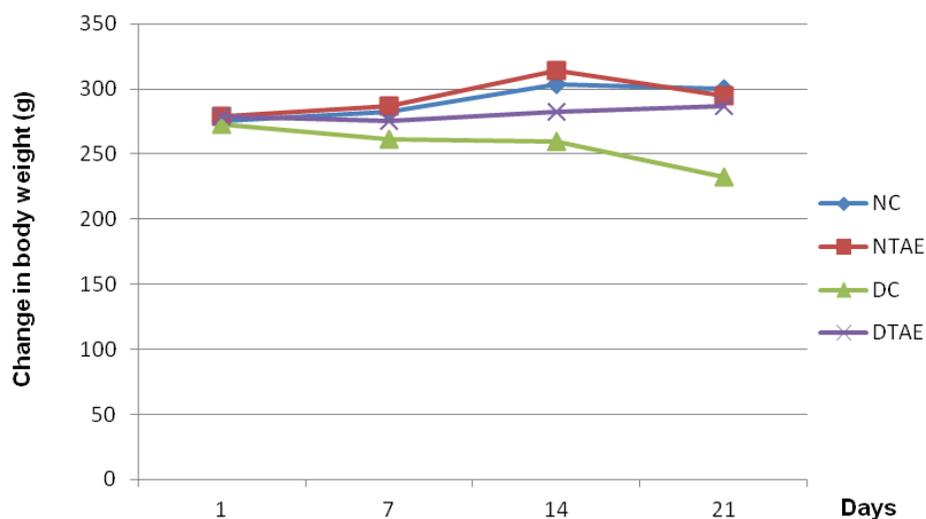


Figure 1. Change in body weight in the treatment of aqueous extract in STZ induced diabetic rats.

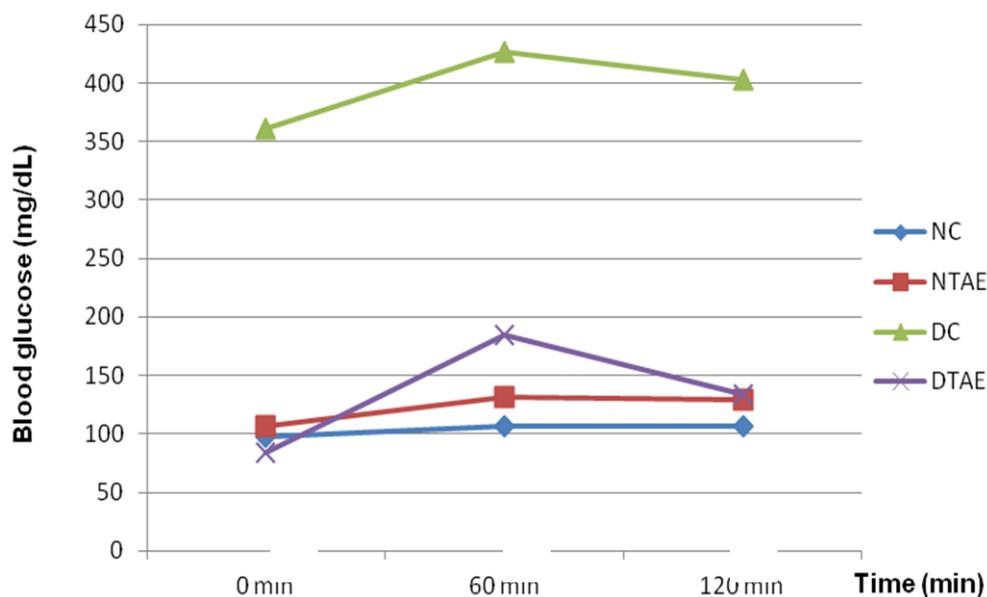


Figure 2. Effects of aqueous extract of *A. pyrethrum* on OGTT in normal rats (Mean±SEM).

maximum fall of 62.12% in the blood glucose levels of diabetic rats after 21 days of treatment. However any hypoglycemic effect in normal treated rats was observed.

DISCUSSION

Blood glucose is a key marker for diagnosis and prognosis of diabetes mellitus. Insulin deficiency causes drastic elevation in levels of blood glucose as a result of excessive production of endogenous glucose and also causes a drastic change in body weight (Ramachandran et al., 2011), which may be due to excessive breakdown of tissue proteins and lipids caused by insulin insufficiency. Various anti-diabetic plants and herbs are found through traditional use but their introduction into modern therapy needs testing of the compounds by modern research methodology. In the present study, oral treatment with *A. pyrethrum* roots extract appreciably lowered the level of blood glucose and improved the insulin level in STZ-induced diabetic rats. The anti-hyperglycemic effect of aqueous extract may be due to stimulatory effect on the remnant β -cells to secrete more insulin or from regenerated β -cells (Mahadeva and Subramanian, 2009). Another observation arising from this study is the effect of the aqueous extract of roots on the body weight in the treated rats. The improvement in body weight in diabetic rats treated may be due to improvement in metabolic activity of the system to maintain glucose homeostasis. These results suggested that root contained some biological principle(s) that possess insulin protective or insulin-like activity (Maqsood and Tanveer, 2009) but again this hypothesis would require experimental validation and further experiments are required to elucidate the exact mechanism of action as well as on the isolation of bioactive principles. The phytochemical screening of root revealed the presence of tannins, saponins, alkaloids, amino acids, steroids and terpenoids that are known to be bioactive antidiabetic principles (Meliani et al., 2011). Amino acids have been reported as antihyperglycemic agents, because that absolute or relative lack of insulin leads to defective amino acid/protein metabolism (Capraro et al., 2010). Phenolics are found to be effective antihyperglycemic agents (Abdelmoaty et al., 2010; Hossam et al., 2011). Alkaloids and tannins have been reported to possess hypoglycemic activity (Sharma et al., 2010; Nkirote et al., 2011). The saponin is known to elicit serum cholesterol lowering activity and may be classified as a direct hypoglycaemic agent, in contrast to the indirect agents such as the sulphonylureas that act by stimulating the pancreatic beta cells to release more insulin (Chang-yong et al., 2010; Abdel-Hassan et al., 2000).

Conclusion

It can be stated, that the aqueous root extract of *A. pyrethrum* has beneficial effects, in reducing the elevated

blood glucose level of STZ-induced-diabetic rats, but has no effect on normal rats. Further studies will be focussed on determination of the mechanism(s) of action, as well as on the isolation of bioactive principles for contribute toward the development of a potent anti-diabetic drug.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express thanks to N. Benabadji of Botanical Laboratory, Biology Department, Aboubekr Belkaïd University for identification of the vegetable matter.

REFERENCES

- Abdel-Hassan IA, Abdel-Barry JA, Mohammeda ST (2000). The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol.*, 71: 325–330.
- Abdelmoaty MA, Ibrahim MA, Ahmed NS, A Abdelaziz MA (2010). Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of Quercetin in rats. *Indian J. Clin. Biochem.*, 25 (2): 188-192.
- Adeneye AA, Olagunju JA (2009). Preliminary hypoglycemic and hypolipidemic activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in Wistar rats. *Biol. Med.*, 1: 1-10.
- Allali H, Benmehdi H, Dib MA, Tabti B, Ghalem S, Benabadji N (2008). Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian J. Chem.*, 20 (4): 2701-2710.
- American Diabetes Association (ADA) (2008). *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. *Diabetes Care*, 31: S55–S60.
- Bellakhdar J (1997). *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires* - Saint -Etienne, Edit. Ibis Press, p. 177.
- Bendjedou D, Lalaoui K, Satta D (2003). Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galanga* and *Citrullus colocynthis*, *J. Ethnopharmacol.*, 88: 155.
- Benhammou N, Atik Bekkara F, Kadifkova Panovska T (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *C. R. Chimie*. 12 (9): 1259-1266.
- Bhavsar SK, Singh S, Giri S, Jain MR, Santani DD (2009). Effect of saponins from *Helicteres isora* on lipid and glucose metabolism regulating genes expression. *J. Ethnopharmacol.*, 124: 426-433.
- Capraro J, Spotti P, Magni C, Scarafoni A, Duranti M (2010). Assessment of the lupin seed glucose-lowering protein intestinal absorption by using in vitro and ex vivo models. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 8612-8616.
- Chang-yong Y, Jing W, Yuan Z, Li S, Xing J, Zhen-guo X, Nan L, Liu Z, Zhong-hua C (2010). Anti-diabetic effects of *Panax notoginseng* saponins and its major anti-hyperglycemic components. *J. Ethnopharmacol.*, 130: 231–236.
- Ching An Wu, Jia Jiu Wu, Meei Ju Tsai, Ru Yin Chen (2007). Immunomodulatory effects of a traditional Chinese medicine, Chi-Shie-Shuang-Bu-An-Shen-Tang, on BALB/c mice, *J. Ethnopharmacol.*, 113: 300.
- Debbab A, Aly AIH, Lin WH, Proksch P (2010). Bioactive Compounds from Marine Bacteria and Fungi. *Microbial Biotechnol.*, 3(5): 544-563.
- Girija K, Lakshman K, Udaya CH, Sabhay Sahi G, Divya T (2011). Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*. *Asian pac J Trop Biomed.*, 1(2): 133-138.
- Harborn JB (1998). *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall; London, p. 302.
- Hossam M, Abdallah, Maha M, Salama, Enas H, Abd-elrahman, Shohda A El-Maraghy (2011). Antidiabetic activity of phenolic compounds from Pecan bark in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytochem. Letters*, 4: 337–341.

- Kokate CK (2001). Pharmacology, 16th ed. Nirali Prakasham, Mumbai, India.
- Kumar A, Ilavarasan R, Jayachandran T, Decaraman M, Aravindhan P, Padmanabhan N, Krishnan MRV (2009). Phytochemical investigation on a tropical plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. Pak. J. Nutrit., 8(1): 83-85.
- Kumar S, Kumar V, Prakash Om (2010). Antidiabetic and anti-lipemic effects of *Cassia siamea* leaves extract in streptozotocin induced diabetic rats. Asian pac. J. Trop. Med., 871-873.
- Mahadeva Rao US, Subramanian ES (2009). Biochemical evaluation of antihyperglycemic and antioxidative effects of *Morinda citrifolia* fruit extract studied in streptozotocin-induced diabetic rats. Med. Chem., Res., 18: 433-446.
- Maqsood AA, Tanveer S (2009). A potential adjunct to insulin: *Berberis lyceum royle*. Diabetologia Croatica, 38(1): 13-18.
- Meliani N, Dib MA, Allali H, TAbti B (2011). Hypoglycaemic effect of *Berberis vulgaris* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Asian pac. J. Trop. Biomed., 1(6): 468-471.
- Nkirete CK, Katheriya IJ, Michael O, Clare M, Konrad BH, Vellingiri V (2011). Antioxidant and Antidiabetic Properties of Condensed Tannins in Acetonic Extract of Selected Raw and Processed Indigenous Food Ingredients from Kenya. J. Food Sci., 76(4): C560-C567.
- Olagbende-Dada SO, Ogonnia SO, Coker HAB, Ukpo GE (2011). Blood glucose lowering effect of aqueous extract of *Graptophyllum pictum* (Linn) Griff. on alloxan-induced diabetic rats and its acute toxicity in mice. Afr. J. Biotechnol., 10(6): 1039-1043.
- Ramachandran S, Rajasekaran A, Kumar KTM (2011). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant potential of methanol extract of *Tectona grandis* flowers in streptozotocin induced diabetic rats. Asian pac. J. Trop. Med., 624-631.
- Salahuddin Md, Jalalpure Sunil S (2010). Antidiabetic activity of aqueous fruit extracts of *Cucumis trigonus* Roxb. In streptozotocin-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol., 127: 565-567.
- Sancheti S, Sancheti S, Bafna M, Seo SY (2010). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant effects of *Chaenomeles sinensis* fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur. Food Res. Technol., 231: 415-421.
- Sharma B, Salunke R, Balomajumder C, Daniel S, Roy P (2010). Antidiabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. J. Ethnopharmacol., 127: 457-462.
- Singh G, Mukherjee T (1998). Herbal aphrodisiacs: a Review, Indian Drugs, 34: 175.
- Solati J, Soleimani N (2010). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Ziziphus vulgaris* L. on streptozotocin-induced diabetic adult male Wistar rats. Acta Diabetol., 47 (Suppl 1): S219-S223
- Todkar SS, Chavan VV, Kulkarni AS (2010). Screening of Secondary Metabolites and Antibacterial Activity of *Acacia concinna*. Res. J. Microbiol. 5: 974-979.
- Trinder P (1996). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. Ann. Clin. Biochem., 6: 24-27.