



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies & Agro-Ecologie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

**Biosynthèse et étude des activités biologiques des
nanoparticules à base d'un métal de transition**

Présenté par :

Bougrine Nour elhouda

Saighi Chaima

Devant le Jury :

<i>Mme Zermane F</i>	<i>GRADE</i>	<i>PR</i>	<i>FSc, USDB1</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme Bokreta S</i>	<i>GRADE</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, USDB1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme Chelghoum H</i>	<i>GRADE</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, USDB1</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Laassami A</i>	<i>GRADE</i>	<i>MAB</i>	<i>ENS, Kouba</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Session 2021/ 2022

Remerciement

Remerciement

Nous remercions Allah qui nous a donné la force et la patience pour terminer ce travail.

Nous voudrions présenter nos reconnaissances et vifs remerciements à notre encadreur Dr. Chelghoum pour ses efforts et sa présence comme une deuxième mère, Nous voudrions également lui t'témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon part. merci infiniment on ne va jamais oublier ta douceur avec nous.

Nous vifs remerciements à notre Co-Promotrice Madame Laasami pour son suivi, ses conseils, sa disponibilité.

Nous vifs remerciements vont également aux membres de jury Madame Zermane et Madame Bokreta pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous exprimons bien évidemment toute la gratitude à tous l'équipe de laboratoire pour leurs efforts : ingénieurs de laboratoire Madame Hassina, Ihcen et au responsable de magasin Monsieur Abd El Rahmane.

Enfin, nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Merci à tous ceux et celles qui nous aidés et encouragés de près ou de loin.

Dédicaces

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes chers parents « **cher papa, chère maman** », berceau de ma culture, pour leur soutien tout au long de mon cheminement scolaire. Ce travail n'aurait pas pu être finalisé sans votre présence dans ma vie. Sans vous je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui, il n'existe pas assez de mots pour exprimer tout ce que vous représentez pour moi.

Je dédie ce travail :

A ma chère sœur : Hala et mes chers frères : Adem & Sid Ahmed

Je voudrai dédier ce travail aussi à tous mes amis, je cite particulièrement mes sœurs de ma vie : Maroua & Narimane

A mon binôme Chaima pour leur sympathie

Leur humeur et leur solidarité

Envers moi.

Je remercie tous ceux qui m'avaient aidée d'une façon ou d'une autre, ou encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire, qui était, pour moi une expérience inoubliable et enrichissante.

Nour Elhouda

Dédicaces

Au Nom de Dieu Clément est Miséricordieux

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin,

Mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, et ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, merci mes parents.

A mes frères : Farouk, Zahr Eddine, Abd EL Rahman

A mes sœurs : Nesrine, Rania, Sara, Ikhlass, Soundous, Mira

A mon oncle : Saighi Rafik

Merci à toute ma famille,

A mon binôme Bougrine Nour El Houda, qui a partagé avec moi les bons moments de ce travail.

Je tiens à remercier Madame Chelghoum de sa disponibilité, ses conseils et sa passion.

Enfin à tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

SAIGHI CHAIMA

Résumé

Dans la présente étude, un extrait hydro-éthanolique a été préparé à partir des feuilles de *Marrubium vulgare*. Puis, les teneurs totales en composés phénoliques et flavonoïdes ont été déterminées par des méthodes colorimétriques. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydro-éthanolique avait une teneur en polyphénols de $2,0107 \pm 0,124$ mg EAG/ml d'extrait et en flavonoïdes de $2,0536 \pm 0,0868$ mg EQ/ml d'extrait.

Par la suite, des AgNPs ont été biosynthétisées en traitant une solution aqueuse de nitrate d'Argent (AgNO_3) avec l'extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* comme agent réducteur d' Ag^+ en Ag^0 dans des conditions d'obscurité, puis elles ont été caractérisées par la technique de diffusion dynamique de la lumière et le potentiel zêta afin de déterminer la distribution granulométrique et la stabilité des AgNPs.

L'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* et des AgNPs a été déterminée par la méthode de diffusion des puits sur des milieux semi solide vis-à-vis quatre souche bactériennes y compris *Staphylococcus aureus*(44300), *Listeria monocytogenes* (CIP 82110), *Escherichia coli*(ATCC 10536) , *Pseudomonas aeruginosa* (CIP A22)et contre cinq souches fongiques y compris *Aspergillus carbonarius* (M333) , *Umbelopsis ramanniana* (NRRL 1829), *Aspergillus flavus*(NRRL 3251), *Aspergillus parasiticus*(CBS 100926), *Aspergillus niger*.

L'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* a montré un effet très faible contre les bactéries à Gram négatif y compris *E. coli* et *P. aeruginosa* avec une absence totale d'effet contre les bactéries à Gram positif. Ainsi qu'ils n'y avaient pas un effet contre les souches fongiques à l'exception contre la souche *U. ramanniana*. En revanche, l'activité antimicrobienne des AgNPs a montré un effet contre les bactéries à Gram positif y compris *S. aureus*, *L. monocytogenes* et contre les bactéries à Gram négatif y compris *E. coli* à des concentrations (1 mg/ml ; 0,5 mg/ml) d'AgNPs respectivement. Ces AgNPs ont également montré une bonne activité antifongique, vis-à-vis cinq souches de champignon *A. carbonarius*, *U. ramanniana*, *A. flavus*, *A. parasiticus* et *A. niger* avec une concentration 1 mg/ml et 2 mg/ml d'AgNPs respectivement. Nos résultats confirment que les nanoparticules d'Argent sont de puissants agents antimicrobiens.

Mots clés : *Marrubium vulgare*, nanoparticule d'Argent, polyphénols, flavonoïde, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

In the present study, a hydro-ethanolic extract was prepared from the leaves of *Marrubium vulgare*. Then, the total contents of phenolic compounds and flavonoids were determined by colorimetric methods. The results obtained showed that the hydro-ethanolic extract had a content of polyphenols of 2.0107 ± 0.124 mg EAG/ml of extract and of flavonoids of 2.0536 ± 0.0868 mg EQ/ml of extract.

Subsequently, AgNPs were biosynthesized by treating an aqueous solution of Silver nitrate (AgNO_3) with the hydro-ethanolic extract of the plant *Marrubium vulgare* as a reducing agent from Ag^+ to Ag^0 under dark conditions, then they were characterized by dynamic light scattering technique and zeta potential to determine the particle size distribution and stability of AgNPs.

The antimicrobial activity of the hydro-ethanolic extract of the *Marrubium vulgare* plant and AgNPs was determined by the well diffusion method on semi-solid media against four bacterial strains including *Staphylococcus aureus* (44300), *Listeria monocytogenes* (CIP 82110), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (CIP A22) and against five fungal strains including *Aspergillus carbonarius* (M333), *Umbelopsis ramanniana* (NRRL 1829), *Aspergillus flavus* (NRRL 3251), *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926), *Aspergillus niger*.

The antimicrobial activity of the hydro-ethanolic extract of the *Marrubium vulgare* plant showed a very weak effect against Gram-negative bacteria including *E. coli* and *P. aeruginosa* with no effect at all against Gram-positive bacteria. Thus, they had no effect against fungal strains except against the strain *U. ramanniana*. In contrast, the antimicrobial activity of AgNPs showed effect against Gram-positive bacteria including *S. aureus*, *L. monocytogenes* and against Gram-negative bacteria including *E. coli* at concentrations (1 mg/ml; 0.5 mg/ml) of AgNPs respectively. These AgNPs also showed good antifungal activity against five fungal strains *A. carbonarius*, *U. ramanniana*, *A. flavus*, *A. parasiticus* and *A. niger* with 1 mg/ml and 2 mg/ml concentration of AgNPs respectively. Our results confirm that silver nanoparticles are potent antimicrobial agents.

Keywords: white horehound, Silver nanoparticle, polyphenols, flavonoids, antibacterial activity, antifungal activity.

ملخص

في هذه الدراسة، تم تحضير مستخلص إيثانوليكي مائي من أوراق نبتة المربوت. تم تحديد المستويات الإجمالية لمركبات الفينوليك والفلافونويد بطرق قياس الألوان. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الإيثانول المائي يحتوي على مقدار من البوليفينول يبلغ 0.124 ± 2.0107 mg /EAG ml من المستخلص ومحتوى من الفلافونويد يبلغ 0.086 ± 2.0536 mg /EQ ml من المستخلص.

بعد ذلك، تم تصنيع AgNPs حيويًا عن طريق معالجة محلول مائي من نترات الفضة ($AgNO_3$) مع المستخلص المائي الإيثانولي لنبات المربوت كعامل اختزال من Ag + إلى Ag_0 في ظل الظروف المظلمة، ثم تميزت بتقنية تشتت الضوء الديناميكي والزيئا المحتملة لتحديد توزيع حجم الجسيمات واستقرار AgNPs.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص المائي الإيثانولي لنبات المربوت وAgNPs من خلال طريقة الانتشار الجيد على الوسائط شبه الصلبة ضد أربع سلالات بكتيرية بما في ذلك (44300) *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* (CIP 82110) و *Escherichia coli* (ATCC 10536) و *Pseudomonas aeruginosa* (CIP A22) و *Umbelopsis ramanniana* (NRRL 1829) و *Aspergillus carbonarius* (M333) و *Aspergillus niger* (NRRL 3251) و *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926).

أظهر النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص المائي الإيثانولي لنبات المربوت تأثيرًا ضعيفًا جدًا ضد البكتيريا الجرام سالبة بما في ذلك *E. coli* و *P. aeruginosa* مع عدم وجود أي تأثير على الإطلاق ضد البكتيريا الجرام موجبة. وبالتالي لم يكن لها أي تأثير ضد السلالات الفطرية إلا ضد السلالة *U. ramanniana*. في المقابل، أظهر النشاط المضاد للميكروبات لـ AgNPs تأثيرًا ضد البكتيريا الجرام موجبة بما في ذلك *S. aureus*، و *L. monocytogenes* و *E. coli* ضد البكتيريا الجرام سالبة الجرام بما في ذلك *E. coli* بتركيزات (1 مجم / مل؛ 0.5 ميليغرام / ميليلتر) من AgNPs على التوالي. أظهرت AgNPs أيضًا نشاطًا جيدًا مضادًا للفطريات ضد خمس سلالات فطرية *U. ramanniana*، *A. carbonarius*، *A. flavus*، *A. parasiticus* و *A. niger* بتركيز 1 ميليغرام / ميليلتر و 2 ميليغرام / ميليلتر من AgNPs على التوالي. تؤكد نتائجنا أن جسيمات الفضة النانوية هي عوامل قوية مضادة للميكروبات.

الكلمات الرئيسية: عشبة المربوت، جسيمات الفضة النانوية، بوليفينول، الفلافونويد، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطري.

Table de matière

Table de matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Listes des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1	Généralités sur <i>Marrubium vulgare</i>	3
1.1.1	Description botanique de <i>Marrubium vulgare</i>	3
1.1.2	Systématique et localisations géographiques de <i>Marrubium vulgare</i>	3
1.1.3	Dénominations de la plante	4
1.1.4	Composition chimique de <i>Marrubium vulgare</i>	4
1.1.5	Composés phénoliques	5
1.1.5.1	Flavonoïdes	5
1.1.5.2	Tanins	7
1.2	Généralités sur les nanoparticules	7
1.2.1	Définition de nanoparticules	7
1.2.2	Sources de nanoparticules	7
1.2.3	Classification de nanoparticules	8
1.2.3.1	Classification des nanoparticules basée sur leur origine	8
A.	Nanoparticules organiques	8
B.	Nanoparticules inorganiques	10
1.2.4	Mécanisme d'action des nanoparticules dans la cellule bactérienne	12

1.2.5	Applications de nanoparticules	13
1.3	Généralités sur les nanoparticules d'Argent.....	14
1.3.1	Synthèse des nanoparticules d'Argent	15
1.3.1.1	Méthodes physiques	15
1.3.1.2	Méthodes chimiques	16
1.3.1.3	Méthodes biologiques.....	16
1.3.2	Caractéristiques des nanoparticules d'Argent.....	17
1.3.3	Propriétés des nanoparticules d'Argent	17
1.3.4	Application des nanoparticules d'Argent.....	18

CHAPITRE II: Matériels et Méthodes

2.1	Matériel.....	20
2.2	Matériel biologique.....	20
2.2.1	Matériel végétale.....	20
2.2.2	Matériel microbiologique.....	20
2.2.3	Matériel non biologique	21
2.3	Méthodes	21
2.3.1	Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> (Macération).....	21
2.3.2	Dosage des polyphénols.....	22
2.3.3	Dosage des flavonoïdes.....	22
2.3.4	Biosynthèse des nanoparticules d'Argent.....	23
2.3.5	Caractérisation des bionanoparticules d'Argent	24
2.3.5.1	Détermination de diamètre des AgNPs par Diffusion Dynamique de la Lumière (DLS).....	24
2.3.5.2	Détermination de la charge de surface des AgNPs par Potentiel zêta.....	25
2.3.6	Etude de l'activité antimicrobienne	25
2.3.6.1	Activité antibactérienne	25
2.3.6.2	Activité antifongique	25

CHAPITRE III : Résultats et discussion

3.1	Taux des polyphénols	28
3.2	Taux des flavonoïdes	29
3.3	Biosynthèse de nanoparticules d'Argent.....	30
3.4	Caractérisation des AgNPs	31
3.4.1	Caractérisation des AgNPs par la DLS	31
3.4.2	Caractérisation des AgNPs par le Potentiel Zêta	32
3.5	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	33
3.5.1	Activité antibactérienne	33
3.5.2	Activité antifongique	37
	Conclusion	42
	Références bibliographiques	44
	Annexes	58

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1: Photos de l'espèce <i>Marrubium vulgare L.</i>	3
Figure 2 : Structures de base des principaux flavonoïdes naturels.....	6
Figure 3 : Structure de nanoparticule organique de type dendrimère.	9
Figure 4: Structure de nanoparticule organique de type micelle.....	9
Figure 5 : Structure de nanoparticule organique de type liposome.	10
Figure 6 : Des nanoparticules à base de carbone.....	11
Figure 7: Structure de nanosphère et nanocapsule	12
Figure 8: Schéma représente le processus mécanistique antibactérien des nanoparticules métalliques	13
Figure 9: Schéma représentatif des deux approches ascendante et descendante de la synthèse des AgNPs ..	15
Figure 10: Diagramme schématique représentant diverses applications des AgNPs.....	19
Figure 11: Les étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique.	21
Figure 12: Schéma explicatif représente les étapes de dosage de polyphénols.....	22
Figure 13: Schéma explicatif représente les étapes de dosage des flavonoïdes.	23
Figure 14: Schéma explicatif représente les étapes de dosage des flavonoïdes.	24
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	28
Figure 16 : Courbe d'étalonnage établie avec la quercétine.....	29
Figure 17: Observation du virage de couleur de la solution d'AgNO ₃ du jaune vers le brun foncé et la formation d'AgNPs.	31
Figure 18: Représentation graphique de la distribution granulométrique des AgNPs biosynthétisées obtenus par DLS.	32
Figure 19: Représentation graphique de la charge de surface des AgNPs biosynthétisées obtenus par le potentiel zêta.	33
Figure 20 : Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode des puits.....	35
Figure 21: Activité antifongique de l'extrait hydro-éthanolique du <i>Marrubium vulgare</i>	38
Figure 22: Activité antifongique des AgNPs.	40

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i>	4
Tableau II : Les principaux constituants chimique de <i>Marrubium vulgare</i>	5
Tableau III: Tableau qui résume les différentes méthodes de synthèse des AgNPs	17
Tableau IV: les souches utilisées dans l'étude antibactérienne et antifongiques	20
Tableau V: Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait de <i>M. vulgare</i>	34
Tableau VI : Résultats des activités antifongiques testés de l'extrait de <i>M. vulgare</i>	37
Tableau VII : Résultat de l'activité antifongique des AgNPs biosynthétisé.	39

Liste des abréviations

Liste des abréviations

NP : Nanoparticule

AgNPs : Nanoparticules d'Argent

AuNPs : Nanoparticules d'Or

FeNPs : Nanoparticules de Fer

ZnNPs : Nanoparticules de Zinc

TiO₂ : Dioxyde de Titane

AgNO₃ : Nitrate d'Argent

NaBH₄ : Borohydrure de sodium

Ag⁺ : Ions d'Argent

ROS : Espèce réactive d'oxygène

TEM : Microscopie électronique à transmission

SEM : Microscopie électronique à balayage

AFM : Microscopie à force atomique

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

XPS : Spectroscopie photoélectronique a rayon X

XRD : Poudre X-diffractométrie des rayons

FTIR : Spectroscopie infrarouge a transformé de Fourier

UV-Vis : Spectroscopie ultraviolet - visible

E. coli : *Escherichia coli*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

L.monocytgene: *Listeria monocytogene*

A. niger: *Aspergillus niger*

A. flavus : *Aspergillus flavus*

A. parasiticus : *Aspergillus parasiticus*

A. carbonarius: *Aspergillus carbonarius*

U. ramanniana: *Umbelopsis ramanniana*

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DO : Densité optique

ISP2 : Milieu international Streptomyces project

PDA : Gélose dextrosée à la pomme de terre

Introduction

Introduction

La nanotechnologie est en train de devenir un domaine en croissance rapide avec son application dans la science et la technologie, dans le but de fabriquer de nouveaux matériaux à l'échelle nanométrique (**Albrecht et al., 2006**). Des méthodes de synthèse verte employant soit des micro-organismes biologiques tels que des bactéries (**Joerger et al., 2000**), des champignons (**Shankar et al., 2003a**) ou des extraits de plantes (**Shankar et al., 2003b ; Gardea-Torresdey et al., 2003 ; Chandran et al., 2006**), se sont imposées comme une alternative simple et viable aux procédures de synthèse chimique plus complexes pour obtenir des nanomatériaux (**Logeswari et al., 2015**).

L'utilisation de plantes pour la synthèse de nanoparticules peut être avantageuse par rapport à d'autres processus biologiques, car elle élimine le processus élaboré de maintien des cultures cellulaires et peut également être adaptée à la synthèse à grande échelle de nanoparticules dans un environnement non aseptique (**Veersasamy et al., 2011**).

Différents types de nanomatériaux sont utilisés comme l'Argent, le Cuivre, le Zinc, le Titane (**Retchkiman-Schabes et al., 2006**), le Magnésium, l'Or (**Gu et al., 2003**), l'Alginate (**Ahmad et al., 2006**). L'Argent est utilisé depuis des temps immémoriaux sous forme d'Argent métallique, de nitrate d'Argent, de sulfadiazine d'Argent pour le traitement des brûlures, des plaies et de plusieurs infections bactériennes. Mais en raison de l'émergence de plusieurs antibiotiques, l'utilisation de ces composés d'Argent a considérablement diminué.

Les nanoparticules d'Argent sont révélées les plus efficaces parce qu'elles ont une bonne efficacité antimicrobienne contre les bactéries, les virus et autres micro-organismes eucaryotes (**Gong et al., 2007**). Les produits à base d'Argent sont connus depuis longtemps par leurs effets antibactériens, notamment les infections (**Shankar et al., 2004**). Les nanoparticules d'Argent présentent des effets antifongiques (**Wiley et al., 2006 ; Ramirez-Medina et al., 2009**), anti-inflammatoires (**Panacek et al., 2009**), antiviraux (**Nadworny et al., 2008**), anti - angiogénèse (**Rogers et al., 2008**) et antiplaquettaire (**Gurunathan et al., 2009**).

Notre travail est axé sur deux parties principales :

- ❖ Une étude bibliographique qui décrit une généralité sur la plante étudiée *Marrubium vulgare*, les nanoparticules et leurs origines en se basant principalement sur les nanoparticules d'Argent avec leurs propriétés et leurs synthèses biologiques à l'aide des différents modèles biologiques, ainsi que leurs différentes applications.
- ❖ Une étude expérimentale partagée en deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes, dans lequel nous avons adopté la démarche expérimentale suivante : Dans un premier temps nous avons préparé un extrait hydro-éthanolique à partir des feuilles séchées et broyées de la plante *Marrubium vulgare* (macération). Avant de lancer la biosynthèse des nanoparticules d'Argent (AgNPs), les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes existants dans l'extrait ont été déterminées grâce à des méthodes colorimétriques. Les AgNPs néosynthétisées ont été caractérisées par la technique de la diffusion dynamique de lumière et le potentiel zêta. L'extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* et les AgNPs synthétisés ont été testés sur différentes souches pathogènes bactériennes et fongiques afin d'évaluer leur effet antimicrobien.
- Dans le second chapitre, nous avons présenté les résultats obtenus et leur discussion. A la fin nous avons clôturé par une conclusion générale.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Généralités sur *Marrubium vulgare*

1.1.1 Description botanique de *Marrubium vulgare*

Marrubium vulgare est une plante herbacée de 20 à 100 cm de hauteur, vivace, à racine pivotante coriace, ligneuse, ramifiée ou à nombreuses racines latérales fibreuses et à tiges nombreuses, quadrangulaires, dressées, très duveteuses. Les feuilles sont arrondies, ovales, généralement dentées, pétiolées, veinées et blanchies à la surface, et elles sont disposées par paires opposées sur une longue tige (**Figure 1**) (Aćimović *et al.*, 2020).



Figure 1: Photos de l'espèce *Marrubium vulgare* L.

<https://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-inventaire.php?char=M>

1.1.2 Systématique et localisations géographiques de *Marrubium vulgare*

Le genre *Marrubium* appartient à la famille de *Lamiacées* et comprend plus de 75 espèces, principalement réparties sur la côte méditerranéenne, les zones tempérées du continent eurasiatique et certains pays d'Amérique Latine (Meyre-Silva *et al.*, 2005 ; Rigano *et al.*, 2006). Ce genre pousse dans toute l'Afrique du Nord et est réparti dans toute l'Algérie et l'Europe, l'Asie centrale et du sud-ouest et les îles Canaries. Il existe 50 espèces en Méditerranée. Sept espèces sont répertoriées en

Algérie (Zaabat *et al.*, 2010). La systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est illustrée dans le tableau I.

Tableau I : Classification de l'espèce de la plante *Marrubium vulgare* (Judd *et al.*, 2002) :

Règne	Végétale
Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Gamopétale
Ordre	Lamiales
Famille	<i>Lamiacées</i>
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i> L

1.1.3 Dénominations de la plante

Parmi les noms vernaculaires de la plante *Marrubium vulgare* sont :

En Algérie : *Meriwet*

France : *Marrube blanc*

Anglais : *white horehound*

Italie : *Marrubio*

1.1.4 Composition chimique de *Marrubium vulgare*

Des études photochimiques antérieures sur *M. vulgare* ont montré la présence d'alcaloïdes, de lactones, de stéroïdes, de flavonoïdes, d'esters phénylpropanoïdes, de vitamine C et de diterpénoïdes. Cette plante contient également les mucilages, les pectines, la bétonicine, la stachydrine, beaucoup de fer, et peu d'huiles essentielles. Un certain nombre de sels minéraux ont été également identifiées (Boudjerda *et al.*, 2010). En outre, cette plante contient des tanins spécifiques des *Lamiacées* et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique) (Witchtl et Anton, 2003). Les principaux constituants chimiques sont mentionnés dans le tableau II.

Tableau II : Les principaux constituants chimique de la plante *Marrubium vulgare* (**Bendif, 2021**).

Composants chimique	Pourcentage (%)	Composants chimique	Pourcentage (%)
γ-Eudesmol	11,93	Geranyl tiglate	5,53
β-Citronellol	9,9	1,8- Cineole	3,72
Citronellyl formate	9,5	Neryl acetate	3,41
Germacrene-D	9,37	δ -Cadinene	3,3
Geranyl formate	6,25	Cyclononasiloxane octadecamethyl	3,08
Geranyl tiglate	5,53	Géraniol	2,74
Ledene	5,35	Eicosamethyl cyclodecasiloxane	2,29
trans-Caryophyllene	2,15	α -Thujone	2,29

1.1.5 Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence de cycles aromatiques avec des groupes hydroxyle libres ou liés à un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois) et interviennent dans de nombreux processus des facteurs physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou fruits mûrs. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et Tanins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

1.1.5.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires d'origine végétale largement distribués dans le règne végétal, sont souvent consommés sous forme de fruits, légumes et boissons (comme le vin et le thé). Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes comprennent plus de 5000 composés individuels connus jusqu'à présent. Malgré ce grand nombre, les flavonoïdes partagent tous les mêmes structures de base mais se différencient selon les motifs d'hydroxylation, et les possibilités de méthylation et/ou de glycosylation de différents

groupements hydroxyles. Les principales structures de base sont illustrées dans la figure 2 (Airoldi *et al.*, 2018).

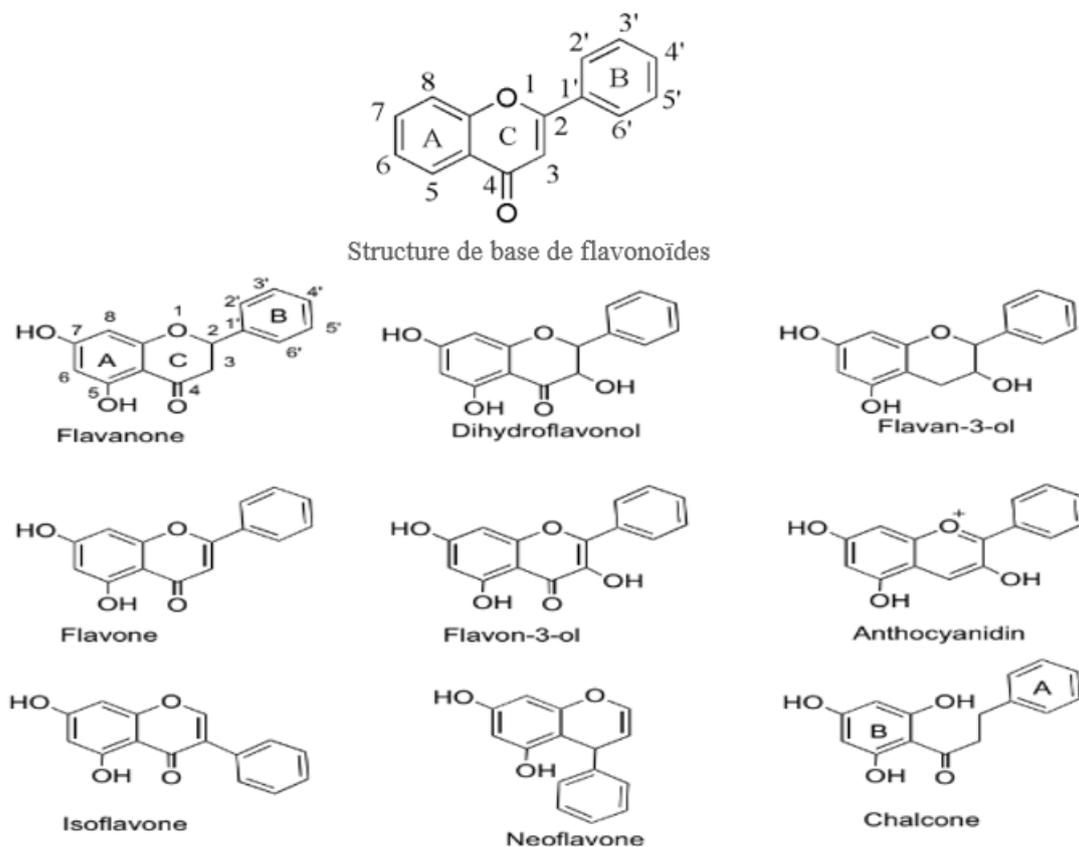


Figure 2 : Structures de base des principaux flavonoïdes naturels (Wang *et al.*, 2018a ; Airoldi *et al.*, 2018).

En plus de leur principale propriété antioxydante, les flavonoïdes possèdent également de nombreuses activités biologiques (anti-inflammatoire, antiulcéreuse, antivirale, anticancéreuse, antidiabétique et cytotoxique, etc) (Karak, 2019).

A. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés chimiques qui protègent les cellules humaines, animales et végétales contre les dommages causés par les Espèces Réactives de l'Oxygène (ROS). Les flavonoïdes sont l'un des meilleurs composés phytochimiques qui agissent comme des antioxydants et inhibent ainsi les facteurs de pathogénèse. L'activité antioxydante dépend de l'arrangement des groupes fonctionnels dans le noyau flavan (Karak, 2019). Les flavonoïdes protègent également les membranes cellulaires endommagées due à la peroxydation des lipides. Ainsi, les flavonoïdes contribuent en tant qu'antioxydants, à la prévention de nombreuses maladies causées par le stress oxydatif (Karak, 2019).

B. Activité antimicrobienne

Les plantes peuvent synthétiser des flavonoïdes en réponse à une infection microbienne, qui sont considérés comme des substances antimicrobiennes très efficaces contre une grande variété de micro-organismes. Plusieurs études montrent que les extraits de plantes qui sont riches en flavonoïdes possédant une activité antibactérienne (**Karak., 2019**). Les sous-classes des flavonoïdes tels que les glycosides de flavone et flavonol, les isoflavones, les flavanones et les chalcones possèdent une puissante activité antimicrobienne. Le mode d'action antimicrobien peut être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire, etc. Les flavonoïdes lipophiles peuvent également perturber les membranes bactériennes (**Karak., 2019**).

1.1.5.2 Tanins

Les tanins sont des produits naturels présents dans plusieurs familles de plantes et ont de grandes quantités de cycles phénoliques dans leur structure. Les tanins sont classés en deux groupes : hydrolysables et condensés. Les tanins condensés contiennent des unités flavonoïdes à plusieurs degrés de condensation. Les tanins hydrolysables sont considérés comme un mélange de phénols simples avec des liaisons ester dans leur structure. Il existe de nombreux facteurs tels que les composés alcalins, les acides minéraux et les enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser les tanins (**Konczak et Zhang, 2004**).

1.2 Généralités sur les nanoparticules

1.2.1 Définition de nanoparticules

La nanotechnologie est définie comme la compréhension et le contrôle de la matière à des dimensions d'environ 1 à 100 nm, où des propriétés physiques uniques rendent possibles de nouvelles applications. Les nanoparticules (NPs) sont donc considérées comme des substances dont la taille est inférieure à 100 nm dans plus d'une dimension. Ces substances peuvent être sphériques, tubulaires ou de forme irrégulière ect. (**Nowack et al., 2011**). En raison de leur différente forme et de leur rapport surface/volume élevé, ces particules ont un large éventail d'applications potentielles (**Berry et Curtis, 2003**).

1.2.2 Sources de nanoparticules

Selon **Boczkowski et Lanone (2010)**, On distingue trois sources de nanoparticules :

- a) Des nanoparticules naturelles, présentes dans l'environnement (poussière brûlante ou volcanique, érosion).

- b) Des nanoparticules produites par l'homme de manière involontaire (particules ultrafines de pollution de l'air) Gaz, émissions diesel, nanoparticules fumées de soudage, etc.)
- c) Des nanoparticules qui sont en quelque sorte produites par l'homme de manière intentionnelle ; nanoparticules métalliques artificielles.

1.2.3 Classification de nanoparticules

La classification des différents types de nanoparticules est basée sur trois paramètres (**Baredar et al., 2021**) :

- Leur origine.
- Leur dimension.
- Leur structure.

1.2.3.1 Classification des nanoparticules basée sur leur origine

Les nanoparticules sont naturellement disponibles dans nos ressources issues de tempêtes ou de l'éruption du volcan ou des ressources bioénergétiques. Pour éviter l'épuisement de ces ressources naturelles, de nouvelles nanoparticules artificielles ont été développées tel que les pesticides utilisés dans le traitement de la fertilité des sols qui ont de bonnes propriétés de pénétration. Les nanoparticules artificielles sont classées en deux types : Organique et inorganique (**Buzea et Pacheco, 2017**).

A. Nanoparticules organiques

Les particules organiques sont synthétisées à partir des composés organiques tels que des protéines, des lipides, des glucides etc. Elles sont classées en fonction de leurs dimensions, leurs propriétés de surface et leurs propriétés biologiques (**Pan et Zhong, 2016**). Parmi les nanoparticules organiques : dendrimères, micelles, liposomes

❖ Dendrimères

Le mot grec « dendrom » signifie « arbre » également nommé « arborols ou cascade molécules ». Les dendrimères sont des molécules tridimensionnelles constituées d'atomes comme l'azote dans lequel une série de réactions ont été réunies pour former une structure de forme circulaire (**Figure 3**). La taille peut augmenter avec une augmentation des couches autour de cette structure de forme circulaire. Les couches internes sont continuellement attachées au noyau et l'extérieur est lié aux générations intérieures. Ils sont biodégradables dans la nature. Les dendrimères ne possèdent aucun risque au cours de leur utilisation dans la formulation d'un médicament (**Baredar et al., 2021**).

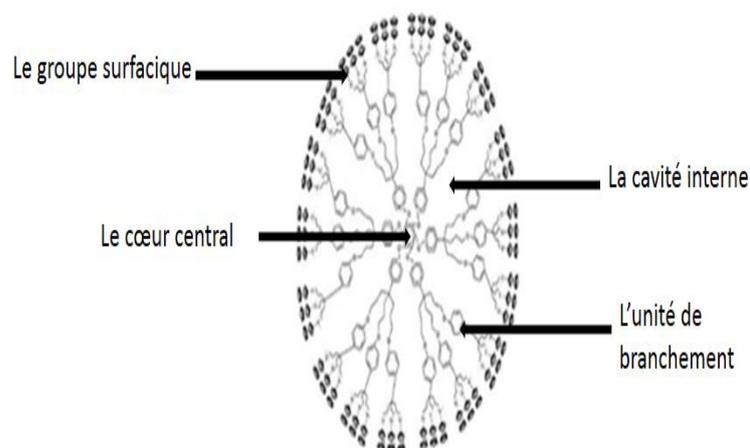


Figure 3 : Structure de nanoparticule organique de type dendrimère (Ealia et Saravanakumar, 2017).

❖ **Micelles**

Les micelles sont des agrégats formés de deux parties : polaire et non polaire. Elles sont composées d'une fraction hydrophile connue sous le nom « tête » et une fraction hydrophobe connue sous le nom « queue ». La tête est toujours en contact avec le solvant environnant, tandis que la queue se trouve au centre de la micelle (Figure 4). La méthodologie utilisée pour la synthèse des micelles est connue sous le nom de micellisation. Généralement, la forme sphérique contient de 50 à 100 monomères (Baredar *et al.*, 2021).

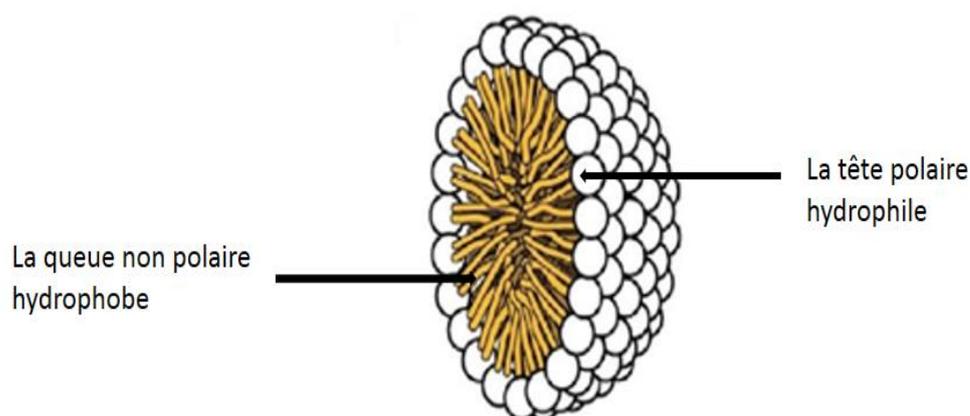


Figure 4: Structure de nanoparticule organique de type micelle (Ealia et Saravanakumar, 2017).

❖ Liposomes

Le terme liposome, « lipos » qui signifie « gras » et « soma » qui signifie « corps », a été développé par le britannique hématologue Dr Alec Bangham. Un liposome est constitué d'une petite vésicule générée à partir d'un matériel de forme similaire à la membrane cellulaire (**Figure 5**). Sa classification se fait sur la base de sa structure, comment il a été préparé et la composition du matériel qui a été utilisé pour sa synthèse. Les liposomes doivent être soigneusement manipulés parce qu'ils sont insaturés et sensibles à l'oxydation (**Baredar et al., 2021**).

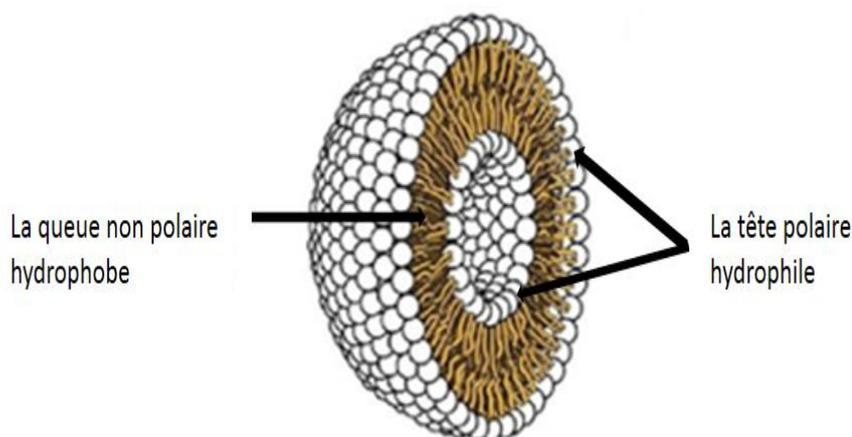


Figure 5 : Structure de nanoparticule organique de type liposome (**Ealia et Saravanakumar, 2017**).

B. Nanoparticules inorganiques

Les particules qui ne sont pas constituées de carbone sont appelées particules inorganiques. Les particules inorganiques sont constituées d'un métal ou d'un oxyde de métal. Les nanoparticules inorganiques peuvent être classées soit en nanoparticules à base de carbone ou sous forme de nanoparticule céramique, métallique et polymère (**Baredar et al., 2021**).

✓ Nanoparticules à base de carbone

Les particules à base de carbone présentent des propriétés remarquables de conduction thermique et électrique. Elles sont classées en fullerènes, graphène, nanotubes de carbone, nanofibres de carbone et carbone noir et parfois le charbon actif de taille nanométrique (**Figure 6**). Ces nanoparticules peuvent être observées en microscopie électronique et en spectroscopie. Il est nécessaire de modifier leurs propriétés de surface afin de vaincre leur faible solubilité qui est un obstacle à leur utilisation (**Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010 ; Ealia et Saravanakumar, 2017**). Elles sont moins nocives pour l'atmosphère terrestre parce qu'elles ne sont pas destructrices aux ressources naturelles. Les nanoparticules à base de carbone peuvent être une alternative des bioressources (**Hirlekar et al., 2009**).

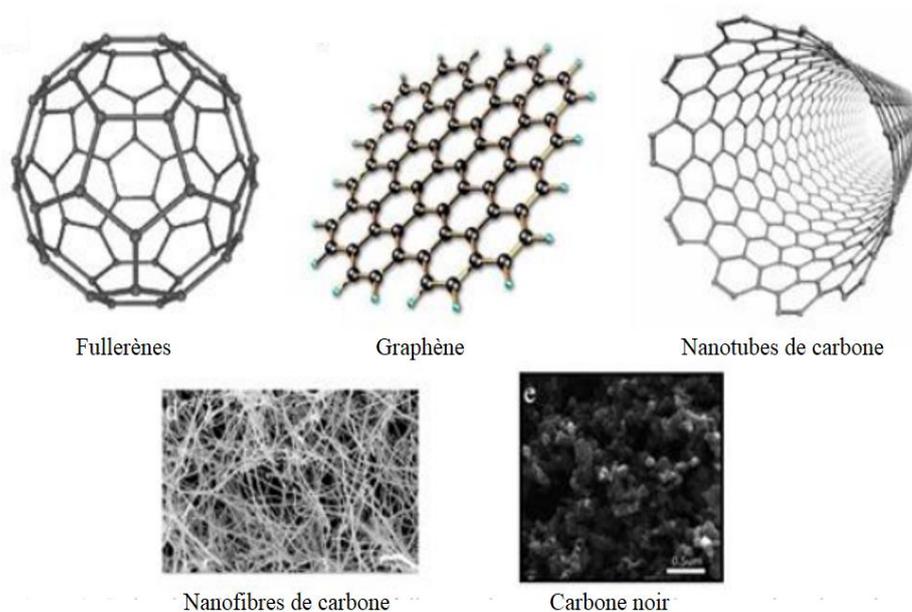


Figure 6 : Des nanoparticules à base de carbone (Ealia et Saravanakumar, 2017).

✓ **Nanoparticules de céramique**

Ces nanoparticules ont une composition de carbonates, de films d'oxydes et de phosphates. Elles sont sous la forme cristalline et se développent avec le chauffage et le refroidissement brusque. Certaines céramiques sont constituées de composés métalliques ou non-métallique pour lesquelles les liaisons entre eux sont soit ionique ou partiellement ionique (Moreno-Vega *et al.*, 2012).

✓ **Nanoparticules métalliques**

Les nanoparticules métalliques sont des matériaux très utilisées dans de nombreux domaines allant de la physique (matériaux magnétiques durs ou doux, optique, microélectronique) à la catalyse (Thota et Crans, 2018). Parmi les métaux couramment utilisés pour la synthèse des nanoparticules sont l'Aluminium (Al), le Cadmium (Cd), le Cobalt (Co), le Cuivre (Cu), l'Or (Au), le Fer (Fe), le Plomb (Pb), l'Argent (Ag) et le Zinc (Zn) (Deepika *et al.*, 2018). L'Argent et l'Or sont les nanoparticules métalliques les plus utilisées par ce qu'elles présentent d'excellentes propriétés comme la bonne conductivité, des propriétés antibactériennes et catalytiques (Baredar *et al.*, 2017). Les nanoparticules métalliques nobles de forme sphérique et de distribution granulométrique de taille nette se sont généralement formées progressivement par la méthode de réduction chimique assistée par un dispositif à ultrasons (Thota et Crans, 2018).

✓ **Nanoparticules polymères**

Les nanoparticules polymère ont une forme sphérique et sont de nature organique. Les nanosphères se composent d'une structure matricielle et les nanocapsules se présentent sous la forme

d'une conception de type noyau-coque (**Figure 7**). L'assemblage de polymères naturels (albumine, héparine) ou synthétiques (poly-L-lactide, PEG) en nanosphères permet le transport de substances (**Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010**). Ces sphères peuvent être recouvertes de molécules ligands assurant un adressage sélectif au niveau des tissus cibles. Ces assemblages permettent de contrôler dans le temps et dans l'espace la libération du principe actif. L'administration de médicaments dans les nanoparticules polymères est renouvelable et de nature biodégradable (**Baredar et al., 2021**).

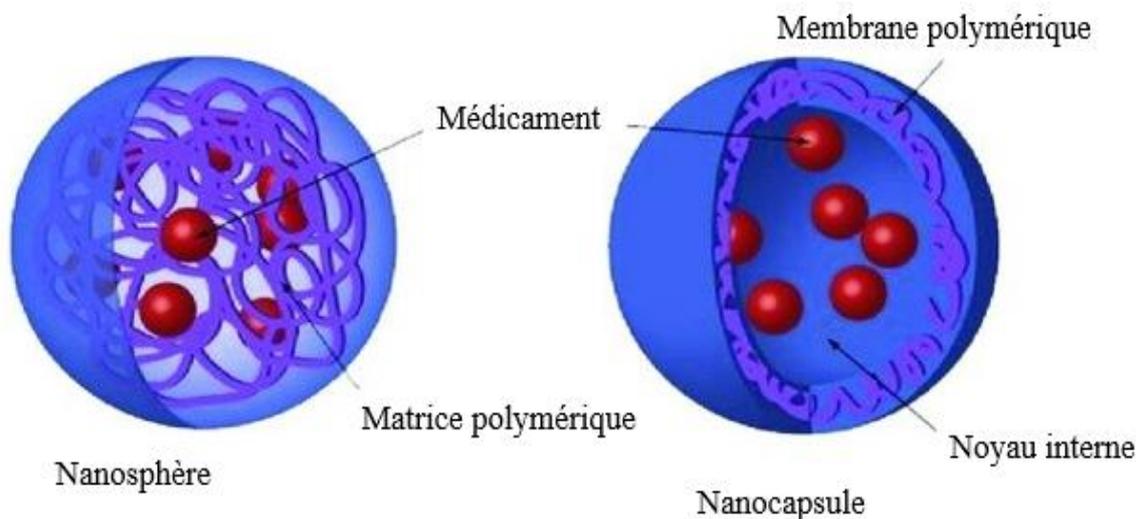


Figure 7: Structure de nanosphère et nanocapsule (**Christoforidis, 2012**).

1.2.4 Mécanisme d'action des nanoparticules dans la cellule bactérienne

La présence d'une grande quantité de composés phytochimiques par exemple polyphénols, sucres réducteurs, flavonoïdes et alcaloïdes dans l'extrait peut augmenter la stabilité et l'activité des nanoparticules contre les micro-organismes (**Bharathi et al., 2020**). Les mécanismes plausibles de l'activité antibactérienne des nanoparticules sont encore à l'étude. **Kumar et al., (2020)** ont suggéré que les nanoparticules pourraient entrer en contact avec les parois cellulaires et les membranes des bactéries par la voie métabolique. Ensuite, les nanoparticules se lient aux composants de base des cellules bactériennes tels que l'acide désoxyribonucléique, les enzymes et les ribosomes. Ils sont plus susceptibles de désactiver les fonctions essentielles des enzymes et des protéines. **Rajeshkumar et Bharath (2017)** ont proposé l'hypothèse de l'inhibition de la transcription et de la traduction par les ions métalliques, provoquant la destruction du matériel génétique à l'intérieur des cellules bactériennes. L'irradiation solaire en présence de nanoparticule provoque la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui peuvent présenter un large éventail d'activités telles que la perturbation de la membrane cellulaire, la fuite du cytoplasme et des composants cellulaires, les dommages de l'ADN, des protéines et des mitochondries, et enfin la mort des cellules (**Figure 8**) (**Khezerlou et al., 2018**).

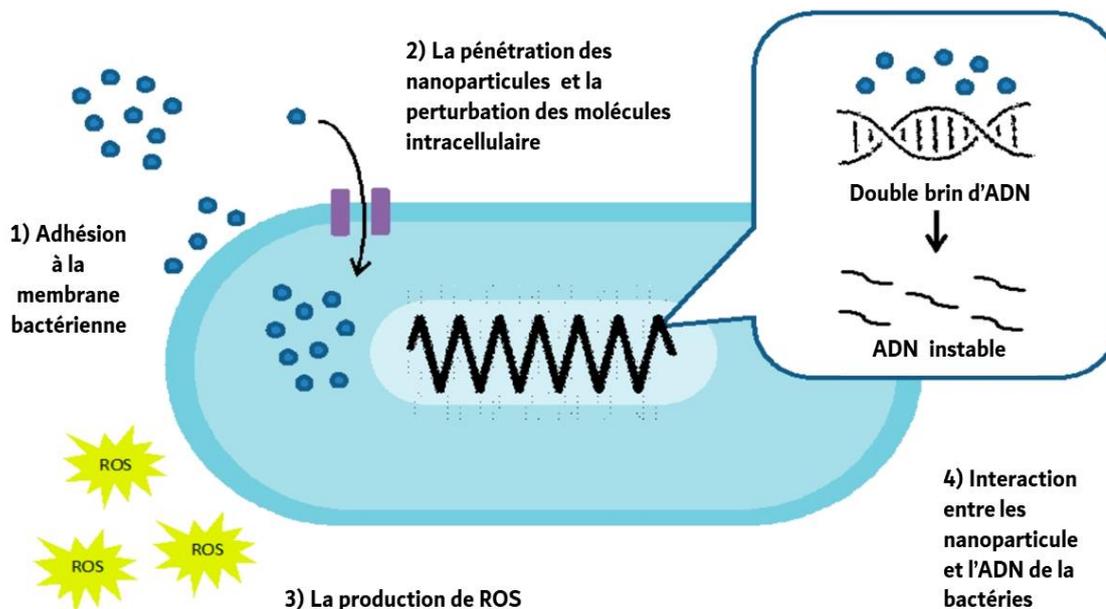


Figure 8: Schéma représente le processus mécanistique antibactérien des nanoparticules métalliques (Salleh *et al.*, 2020).

1.2.5 Applications de nanoparticules

La nanotechnologie a suscité l'intérêt des chercheurs car des modifications chimiques et physiques dans les caractéristiques des nanoparticules ont été subies en raison de leur taille microscopique et leur rapport surface/volume élevé. Grâce à ces propriétés, les nanoparticules ont une grande variété d'applications dans plusieurs secteurs biomédicaux, environnementaux et agricoles (khan *et al.*, 2022).

Les nanoparticules hydrophiles sont utilisées comme des vecteurs de médicaments depuis de nombreuses années tel que les nanoparticules d'oxyde de polyéthylène (Wang *et al.*, 2018b), cette capacité à administrer des médicaments améliore l'efficacité thérapeutique. Les nanoparticules métalliques, sont également largement utilisées dans les applications médicales. Les nanoparticules d'Or (AuNPs) sont utilisées dans l'administration de médicaments, la bioimagerie, la thérapie photothermique (Elahi *et al.*, 2018), les tests de diagnostic du cancer et dans les traitements chirurgicaux (Long *et al.*, 2015). Tandis que, les nanoparticules d'Argent (AgNPs) sont utilisées pour le pansement des plaies, le traitement du cancer, limiter la croissance des infections microbiennes (Long *et al.*, 2015), imagerie moléculaire, et même sous forme de vecteurs de médicaments (khan *et al.*, 2022). Pour les nanoparticules de Zinc (ZnNPs) ont été récemment appliquées comme agents antimicrobiens et anticancéreux en raison de leur potentiel à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Long *et al.*, 2015). Les nanoparticules synthétisées à l'aide de Cuivre (CuNPs) sont également connues pour leur utilisation dans un large éventail d'applications biomédicales (Rubilar *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2016).

Dans le secteur de l'environnement, du fait du rapport surface/masse, les nanoparticules jouent un rôle très important dans la purification de l'eau par faire des liaisons avec les précipités, les débris et les métaux lourds (**Khan et Malik, 2019**). Ces liaisons dépendent de la composition, de la morphologie et de l'absorbance des nanoparticules. Les nanoparticules de Dioxyde de Titane (TiO₂) sont des agents photocatalytiques efficaces utilisés dans le traitement de l'eau. Les nanoparticules de fer (FeNPs) ont également attiré l'attention en raison de leur capacité à bio-restaurer les métaux lourds (**khan et al., 2022**).

Dans le secteur de l'agriculture, les nanoparticules sont utilisées comme nano-formulations des produits agrochimiques qui sont appliqués comme pesticides et engrais. De même, les nanoparticules métalliques biosynthétisées sont considérées comme une nanotechnologie puissante pour gérer les microbes dangereux du sol (**khan et al., 2022**).

Dans le secteur électrique, les nanoparticules à base de carbone sont utilisées pour la fabrication des chipsets des processeurs des ordinateurs parce qu'elles sont capables de résister à des températures modérées. Elles sont également utilisées dans les batteries, les électrodes qui sont constituées des particules de carbone pour stocker l'énergie et elles sont largement utilisées dans la formation de catalyseur (**Baredar et al., 2021**).

De même, Les nanoparticules à base de carbone jouent un rôle très important dans la science biomédicale, car elles sont utilisées dans le développement des médicaments et dans la délivrance des gènes puisqu'elles ont de bonnes propriétés de pénétration à l'intérieur des cellules sanguines humaines, et aussi en raison de la présence de différentes formes de polymères. Elles sont également largement utilisées dans la génération tissulaire. Leur haute résistance à la traction les rend très utiles dans la fabrication des articulations artificielles ou un remplacement osseux avec l'addition d'une poudre de calcium (**Baredar et al., 2021**).

1.3 Généralités sur les nanoparticules d'Argent

L'Argent est un métal de transition doux, blanc et brillant possédant une conductivité électrique et thermique élevée. Il est pratiqué sous nombreuses formes notamment de monnaie, de récipients, de solutions, de papier d'aluminium, de sutures et de colloïdes sous forme de lotions. Des propriétés médicales de l'Argent sont également connues depuis plus de 2000 ans. (**Husen et Siddiqi, 2014 ; Beyene et al., 2017**). Et depuis le 19^{ème} siècle, les composés à base d'Argent ont été engagés dans l'application antimicrobienne et elles sont connues pour leurs effets inhibiteurs puissants et bactéricides.

Les nanoparticules d'Argent (AgNPs) ont des propriétés physicochimiques intéressantes qui les rendent d'une grande importance dans le domaine biologique et médicale (**Husen et Siddiqi, 2014 ;**

Beyene *et al.*, 2017), elles possèdent des activités antifongiques, anti-inflammatoires, antivirales et antiplaquettaires (**Nasrollahzadeh, 2014 ; Firdhous et Lalitha, 2015 ; Nam *et al.*, 2016**).

1.3.1 Synthèse des nanoparticules d'Argent

La biosynthèse des AgNPs est une approche très simple et rentable qui répond à la demande de la communauté des chercheurs et rejette simultanément la possibilité de risques écologiques (**Rogach, 2000**). L'approche descendante « Top-down » et l'approche ascendante « bottom-up » sont deux approches de synthèse des nanoparticules métalliques impliquant des moyens chimiques, physiques et biologiques (**Figure 9 et tableau III**). Le broyage mécanique des métaux en vrac et la stabilisation ultérieure des particules métalliques nanométriques résultantes par l'ajout des agents protecteurs colloïdaux sont quelques exemples de la méthode descendante. Outre la méthode ascendante, inclue la réduction des métaux, les méthodes électrochimiques et la décomposition (**Prabhu et Poulouse, 2012 ; Firdhous et Lalitha, 2015**).

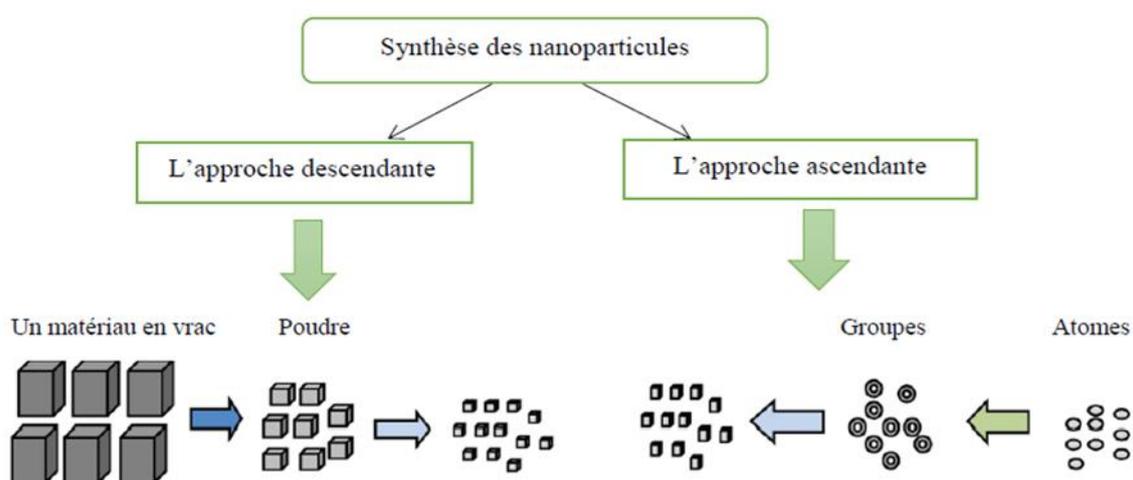


Figure 9: Schéma représentatif des deux approches ascendante et descendante de la synthèse des AgNPs (**Patra et Beak, 2014**).

1.3.1.1 Méthodes physiques

La synthèse physique des AgNPs comprend deux approches qui sont l'évaporation-condensation à l'aide d'un four tubulaire à pression atmosphérique et la technique d'ablation au laser (**Amendola et Meneghetti, 2009 ; Iravani *et al.*, 2014**). Les deux approches sont capables de synthétiser de grandes quantités d'AgNPs avec une grande pureté sans l'utilisation de produits chimiques qui libèrent des substances toxiques et mettent en danger la santé humaine et l'environnementale (**Lee et Jun, 2019**). Un faible rendement, une consommation d'énergie élevée et

un manque de distribution uniforme sont les inconvénients des méthodes physiques (**Shameli et al., 2010 ; Elsupikhe et al., 2015 ; Zhang et al., 2016**).

1.3.1.2 Méthodes chimiques

La réduction chimique est une approche courante pour la synthèse des AgNPs à l'aide d'agents réducteurs organiques et inorganiques (**Beyene et al., 2017**). Le processus de la réduction chimique implique la réduction d'Ag⁺ (fourni par un précurseur de sel d'Argent) en Argent élémentaire (AgNPs) par transfert d'électrons dans certaines conditions. En général, la synthèse chimique peut être favorisée par des agents réducteurs tels que le Borohydrure de Sodium (NaBH₄) et le Citrate de Sodium (TSC). La méthode chimique peut être combinée avec des sources d'énergie externes pour préparer des AgNPs, telles que des méthodes photochimiques, électrochimiques, assistées par micro-ondes et sonochimiques (**Xu et al., 2020**).

1.3.1.3 Méthodes biologiques

La nanobiotechnologie verte consiste à synthétiser des nanoparticules ou des nanomatériaux par des voies biologiques telles que celles impliquant des micro-organismes, des plantes et des virus ou leurs sous-produits, tels que des protéines, des enzymes et des lipides, à l'aide de divers outils biotechnologiques. Les nanoparticules fabriquées par la technologie verte sont de loin supérieures à celles fabriquées avec des méthodes physiques et chimiques en se basant sur divers aspects. Par exemple, les techniques vertes éliminent l'utilisation de produits chimiques coûteux, consomment moins d'énergie et génèrent des produits et sous-produits sans danger pour l'environnement. En conséquence, la nanobiotechnologie est une voie alternative prometteuse pour la synthèse de nanoparticules stables biocompatibles. La procédure générale utilisant des plantes pour produire des nanoparticules métalliques utilise la biomasse séchée des plantes et le sel métallique, respectivement comme agent bioréducteur et précurseur. La synthèse biologique des nanoparticules utilise une approche ascendante dans laquelle la synthèse se produit à l'aide des agents réducteurs et des agents stabilisants. Trois étapes principales sont suivies pour la synthèse de nanoparticules à l'aide d'un système biologique : le choix du solvant utilisé, le choix d'un agent réducteur respectueux de l'environnement et le choix d'un matériel non toxique comme agent de coiffage pour stabiliser le produit synthétisé (**Parveen et al., 2016**).

Tableau III: Tableau qui résume les différentes méthodes de synthèse des AgNPs (**Patra et Beak, 2014**) :

Méthode physique	Méthode chimique	Méthode biologique
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lithographie par faisceau d'électrons ✓ Implantation ionique ✓ Condensation de gaz inerte ✓ Meulage mécanique ✓ Fraisage ✓ Synthèse en phase vapeur 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Méthode de précipitation ✓ Réduction chimique des sels métalliques ✓ Méthode électrochimique ✓ Pyrolyse ✓ Procédé sol-gel 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Utilisation des plantes et de leurs extraits ✓ Utilisations des micro-organismes ✓ Utilisation des algues ✓ Utilisation des enzymes et des biomolécules

1.3.2 Caractéristiques des nanoparticules d'Argent

La caractérisation des nanoparticules est importante pour comprendre et contrôler la synthèse et les applications des nanoparticules. La caractérisation est effectuée en utilisant une variété de techniques telles que spectroscopie UV-Visible, la microscopie électronique à transmission et à balayage (TEM, SEM), la microscopie à force atomique (AFM), la diffusion dynamique de la lumière (DLS), la spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS), la poudre X- diffractométrie des rayons (XRD), spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) (**Abou El-Nour et al., 2010**).

Ces techniques sont utilisées pour la détermination de différents paramètres tels que la taille, la forme, la cristallinité, les dimensions fractales, la taille des pores et la surface des particules. De plus, l'orientation, l'intercalation et la dispersion des nanoparticules et des nanotubes dans les matériaux nanocomposites pourraient être déterminées par ces techniques (**Abou El-Nour et al., 2010**).

1.3.3 Propriétés des nanoparticules d'Argent

La nanotechnologie se développe rapidement en produisant des nanoparticules qui peuvent avoir de nouvelles propriétés physico-chimiques liées à la taille (**Ju-Nam et Lead, 2008**). Les nouvelles propriétés des NPs ont été exploitées dans un large éventail d'applications potentielles en médecine, en cosmétique, dans les énergies renouvelables, l'assainissement de l'environnement et les

dispositifs biomédicaux (De *et al.*, 2008 ; Ghosh et Paria, 2012). Parmi les nanoparticules, les nanoparticules d'Argent suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques. Les AgNPs ont des propriétés physico-chimiques distinctives, notamment une conductivité électrique et thermique élevée, une stabilité chimique, et une activité catalytique (Krutzyakov *et al.*, 2008). En outre, les AgNPs présentent une activité bactéricide et fongicide à large spectre (Ahamed *et al.*, 2010) qui les a rendus extrêmement populaires dans une gamme variée de produits de consommation, y compris les produits en plastique, les savons, les pâtes, les aliments et les textiles (Dallas *et al.*, 2011 ; García-Barrasa *et al.*, 2011 ; Tran et Le, 2013).

1.3.4 Application des nanoparticules d'Argent

Les AgNPs ont été largement utilisées, elles sont utilisées comme agents antibactériens dans l'industrie de la biomédicale, dans le stockage des aliments, nombreux d'applications environnementales (Abou El-Nour *et al.*, 2010), dans l'industrie textile dans lequel plusieurs fibres nanocomposites d'argent ont été préparées (Figure 10) (Lee *et al.*, 2003).

Les AgNPs semblent être également des agents antibactériens alternatifs aux antibiotiques et ont la capacité de vaincre la résistance bactérienne aux antibiotiques (Zhang *et al.*, 2016). En tant qu'agents antibactériens, les AgNPs ont été appliquées dans un large éventail d'applications allant de la désinfection des dispositifs médicaux et des appareils ménagers au traitement de l'eau (Gupta et Silver, 1998 ; Bosetti *et al.*, 2002 ; Cho *et al.*, 2005 ; Jain et Pradeep, 2005 ; Li *et al.*, 2008 ; Abou El-Nour *et al.*, 2010). De plus, les AgNPs jouent un rôle important en tant qu'agents antifongiques contre diverses maladies causées par des champignons (Zhang *et al.*, 2016).

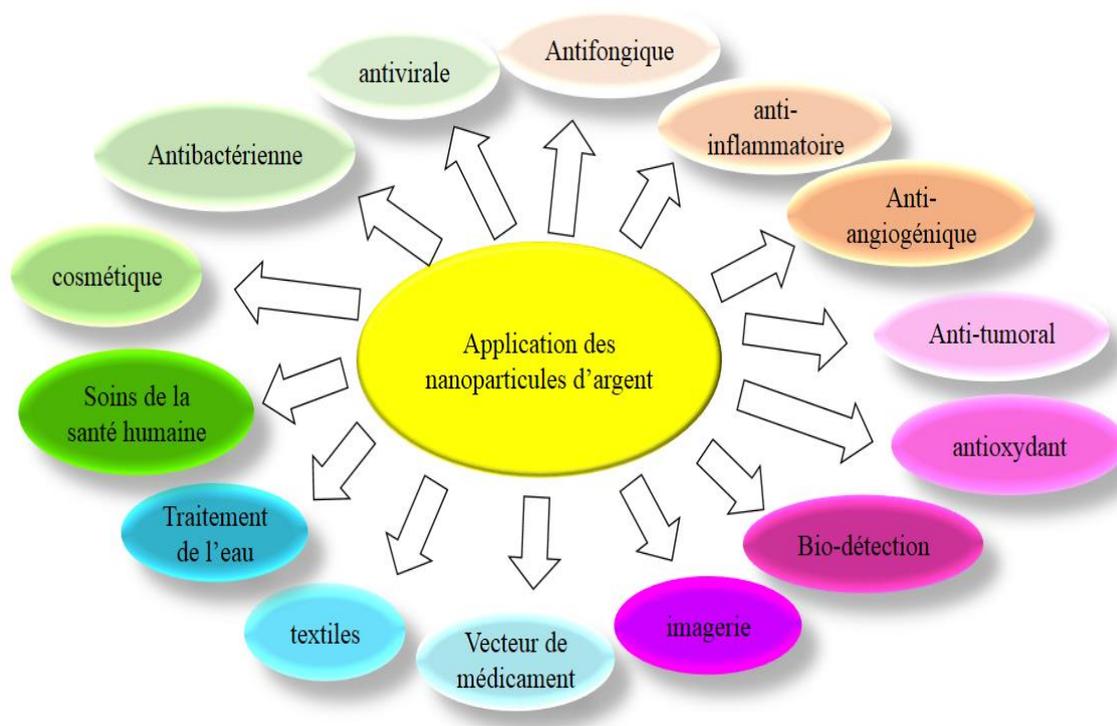


Figure 10: Diagramme schématique représentant diverses applications des AgNPs (**Zhang *et al.*, 2016**).

1.3.5 La toxicité des nanoparticules d'Argent

La toxicité des AgNPs a été démontrée par un certain nombre de études in vitro (**Foldbjerg *et al.*, 2011, 2009 ; Kawata *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2009**). Elle est déterminée par de nombreux facteurs, notamment la taille des particules, le type de matériau de revêtement, la structure morphologique, la composition chimique, la charge de surface, la solubilité ainsi que leur le métabolisme et l'excrétion influencent la toxicité des NPs (**Castranova, 2011 ; Schrand *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2018 ; Zhang *et al.*, 2016**).

CHAPITRE II

Matériels et Méthodes

2 Matériels et Méthodes

Notre travail porte sur la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'Argent (AgNPs) par la réduction des ions d'Argent en utilisant des biomolécules existantes dans l'extrait hydro-éthanolique (macération) de la plante *Marrubium vulgare*. Les effets antibactériens et antifongiques des nanoparticules synthétisées ainsi que ceux de l'extrait hydro-éthanolique ont été testés après avoir évalué quantitativement les constituants photochimiques bioactifs dans cet extrait.

La macération, la synthèse des nanoparticules d'Ag, les dosages et l'activité antibactérienne ont été réalisées au niveau du laboratoire « PFE » et du laboratoire de phytopharmacie, département de biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1. Tandis que, l'activité antifongique a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie des systèmes microbiens (LBSM), Kouba, Alger. La caractérisation des nanoparticules a été réalisée au niveau du Centre de recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimiques (C.R.A.P.C.), Bousmail.

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel biologique

➤ Matériel végétale

La plante *Marrubium vulgare* a été récoltée au début du mois de Mai 2022 à Bourached, la wilaya d'Aïn Defla, Algérie. Elle a été rincée avec l'eau du robinet puis avec l'eau distillée, séchée à l'abri de la lumière puis broyée et stockée dans des flacons en verre.

➤ Matériel microbiologique

Les souches utilisées au cours de la réalisation de l'activité antimicrobienne sont fournies par le laboratoire de biologie des systèmes microbiens (LBSM) de l'Ecole Normale Supérieure de kouba (ENS). Elles sont représentées dans le tableau IV.

Tableau IV: les souches utilisées dans l'étude antibactérienne et antifongiques :

Bactéries	Champignons
✓ <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	✓ <i>Aspergillus carbonarius</i> M333.
✓ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIP A22)	✓ <i>Umbelopsis ramanniana</i> (NRRL 1829)
✓ <i>Staphylococcus aureus</i> (44300)	✓ <i>Aspergillus flavus</i> (NRRL 3251)
✓ <i>Listeria monocytogenes</i> (CIP 82110)	✓ <i>Aspergillus parasiticus</i> (CBS 100926)
	✓ <i>Aspergillus niger</i>

2.1.2 Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans notre étude a été cité dans l'annexe N°1

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* (Macération)

Dans un premier temps, nous avons mélangé 10 g de *Marrubium vulgare* avec 100 ml d'éthanol/eau (70 :30, V/V), puis laissé le mélange sous agitation continue pendant 24 heures à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Une fois l'agitation est terminée, une filtration de ce mélange a été réalisée avec du papier Whatman N°1, pour obtenir à la fin un extrait hydro-éthanolique. Les étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique de cette plante sont illustrées dans la figure 11.

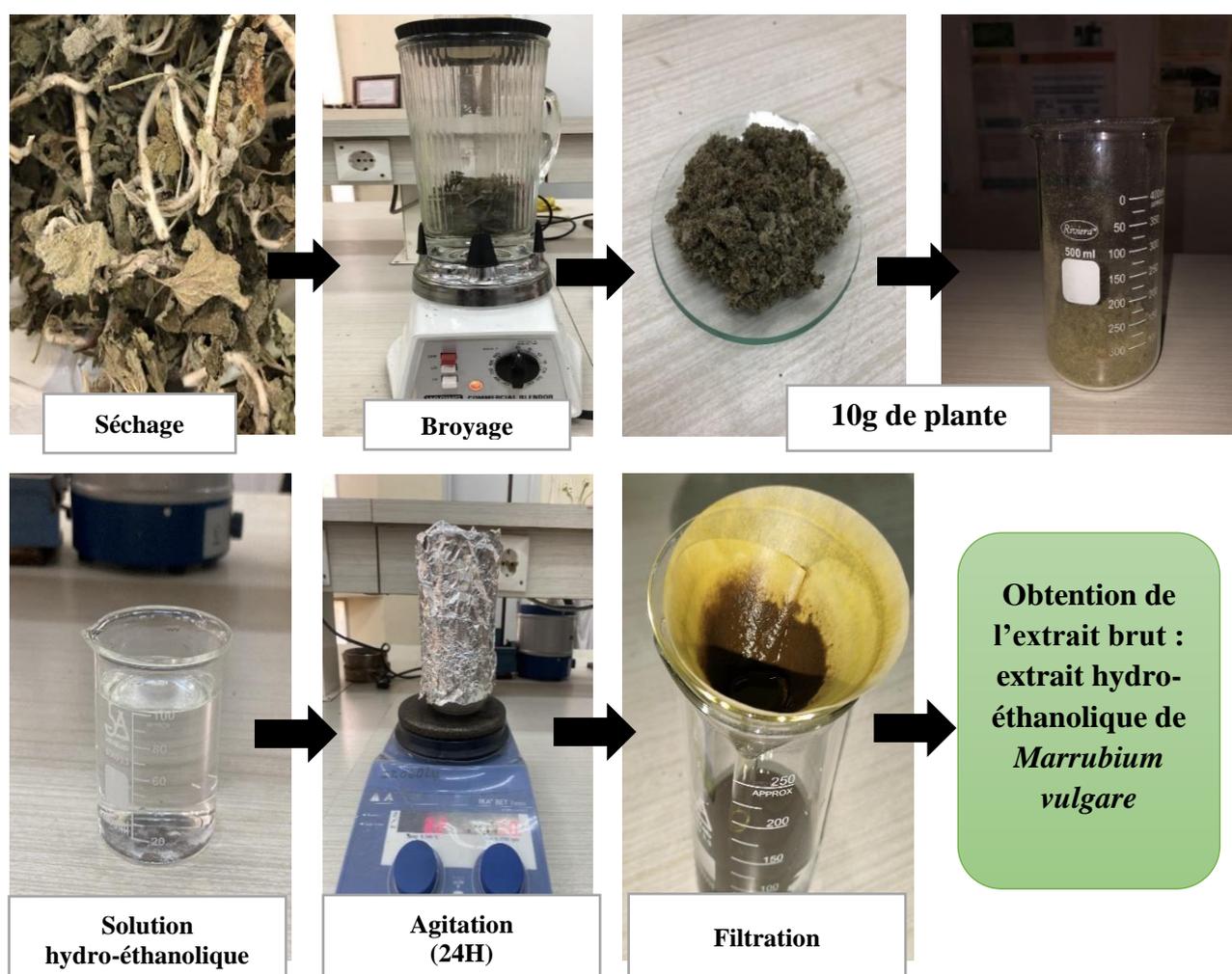


Figure 11: Les étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique.

2.2.2 Dosage des polyphénols

La teneur totale en polyphénols dans l'extrait de *M. vulgare* a été déterminée selon la méthode de Folin-ciocalteu (Noreen *et al.*, 2017). Cette méthode colorimétrique est basée sur la réduction d'un complexe phosphotungestique (H₃PW₁₂O₄₀)- phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) par des composés phénoliques en produisant une réaction d'oxydation entre eux qui mène à un changement de couleur vers le bleu en raison de la présence des conditions alcalins.

La quantité de polyphénol dans l'extrait est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. Pour cela, nous avons préparé une solution mère de l'acide gallique (1mg/ml) et une série de dilution de cette solution mère.

1ml de réactif folin-ciocalteu (10%) a été mélangé d'une part avec 200µl d'acide gallique à différentes concentrations (0,125 jusqu'à 0,0078125 mg/ml) et d'autre part avec 200 µl de l'extrait hydro-éthanolique puis incubé à une température ambiante pendant 4 min. Un volume de 800µl de carbonate de sodium est ajouté avant l'incubation à l'obscurité pendant 2h à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 760 nm en utilisant le spectrophotomètre (Figure 12).

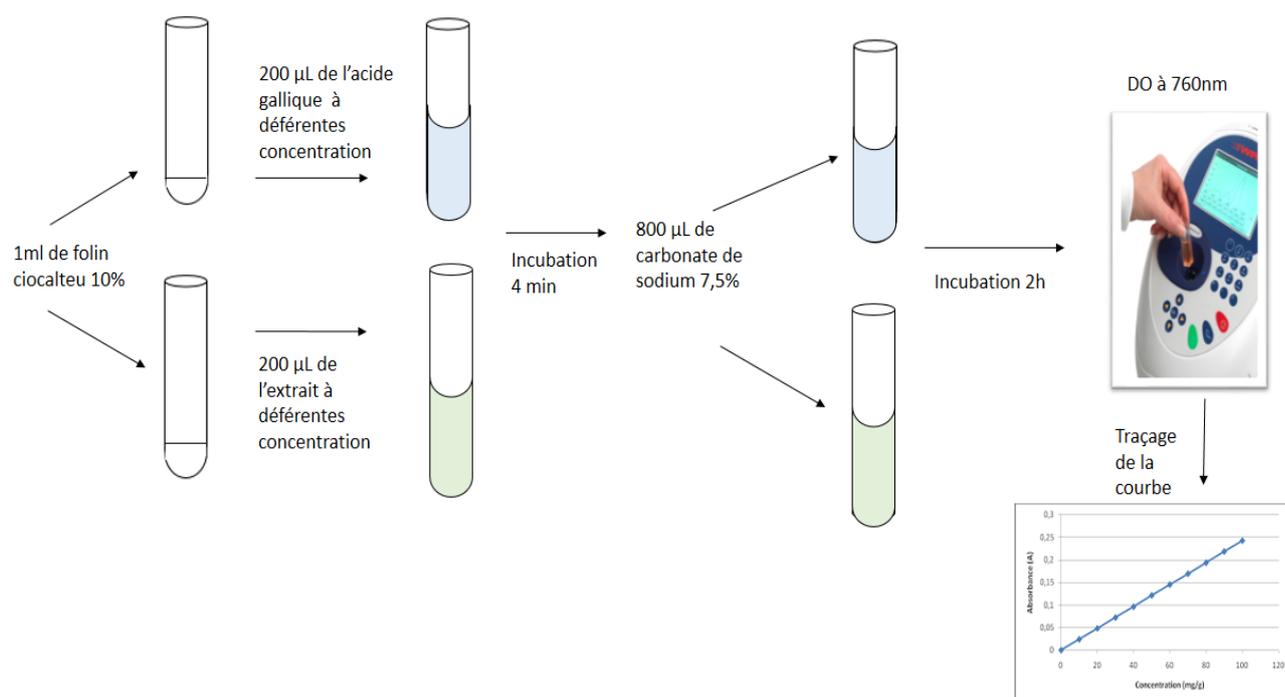


Figure 12: Schéma explicatif représente les étapes de dosage de polyphénols.

2.2.3 Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée pour le dosage des flavonoïdes est basée sur le principe de la détermination directe de Chlorure d'Aluminium. En présence de Chlorure d'Aluminium, les

flavonoïdes sont capables de former un complexe jaune pâle qui chélate les ions Al^{3+} grâce à son groupe hydroxyle libre en position 5 (Basil *et al.*, 2012).

La quantité des flavonoïdes qui existe dans notre extrait a été déterminée grâce à une courbe d'étalonnage qui a été réalisée en utilisant la quercétine. Nous avons préparé une solution mère de cette dernière (1mg/1ml) puis une série de dilution a été effectuée.

D'abord, un volume de 0,5 ml de $AlCl_3$ a été mélangé d'une part avec 0,5 ml de la solution de quercétine à différentes concentrations (0,5 jusqu'à 0,0078125 mg/ml) et d'autre part avec 0,5ml d'extrait hydro-éthanolique. Le mélange a été incubé pendant 10 min à l'obscurité et à une température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide de spectrophotomètre (Figure 13).

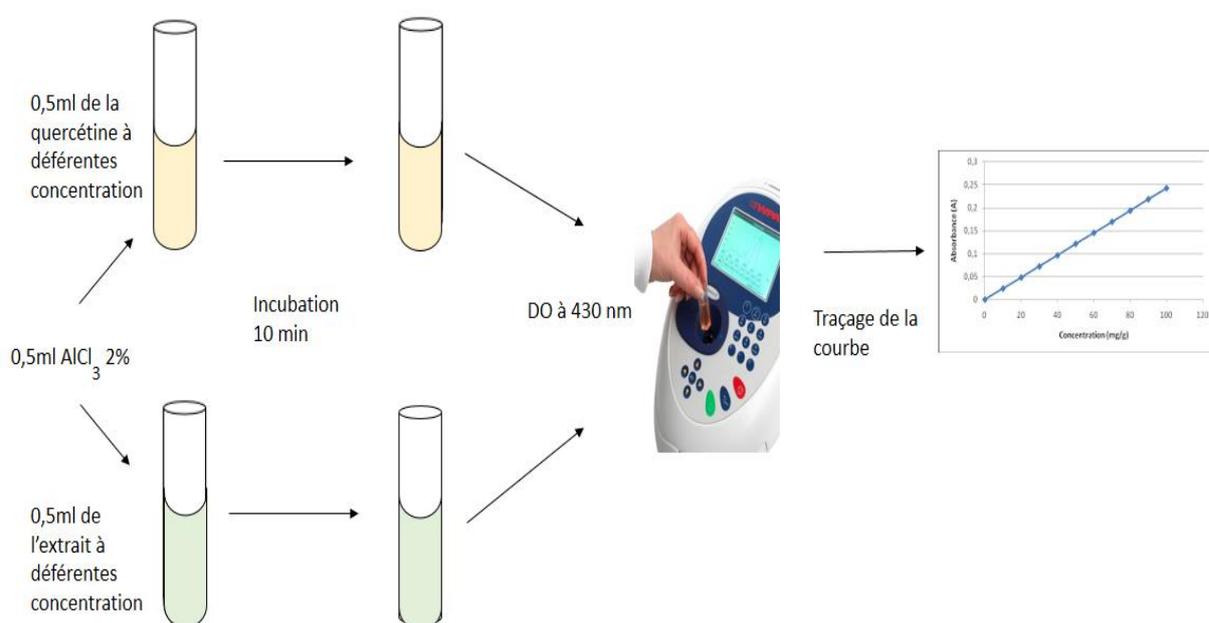


Figure 13: Schéma explicatif représente les étapes de dosage des flavonoïdes.

2.2.4 Biosynthèse des nanoparticules d'Argent

Afin de synthétiser des nanoparticules d'Ag, une quantité de 95ml de nitrate d'Argent d'une couleur transparente a été mélangé avec 5 ml de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare*. Le mélange obtenu sera agité à l'aide d'agitateur magnétique et à l'abri de la lumière.

Après 24h d'agitation, la solution contenant des nanoparticules a été centrifugée à 1800 tr / min pendant 10 min, puis le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé avec l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les impuretés. Ensuite, les NPs obtenues seront séchées dans l'étuve afin d'obtenir une poudre d'AgNPs. Les étapes de la biosynthèse des nanoparticules d'Ag sont illustrées dans la figure 14 (Jyoti *et al.*, 2016).

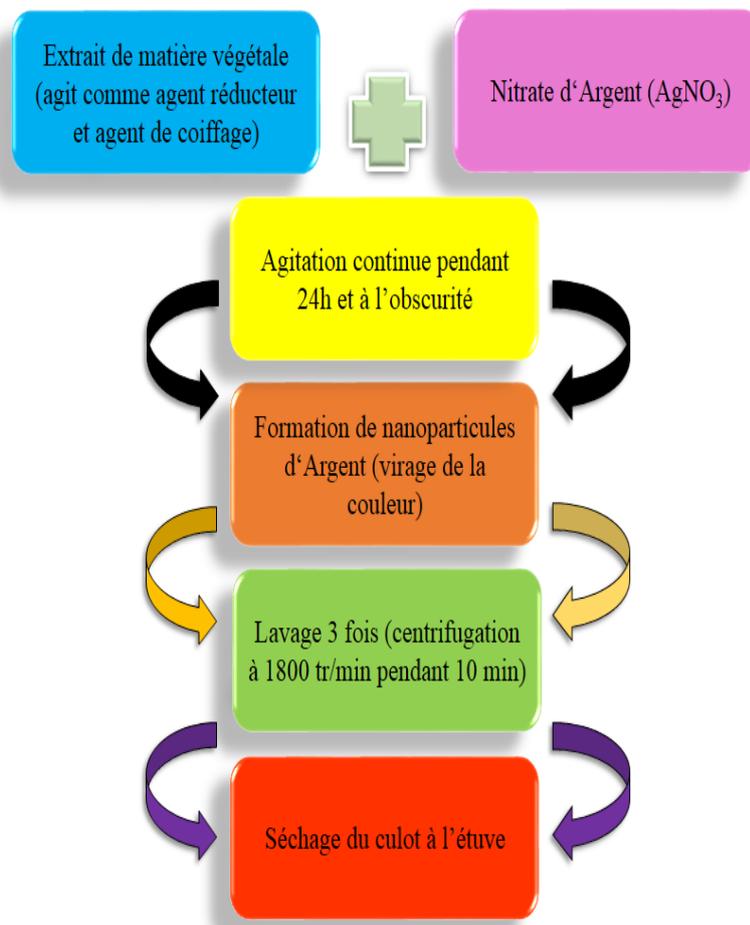


Figure 14: Schéma explicatif représente les étapes de dosage des flavonoïdes.

2.2.5 Caractérisation des bionanoparticules d'Argent

2.2.5.1 Détermination de diamètre des AgNPs par Diffusion Dynamique de la Lumière (DLS)

La DLS est une méthode non destructive utilisée pour obtenir le diamètre moyen des nanoparticules dispersées dans des suspensions. Elle a un avantage particulier de sonder simultanément une grande quantité de particules (Zhang *et al.*, 2016).

La distribution granulométrique des nanoparticules d'Argent biosynthétisées à partir l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *M. vulgare* a été évaluée par mesure de la diffusion de la lumière dynamique à l'aide d'un analyseur de taille et de charge « SZ-100 HORIBA Scientific », à 25°C sous un angle fixe de détection 90°.

2.2.5.2 Détermination de la charge de surface des AgNPs par Potentiel zêta

Le potentiel zêta est un paramètre très important pour les colloïdes ou les nanoparticules en suspension. Sa valeur est étroitement liée à la stabilité de la suspension et à la morphologie de la surface des particules. Par conséquent, il est largement utilisé dans les études de stabilité des produits et la recherche sur l'adsorption de surface (Xu, 2008).

La stabilité des AgNPs biosynthétisées à partir l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *M. vulgare* a été déterminée par la mesure de potentiel zêta à l'aide d'un analyseur de taille et de charge « SZ-100 HORIBA Scientific », à 25 °C en utilisant une conductivité de 0,272 mS/cm.

2.2.6 Etude de l'activité antimicrobienne

Dans notre étude nous avons testé l'activité antibactérienne et l'activité antifongique de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* et les AgNPs biosynthétisés à partir l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* par la méthode de diffusion des puits. Cette technique repose sur l'apparition des zones d'inhibition autour des puits contenant l'extrait de la plante ou les AgNPs.

2.2.6.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait brut de *M. vulgare* et les AgNPs biosynthétisés à partir l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* a été évaluée vis-à-vis 4 souches bactériennes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. Pour cela, des cultures bactériennes jeunes de 24h ont été préparées, puis des suspensions bactériennes équivalentes à 0,5 Mcfarland (une absorbance à 625 nm comprise entre 0,08 et 0,13) ont été préparées.

La suspension bactérienne a été ensuite ensemencées à l'aide d'un écouvillon à la surface des boîtes de Pétri préalablement coulée avec un milieu gélosé ISP2 semi solide (Annexe N°2) et en tournant à chaque fois la boîte d'un angle de 60°. Après l'ensemencement, des puits de 6 mm de diamètres ont été introduits dans cette gélose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Les puits ont été remplis par des doses différentes des AgNPs (1 et 0.5 mg/ml) ou de l'extrait brut de *M. vulgare* (30µl). Dans ce test, la gentamicine (GN) a été utilisée comme un contrôle positif. Afin d'assurer une bonne diffusion des AgNPs ou de l'extrait dans la gélose, Les boîtes de Pétri sont mises à 4°C pendant 2 h pour permettre la diffusion des substances actives dans le milieu, avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h, le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits a été mesuré.

2.2.6.2 Activité antifongique

L'activité antifongique de l'extrait brut de *M. vulgare* et des AgNPs biosynthétisés à partir l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* (2 et 1 mg/ml) a été évaluée *in vitro* vis-à-vis de 5 souches de champignons pathogènes : *Aspergillus carbonarius*, *Umbelopsis ramanniana*, *Aspergillus flavus*,

Aspergillus parasiticus et *Aspergillus niger*. Ces souches fongiques ont été ensemencées sur le milieu PDA, et après une incubation de 48-72 heures une suspension fongique a été préparée. Cette suspension a été calibrée entre 0,15 et 0,17 par un spectrophotomètre à une absorbance de 530 nm.

Un volume de 200 µl de la suspension du champignon est ajouté à chaque 100ml du milieu PDA semi solide (**Annexe N°2**) préalablement liquéfié (ensemencement en masse). Une fois les boîtes sont coulées et laissés jusqu'à la solidification du milieu, des puits de 6 mm de diamètres ont été introduits dans cette gélose à l'aide des pipettes pasteur stérile. Les puits ont été remplis par des doses différentes des AgNPs (2 et 1 mg/ml) ou de l'extrait brut de *M. vulgare* (30µl). Par la suite, les boîtes ont été pré-incubées au réfrigérateur pendant 2 heures pour assurer une bonne diffusion des substances actives, puis elles ont été incubées à 37 °C pendant 48 à 72 heures. Après l'incubation, la lecture des résultats a été faite en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des puits.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

3 Résultats et discussion

Dans notre étude, nous avons préparé dans un premier temps un extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* afin de déterminer les concentrations des polyphénols et des flavonoïdes existants. Ensuite la synthèse des AgNPs et tester leurs effets sur différentes souches bactériennes et fongiques.

3.1 Taux des polyphénols

La teneur totale en polyphénols dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare* a été déterminée grâce à une courbe d'étalonnage (Figure 15), utilisant l'acide gallique à différentes concentrations comme un polyphénol de référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par ml d'extrait brut (mg EAG/ml d'extrait).

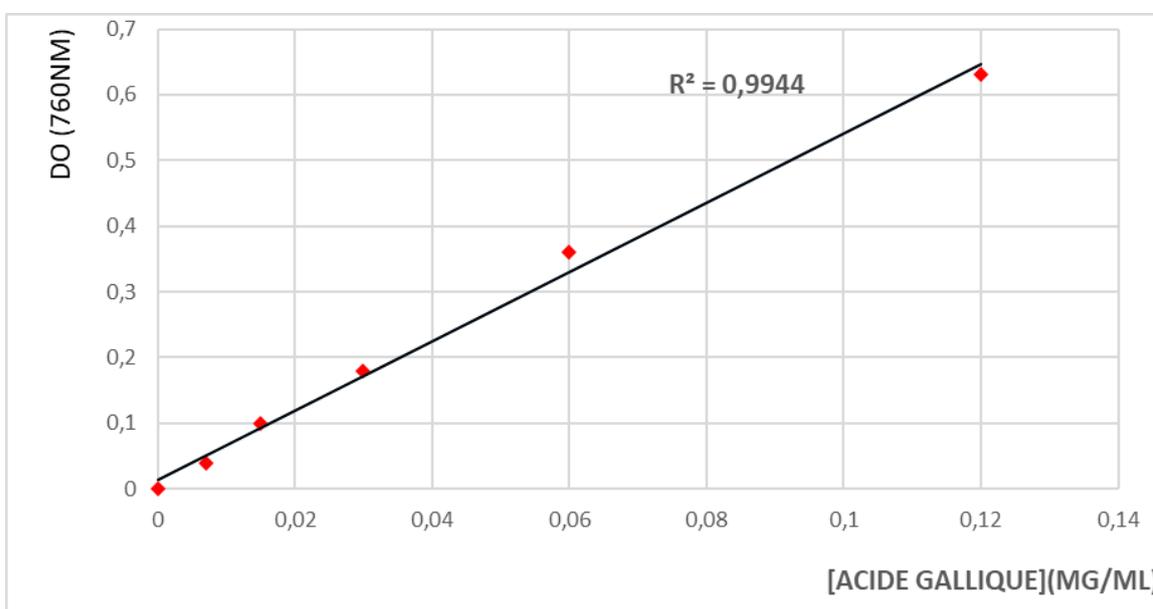


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

A partir la courbe d'étalonnage obtenu nous avons utilisé un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9944$ et l'équation de régression $y = 5,2656x + 0,014$ afin de déterminée la concentration en polyphénol dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare*.

D'après l'équation nous avons obtenus une concentration en polyphénol dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare* équivalente de 2,0107 mg d'AG/ml d'extrait brut $\pm 0,124$.

L'étude menée par **Matkowski et al., (2008)** a montré que toutes les plantes de la famille de *Lamiaceae* sont connues pour leur richesse en composés phénoliques. Ceci est cohérent avec nos résultats qui révèlent la richesse de l'extrait de *M. vulgare* en ces métabolites secondaires.

Dans notre extrait hydro-éthanolique nous avons trouvé une concentration en polyphénol de 2,0107 mg d'AG/ml d'extrait brut. D'après l'étude de **Djahra (2014)**, le dosage de polyphénols totale de l'extrait méthanolique brut de *M. vulgare* contient une teneur de 0,001708 (mg d'AG/ml d'extrait). Selon l'étude de **Ghedadba et al., (2014a)** la concentration de polyphénol est différente tout dépend le type d'extrait du *M. vulgare* par exemple dans l'extrait d'éther de pétrole la valeur de phénol est $1,2 \pm 0,52$ mg EAG/g d'extrait, l'extrait dichlorométhane $1,27 \pm 0,94$ mgEAG/g d'extrait et dans l'extrait méthanolique $3,42 \pm 0,85$ mg EAG/g d'extrait.

3.2 Taux des flavonoïdes

Le taux en flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare* a été déterminé grâce à une courbe d'étalonnage (Figure 16), utilisant la quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine par ml d'extrait brut (mg EQ/ml d'extrait).

Afin de déterminée la concentration de flavonoïde dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare* à partir de la courbe d'étalonnage, nous avons utilisé un coefficient de corrélation $R^2 = 1$ et l'équation de régression $y = 4,8027x + 0,0016$.

D'après l'équation nous avons obtenu une concentration en flavonoïde dans l'extrait hydro-éthanolique du *M. vulgare* équivalente à 2,0536 mg d'EQ/ml/d'extrait brut $\pm 0,086$.

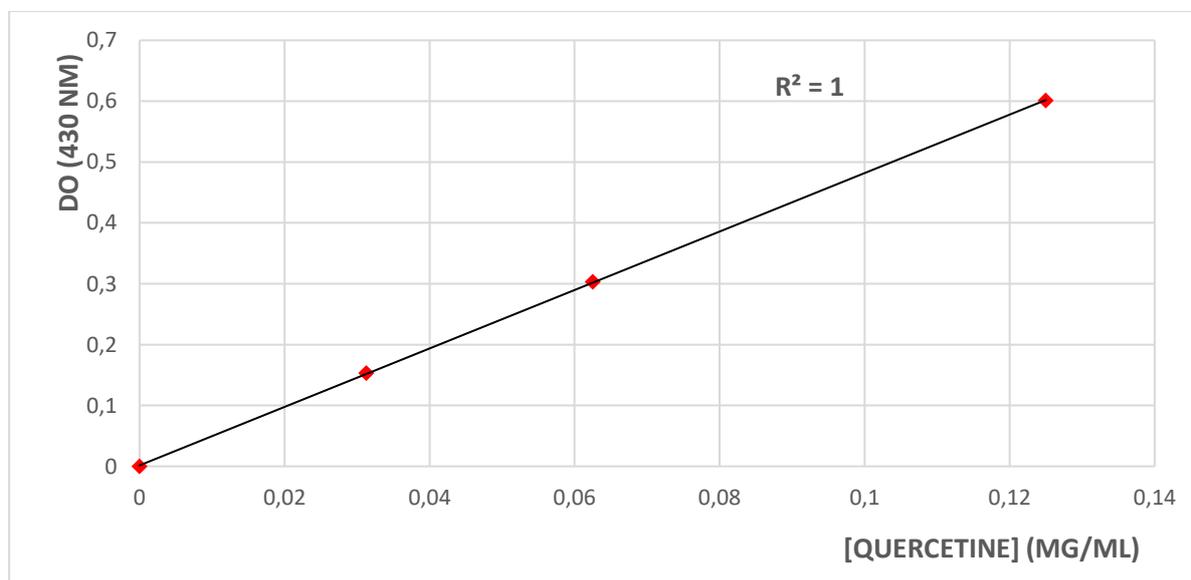


Figure 16 : Courbe d'étalonnage établie avec la quercétine.

L'étude menée par **Ghedadba et al., (2014b)** a suggéré que les concentrations des flavonoïdes dans les différents extraits du *Marrubium vulgare* dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits. Dans lequel, la concentration des flavonoïdes dans l'extrait de méthanol était $33,10 \pm 0,60$ mg EQ/100g de MS, suivie par l'extrait aqueux lyophilisé ($23,86 \pm 0,36$ mg EQ/100g

MS) et butanolique ($20,90 \pm 0,78$ mg EQ/100g de MS). Les résultats d'une autre étude, ont montré que la concentration la plus élevée, avec une valeur de $18,0 \pm 0,75$ mg EQ/g d'extrait, a été enregistré dans l'extrait méthanolique, tandis que la plus faible concentration a été mesurée dans l'extrait éther de pétrole $0,70 \pm 0,05$ mg EQ/g d'extrait (**Ghedadba et al., 2014a**).

La distribution des métabolites secondaires change au cours du développement de la plante. Ce changement peut être lié aux conditions climatiques extrêmes (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité, etc.) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes (**Bouterfas et al., 2013**).

3.3 Biosynthèse de nanoparticules d'Argent

Dans la présente étude, la synthèse de nanoparticules d'argent a été réalisée avec succès en utilisant l'extrait hydro-éthanolique de la plante *M. vulgare* comme un agent réducteur du $AgNO_3$. Un changement de couleur du jaune pâle au brun foncé est observé après une agitation pendant 24h à l'obscurité (**Figure 17**), confirmant la formation d'AgNPs.

Notre résultat de changement de couleur de la solution contenant les NPs s'accorde avec les résultats observés dans les travaux menés par **Ibrahim et al., 2020 ; Xia et al., 2016**). Selon **Kumar et al., (2017)**, le changement de couleur observé lorsque l'extrait est ajouté au sel d'argent ($AgNO_3$) est dû à l'effet de certains composés chimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes présents dans l'extrait agissant comme un agent réducteur qui réduit les ions d'argent (Ag^+) en un atome d'Argent. Les mêmes changements de couleur ont été observés par nombreux chercheurs en utilisant différents extraits de plantes (**Panigrahi, 2013 ; Niraimathi et al., 2013**). Lors de l'exposition des extraits de plantes avec les ions d'Argent, ces ions seront réduits en atome d'Argent **Yogeswari et al., (2012)**.

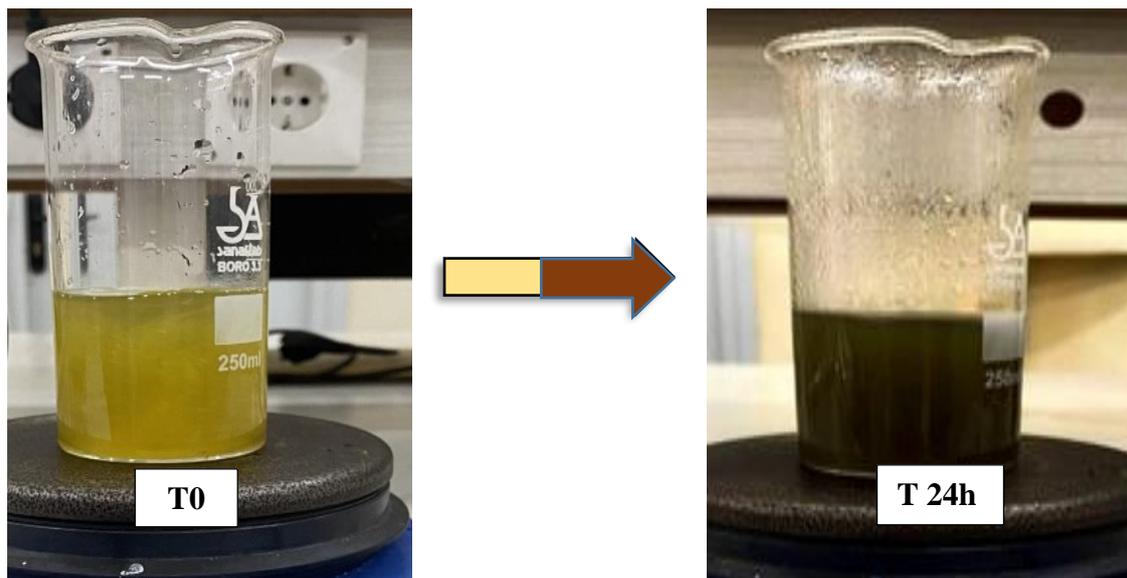


Figure 17: Observation du virage de couleur de la solution d'AgNO₃ du jaune vers le brun foncé et la formation d'AgNPs.

3.4 Caractérisation des AgNPs

3.4.1 Caractérisation des AgNPs par la DLS

La DLS est une technique appropriée qui permet de accéder non seulement à la taille des particules mais aussi à la présence d'agglomérats et d'agrégats. Il s'agit d'une technique non invasive, non destructive et peu coûteuse, et son fonctionnement est relativement simple et rapide (**Souza et Mohallem, 2016**). La représentation graphique de la distribution granulométrique des AgNPs biosynthétisés à partir de la plante *M. vulgare* déterminée par la technique DLS est illustrée dans la figure 18.

D'après les résultats, la distribution granulométrique moyenne calculée des AgNPs biosynthétisées est de 256,5 nm. Nous suggérons que la taille des AgNPs est grande parce que la durée de leur synthèse était 24h et la durée de la synthèse peut influencer la taille des AgNPs.

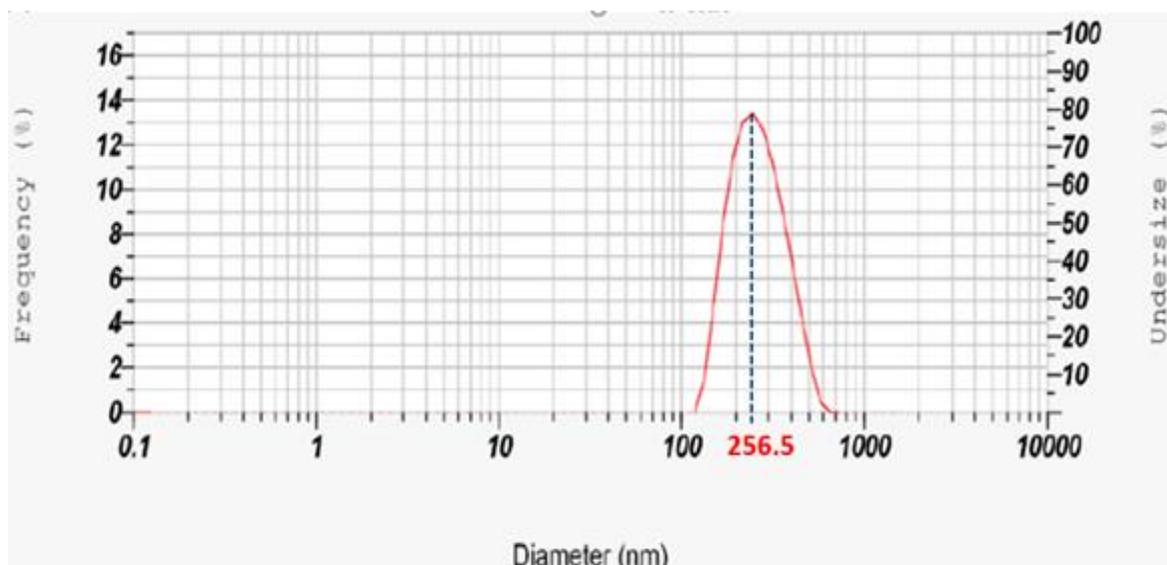


Figure 18: Représentation graphique de la distribution granulométrique des AgNPs biosynthétisés obtenus par DLS. La distribution granulométrique des AgNPs ont été déterminées à l'aide d'un analyseur de taille de particules et de potentiel Zêta (SZ-100 HORIBA Scientific) à 25 C avec un angle de détection de 90°.

Dans notre travail nous avons obtenu une grande taille des AgNPs (256,5 nm), tandis que cette taille était moins dans d'autres travaux. Selon les résultats observés par **Anandalakshmi et al., (2016)**, la distribution granulométrique moyenne calculée des AgNPs était d'une taille de 73,14 nm, alors qu'elle était d'environ de 15 nm dans les résultats observés par **Hussein et al., (2018)**. La durée de la synthèse des AgNPs dans les deux travaux était 20 min, tandis qu'elle était dans notre travail 24h. Cette variation de la taille formée pourrait être attribuée à la nature de polydispersité des nanoparticules. La polydispersité est utilisée pour déterminée le degré d'hétérogénéité d'une distribution. Dans le cas des suspensions des nanoparticules la polydispersité pourraient être la cause de l'apparition des nanoparticules sous forme d'agrégats ou d'agglomérats (**Hussein et al., 2018**). On suggère que la durée de la synthèse des nanoparticules peut influencer la taille des AgNPs

3.4.2 Caractérisation des AgNPs par le Potentiel Zêta

Le potentiel zêta est une mesure de la charge de surface qui est considérée comme un paramètre précieux par la communauté scientifique. C'est une mesure de la différence entre le potentiel électrostatique d'une nanoparticule et celui de la solution en vrac (**Parupudi et al., 2022**). Les valeurs de potentiel zêta (positives ou négatives) jouent un rôle important dans la stabilisation de la suspension de particules (**Gaikwad et al., 2019**).

La représentation graphique de la stabilité des AgNPs biosynthétisés à partir de la plante *M. vulgare* déterminée par la technique de potentiel zêta est illustrée dans la figure (19).

D'après les résultats que nous avons obtenus, le potentiel zêta des AgNPs biosynthétisées a été trouvé sous la forme d'un pic net à -29,1mV. Ce que nous permet de suggérer que les AgNPs sont stables.

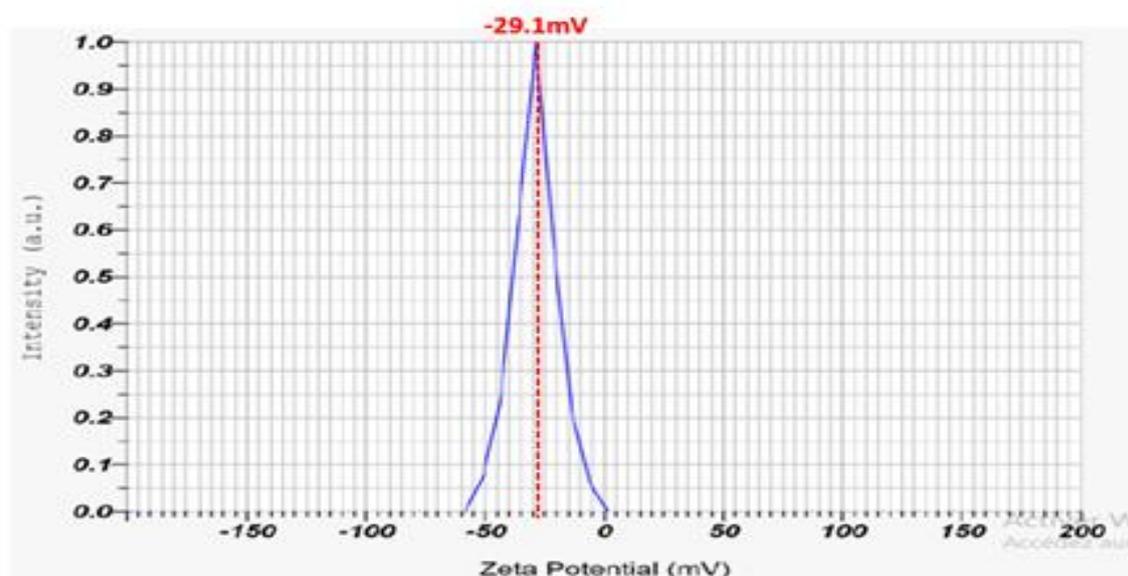


Figure 19: Représentation graphique de la charge de surface des AgNPs biosynthétisées obtenus par le potentiel zêta. La charge de surface des AgNPs a été déterminée à l'aide d'un analyseur de taille de particules et de potentiel Zêta (SZ-100 HORIBA Scientific) à 25 C et utilisant une conductivité de 0,272 mS/cm.

Les résultats de potentiel zêta des AgNPs que nous avons trouvés (-29,1mV) ressemblent à ceux décrits par plusieurs chercheurs, dont ils ont obtenu les valeurs suivantes : -32mV (**Edison et Sethuraman 2016**), -35,6 mV (**Edison et Sethuraman 2012**) et - 55,0 mV (**Rao et al., 2013**). Les valeurs négatives élevées de potentiel zêta confirment la répulsion entre les particules et augmentent la stabilité de la formulation. Ces valeurs négatives pourraient être dues au capsulage des constituants polyphénoliques présents dans les extraits de plantes (**Edison et Sethuraman 2016**).

3.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les nanoparticules d'Argent présentent des applications prometteuses dans plusieurs domaines biomédicaux tels que la biomédecine, l'administration de médicaments et les anti-angiogéniques. Après la caractérisation des nanoparticules synthétisées par différentes techniques, elles ont été testées pour leurs activités antimicrobienne (**Reddy et al., 2014 ; Rasheed et al., 2017**).

3.5.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait de *M. vulgare* et des AgNPs biosynthétisés à partir de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* a été évaluée par la méthode de diffusion des puits vis-à-

vis quatre bactéries pathogènes de Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

A. L'activité antibactérienne de l'extrait de *M. vulgare*

Nous avons remarqué d'après les résultats présentés dans le tableau (V), qu'il y a une faible activité antibactérienne de l'extrait de *M. vulgare* contre les souches de Gram négatif. En effet, on a enregistré une zone de 10 mm contre la souche *E. coli* et de 8 mm vis-à-vis la souche *P. aeruginosa*. En revanche, cet extrait n'a présenté aucune activité vis-à-vis les souches bactériennes à Gram positif : *S. aureus* et *L. monocytogenes*.

Tableau V: Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait de *M. vulgare*.

Zone d'inhibition contre les bactéries			
Gram positif		Gram négatif	
<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<6mm	<6mm	10±1,33mm	8±0,44mm

Selon l'étude menée par **Dib et al., (2021)**, des extraits aqueuse et méthanolique des feuilles du *M. vulgare* ont présenté une activité antibactérienne contre des bactéries à Gram négatif : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (14mm/11,33mm) et *Eikenella corrodens* (14mm/12mm) à une concentration de 2,5mg/ml. Toutefois, ces résultats sont cohérents avec nos résultats obtenus.

D'après ces résultats, nous suggérons que plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antimicrobienne comme : la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la concentration d'extraits et le type de l'extrait.

B. Activité antibactérienne des AgNPs

Le pouvoir antibactérien des AgNPs biosynthétisés à partir l'extrait de *M. vulgare*, varie selon les souches bactériennes testées et les concentrations des AgNPs testées. D'après les résultats représentés dans le tableau VI, nous constatons que la plus grande sensibilité à ces AgNPs est notée chez la souche *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 15mm/11 mm à des concentrations des AgNPs (1 mg/ml, 0,5 mg/ml), respectivement (figure 20 A). Alors que, cette sensibilité est un peu plus faible chez la souche de *L. monocytogenes* avec des zones d'inhibition de 13mm/12mm (figure 20 B), respectivement avec les mêmes concentrations précédentes. Cette sensibilité est également remarquable chez la souche *E. coli* donnant des zones d'inhibition de 15 mm/13,5 mm avec

concentrations des AgNPs (1 mg/ml, 0,5 mg/ml), respectivement (figure 20 C). Tandis qu'une résistance totale est observée chez la souche *P. aeruginosa* (figure 20 D).

Tableau VI : Résultat de l'activité antibactérienne des AgNPs et l'antibiotique gentamicine.

		Zone d'inhibition contre les bactéries			
		Gram positif		Gram négatif	
		<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
La concentration des AgNPs	1mg/ml	15± 1,55mm	13±0,55mm	15±0,44mm	<6mm
	0.5mg/ml	11±0,44mm	12±0,77mm	13±0,55mm	<6mm
Antibiotique gentamicine 15µg		19mm	17mm	20mm	17mm

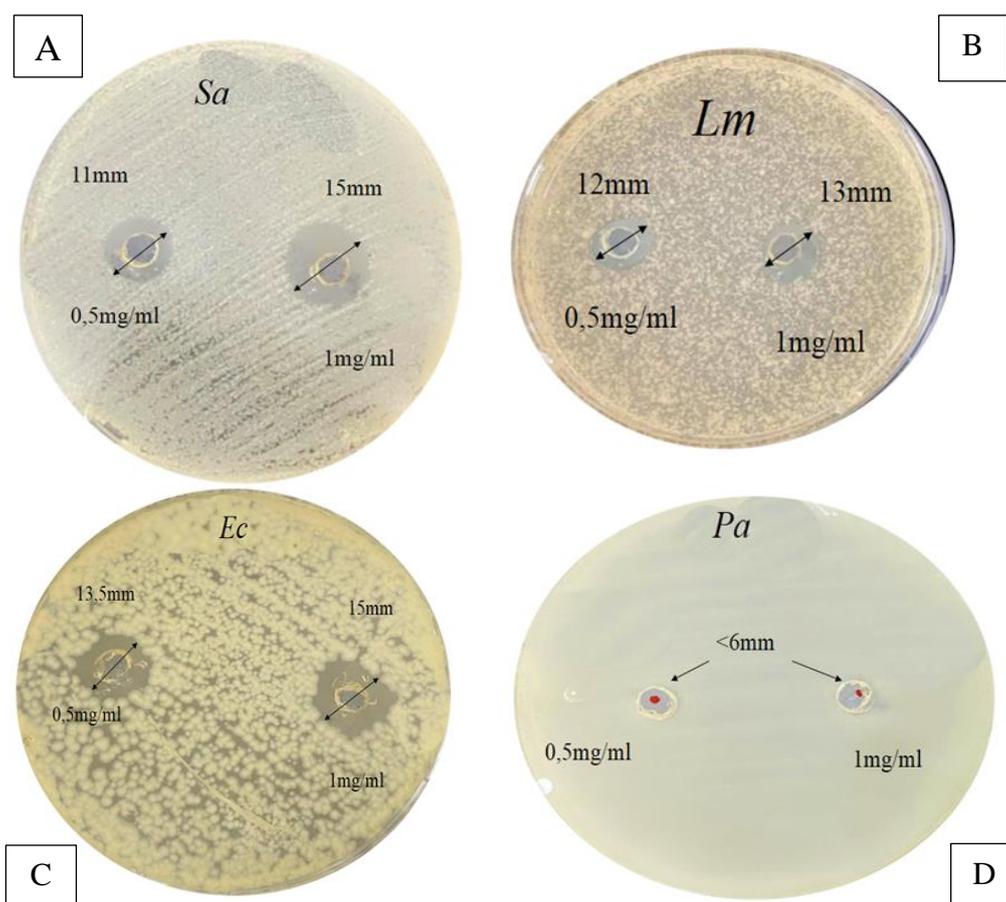


Figure 20 : Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode des puits. L'activité antibactérienne a été effectuée par la méthode de diffusion dans des puits remplis par 30 µl d'AgNPs à différente concentration de 1mg/ml et 0,5mg/ml.

Nous suggérons qu'il y'a probablement une relation proportionnelle entre la zone d'inhibition et la concentration d'AgNPs (plus la concentration d'AgNPs augmente plus le diamètre de la zone d'inhibition augmente).

Nous avons observé la sensibilité des souches bactériennes à Gram positif aux AgNPs testés. Dans le cas des souches bactériennes à Gram négatif, nous avons remarqué la sensibilité de la souche *E. coli* aux AgNPs testé, tandis que la souche *P. aeruginosa* était résistante. Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenu par **Rasheed et al., (2017)**, qui ont rapporté que les nanoparticules d'Argent synthétisées à base d'extrait de feuille d'*Abutilon indicum* ont montré une activité antibactérienne très puissante sur les bactéries à Gram négatif et positif en même temps.

De même, de nombreux travaux sont à la mesure des résultats rapportés d'une bonne activité antibactérienne des nanoparticules vis-à-vis des bactéries Gram-positif (**Ardestani et al., 2016 ; Lee et al., 2019 ; Yousaf et al., 2020**). En revanche, les travaux menés par **Raut et al., (2014)** et **Khalil et al., (2014)**, ont montré que les bactéries à Gram-positif sont plus résistantes aux nanoparticules d'Ag que les bactéries Gram-négatif. Ces résultats ont été expliquer par **Singh et al., (2020)**, les bactéries à Gram-positif sont enfermées dans une épaisse couche de peptidoglycanes et de polysaccharides à chaîne droite qui sont réticulés avec des protéines intégrées, ce qui donne de la rigidité cellulaire et rend difficile la liaison des nanoparticules à la surface cellulaire. D'autre part, certaines études ont suggéré que les bactéries à Gram négatif sont les plus résistantes à l'Ag (**Mukunthan et al., 2011 ; Dehnavi et al., 2013 ; Zhang et al., 2014**).

Des résultats de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'Argent synthétisée à base d'extrait d'écorce de citron à des températures de 60 °C et à 25 °C ont montré que l'effet de cette l'activité est élevé dans le cas où ces nanoparticules sont synthétisées à 60 °C par rapport à 25 °C en raison de leur petite taille. Ce qui suggère que la taille des nanoparticules peut également jouer un rôle primordial dans le mécanisme d'action de ces nanoparticules (**Kaviya et al., 2011**). Certains chercheurs ont supposé que la capacité des nanoparticules d'argent à s'attacher à la paroi cellulaire bactérienne en raison de l'interaction électrostatique entre les ions d'argent chargés positivement et la surface chargée négativement de la membrane cellulaire en raison des groupes carboxyle, phosphate et aminés, donne l'occasion de la pénétrer ultérieurement, provoquant ainsi des changements structurels dans la membrane ensuite, la dissipation de la force motrice des protons (PMF) et donc la destruction de la membrane (**Netala et al., 2015 ; Rashid et al., 2017**).

3.5.2 Activité antifongique

L'activité antifongique de l'extrait de *M. vulgare* et des AgNPs biosynthétisé à partir l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* a été étudiée contre cinq agents pathogènes, à savoir *Aspergillus carbonarius*, *Umbelopsis ramanniana*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus niger* par la méthode de diffusion des puits en milieu PDA semi solide.

A. Activité antifongique de l'extrait de *M. vulgare*

Les résultats présentés dans le tableau VII montrent que l'extrait de *M. vulgare* n'a présenté aucune activité antifongique contre les champignons filamenteux testés (figure 21 B, C, D, E) à l'exception de la souche *U. ramanniana* qui a manifesté une sensibilité pour l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *M. vulgare* donnant un diamètre de zone d'inhibition de 15,5 mm avec une dose de 30 μ l (figure 21 A).

Tableau VI : Résultats des activités antifongiques testés de l'extrait de *M. vulgare*.

Les souches fongiques	Zone d'inhibition contre les champignons
<i>A. flavus</i>	<6mm
<i>A. parasiticus</i>	<6mm
<i>A. carbonarius</i>	<6mm
<i>A. niger</i>	<6mm
<i>U. ramanniana</i>	15 \pm 0,5mm

Radojević et al., 2013 ont testé l'activité antifongique des extraits de : méthanol, d'acétone et d'acétate d'éthyle de la plante entière de *Marrubium peregrinum* contre 7 espèces fongiques *Aspergillus niger*, *Penicillium italicum*, *Trichothecium roseum*, *Botrytis cinerea* ; *Candida albicans*, *Rhodotorula sp* et *Saccharomyces boulardii*. Les meilleurs résultats sont obtenus avec l'extrait méthanolique contre *Aspergillus niger* ATCC 16404 (CMI : 0,625 mg/ml). Alors, nous suggèrent que la faible activité antifongique peut être dû à un problème de diffusion dans des puits ou à cause de la concentration de l'extrait.

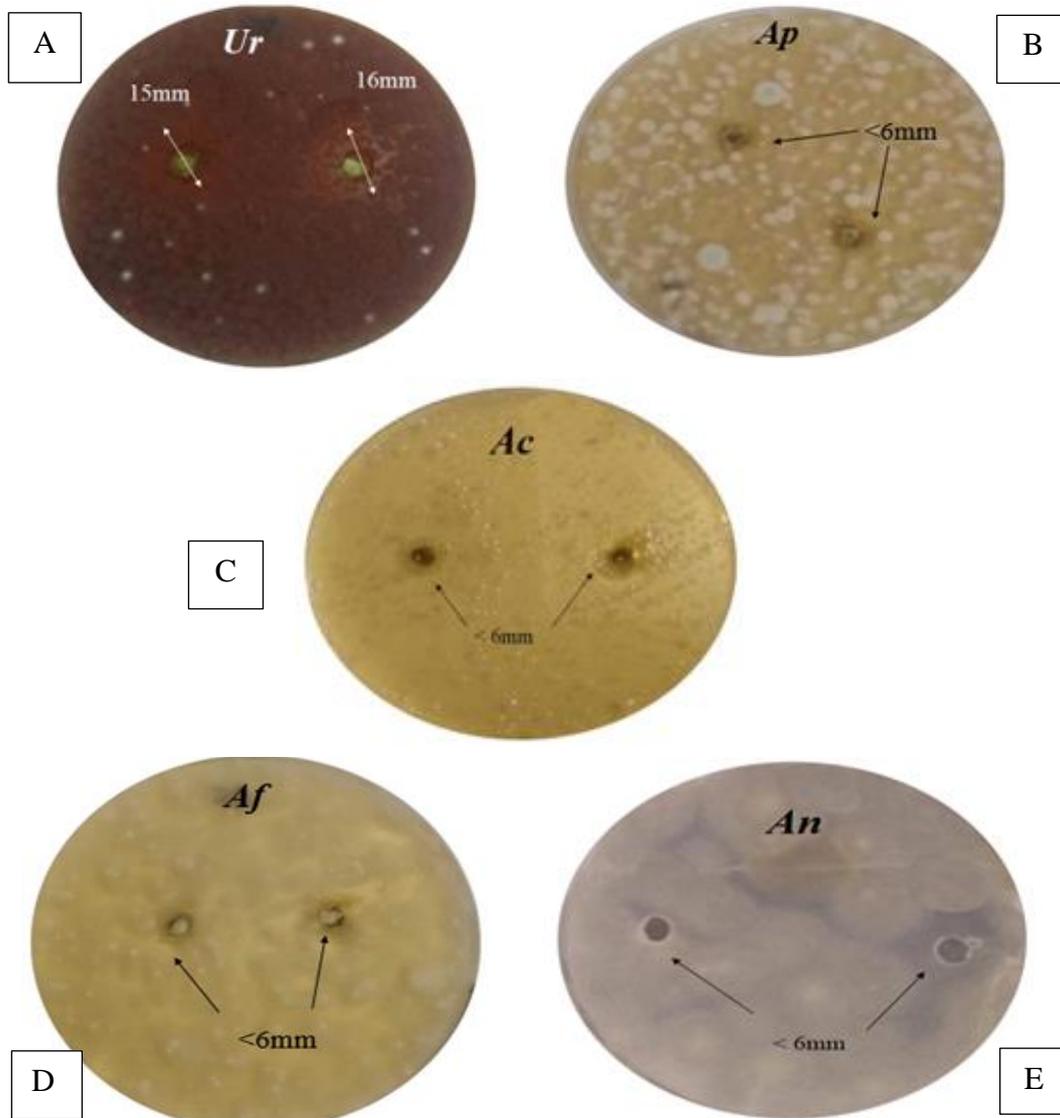


Figure 21: Activité antifongique de l'extrait hydro-éthanolique du *Marrubium vulgare*. L'activité antifongique a été effectuée par la méthode de diffusion dans des puits qui sont remplis avec 30 μ l d'extrait hydro-éthanolique du *Marrubium vulgare*.

B. Activité antifongique des AgNPs

L'évaluation de l'activité antifongique des AgNPs biosynthétisés a montré que la plus grande sensibilité fongique à ces AgNPs a été notée chez la souche *U. ramanniana* avec des zones d'inhibition de 22mm et 15 mm pour des concentrations d'AgNPs de 2mg/ml et 1mg/ml, respectivement (figure 22 A). Nous constatons ainsi que cette sensibilité est moins chez les souches

A. parasiticus. (18mm et 12mm) (figure 22 B), *A. carbonarius* (14mm et 10mm) (figure 22 C) et *A. niger* (14mm et 8mm) (figure 22 E) pour des concentrations d'AgNPs de 2mg/ml et 1mg/ml, respectivement. Ainsi, la valeur la plus faible a été enregistrée contre *A. flavus* avec des zones d'inhibition de diamètre de 10mm et 7mm (figure 22 D). Pour les mêmes concentrations précédentes respectivement. Ces résultats sont exprimés dans le tableau (VIII).

Tableau VII: Résultat de l'activité antifongique des AgNPs biosynthétisé.

Les souches fongiques	Zone d'inhibition contre les champignons	
	La concentration des AgNPs	
	2mg/ml	1mg/ml
<i>A. flavus</i>	10 ±1mm	7±0,5mm
<i>A. parasiticus</i>	18± 1,77mm	12 ±0,44mm
<i>A. carbonarius</i>	14 ± 2mm	10± 2mm
<i>A. niger</i>	14 ±1,22mm	8 ±0,55mm
<i>U. ramanniana</i>	22 ±2,66mm	15± 1,33mm

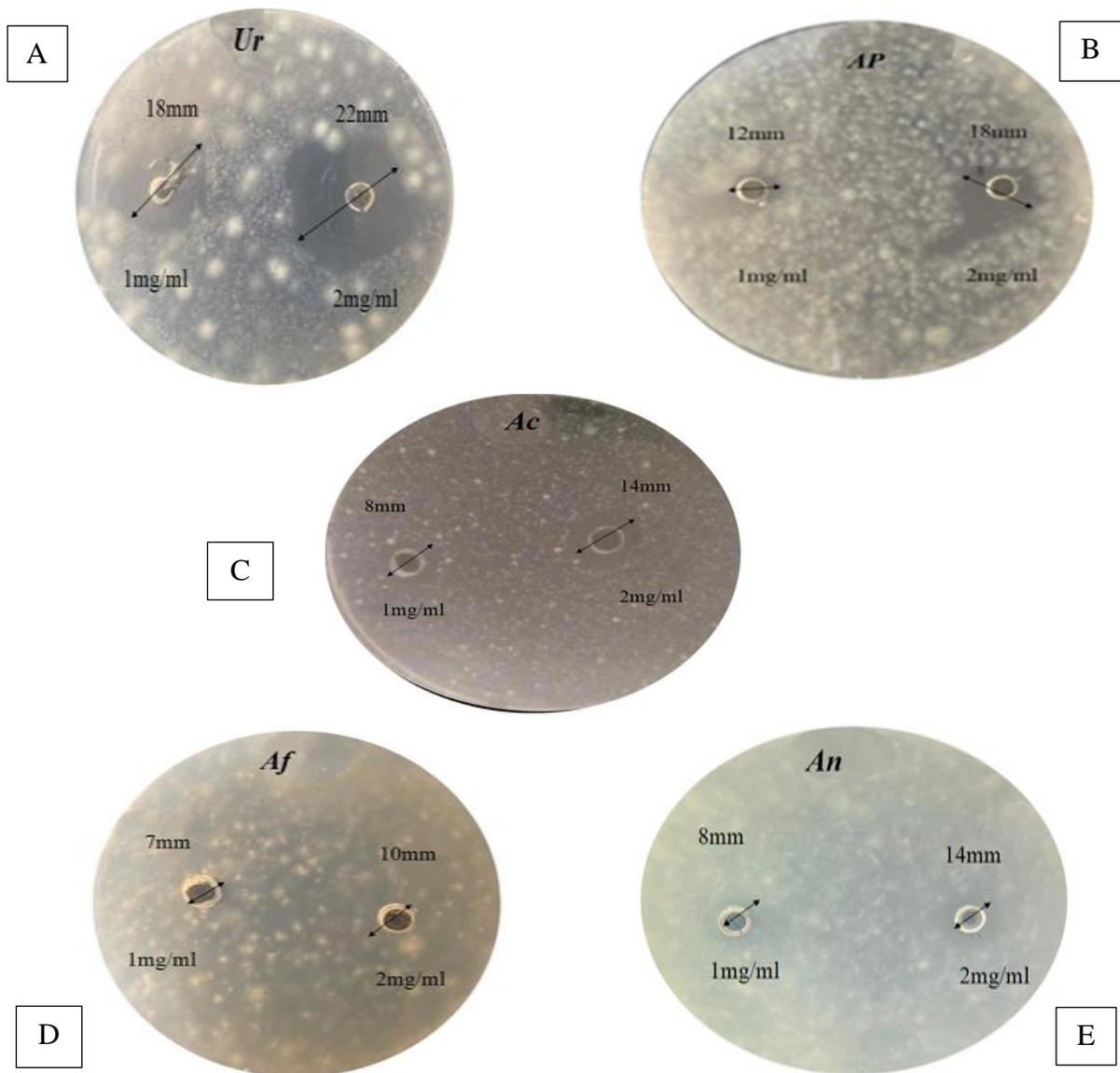


Figure 22: Activité antifongique des AgNPs. L'activité antifongique a été effectuée par la méthode de diffusion dans des puits qui sont remplis avec 30 μ l d'AgNPs à différentes concentrations de 2mg/ml et 1mg/ml respectivement.

Les recherches sur l'activité antifongique utilisant des nanoparticules biogéniques suscitent énormément d'intérêt. La synthèse de nanoparticules à partir d'extraits de plantes est l'une des méthodes les plus potentielles et les plus respectueuses de l'environnement pour étendre les applications antifongiques dans les domaines médicaux et agricoles. Par conséquent, dans plusieurs

études antérieures les AgNPs ont montré une puissante activité antifongique contre des souches de champignons (**Bhimba et al., 2014 ; Nguyen et al., 2022**)

Les résultats obtenus dans notre étude concordent avec ceux obtenus par l'étude réalisée par **Qasim Nassar et al., (2019)**, qui ont rapporté que les AgNPs synthétisées par la plante *Serriphidium quettense* présentent des zones d'inhibition de 13,2 mm contre *A. niger* et de 10 mm contre *A. flavus*. **Vijayan et al., (2018)** ont également synthétisé des nanoparticules d'Ag à partir d'extrait de feuille de *Synedrella nodiflora*. L'évaluation de l'activité antifongique de ce travail a montré des zones d'inhibition de diamètre de 12,9 mm vis-à-vis *Aspergillus spp* et 10,9 mm avec *Penicillium spp*.

D'après l'étude de **kumar et al., (2013)**, les AgNPs synthétisées à base d'extrait des algues (*Gracilaria corticata*) ont montré une activité antifongique puissante vis-à-vis *Candida albicans*, *Candida glabrata* avec des zones de (12mm), (11 mm) respectivement. Les études précédentes montrent que les AgNPs portent une activité antifongique contre diverses souches ce qui confirme nos résultats.

Le mécanisme de l'effet fongicide des AgNPs n'est pas très connu (**Yousefzadi et al., 2014**), en raison de la complexité de processus antifongique. (**Jebril et al., 2020**). Cependant, selon **Sun et al., (2018)**, les nanoparticules métalliques sont capables d'inhiber les enzymes productrices de glutathion (GHS) ; une enzyme qui joue un rôle antioxydant ; ce qui réduit la résistance des champignons. En général, les nanoparticules métalliques (principalement Au, Ag et Zn) biosynthétisées à partir d'extraits de plantes acquièrent un grand potentiel d'inhibition d'un large éventail d'espèces fongiques. Cette découverte est attribuable à la présence d'importante quantité de composés phénoliques et flavonoïdes trouvés dans les extraits végétaux.

Nguyen et al., (2022) montrent que l'activité antifongique des nanoparticules métalliques dépend non seulement de la taille et la concentration des particules mais également des composés bioactifs présents dans les extraits végétaux lors de la biosynthèse. On pourrait suggérer que plus la concentration de nanoparticules d'Ag est élevée, l'activité antifongique est meilleure.

Conclusion

Pour pallier les insuffisances des méthodes chimiques, les méthodes biologiques se sont imposées comme viables options. Les chercheurs s'intéressent de plus en plus à la synthèse des nouvelles nanoparticules métalliques.

Ce mémoire avait pour ambition de synthétiser des nanoparticules d'Argent en utilisant l'extrait de la plante *Marrubium vulgare* qui est très riches en métabolites secondaires, et représente une source précieuse de composés bioactifs et de préparation ayant des effets bénéfiques pour la santé : antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait hydro-éthanolique de la plante *Marrubium vulgare* a montré que l'extrait était riche en composés phénoliques ce qui nous laisse suggérer qu'il peut jouer le rôle d'un bon agent réducteur dans la synthèse des nanoparticules métalliques.

Dans ce travail, nous rapportons une méthode simple pour la formation des nanoparticules d'Argent par une voie verte qui est apparue comme un front important dans les nanotechnologies, présente de multiples aspects positifs : respect de l'environnement, biocompatibilité et rentabilité ainsi de réduire le risque de contamination par les différents produits chimiques utilisés lors des méthodes chimiques et physiques. Le virage de couleur de la solution contenant AgNO_3 et l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* (agent réducteur) du jaune vers le brun foncé confirme la formation d'AgNPs.

D'autre coté, les nanoparticules synthétisées ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries à gram positif y compris *Staphylococcus aureus* (15mm/11mm), *Listeria monocytogenes* (13mm/12mm) et les bactéries à gram négatif y compris *Escherichia coli* (15 mm/13,5mm), *Pseudomonas aeruginosa* (<6mm) à des concentrations (1 mg/ml ; 0,5 mg/ml) d'AgNPs respectivement et une activité antifongique contre cinq souche de champignon *Aspergillus carbonarius* (14mm/10mm), *Umbelopsis Ramanniana* (22 mm/15mm), *Aspergillus Flavus* (10mm/7mm) , *Aspergillus Parasiticus* (18mm/12mm) et *Aspergillus Niger* (14mm/8mm) avec une concentration (1 mg/ml ; 2 mg/ml) d'AgNPs respectivement. Pour cela, les AgNPs pourraient être une bonne alternative à développer comme agent antibactérien contre les souches de bactéries

multirésistantes. De plus, les applications des AgNPs peuvent conduire à des découvertes précieuses dans divers domaines.

Comme perspectives nous proposons ce qui suit :

- ✓ Tester les activités antioxydante et anti-inflammatoire des nanoparticules d'Argent.
- ✓ Tester l'effet d'AgNPs sur d'autres souches microbiennes multirésistance.
- ✓ Caractériser la forme et la composition et la cristallinité de nanoparticules par l'utilisation de l'analyse de diffraction des rayons X (XRD).

Références bibliographiques

A

Abou El-Nour, K. M., Eftaiha, A. A., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry*, 3(3), 135-140.

Aćimović, M., Jeremić, K., Salaj, N., Gavarić, N., Kiproviski, B., Sikora, V., & Zeremski, T. (2020). *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules*, 25(12), 2898.

Ahamed, M., AlSalhi, M. S., & Siddiqui, M. K. J. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica chimica acta*, 411(23-24), 1841-1848.

Ahmad, Z., Pandey, R., Sharma, S., & Khuller, G. K. (2006). Alginate nanoparticles as antituberculosis drug carriers: formulation development, pharmacokinetics and therapeutic potential. *Indian journal of chest diseases and allied sciences*, 48(3), 171.

Airoidi, C., La Ferla, B., D'Orazio, G., Ciaramelli, C., & Palmioli, A. (2018). Flavonoids in the treatment of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Current medicinal chemistry*, 25(27), 3228-3246.

Albrecht, M. A., Evans, C. W., & Raston, C. L. (2006). Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green chemistry*, 8(5), 417-432.

Al-Warthan, A., Kholoud, M. M., El-Nour, A., Eftaiha, A., & Ammar, R. A. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian J Chem*, 3, 135-140.

Amendola, V., & Meneghetti, M. (2009). Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical chemistry chemical physics*, 11(20), 3805-3821.

Anandalakshmi, K., Venugobal, J., & Ramasamy, V. (2016). Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Petalium murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Applied nanoscience*, 6(3), 399-408.

Ardestani MS, Sadat Shandiz SA, Salehi S et al (2016) Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Artemisia marschalliana* Sprengel aerial part extract and assessment of their antioxidant, anticancer, and antibacterial properties. *Int J Nanomedicine* 11:1835.

B

Baredar, P. V., Tangellapalli, S., & Solanki, C. S. (Eds.). (2021). *Advances in Clean Energy Technologies: Select Proceedings of ICET 2020*. Springer Nature.

- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
- Benakashani, F., Allafchian, A. R., & Jalali, S. A. H. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Capparis spinosa* L. leaf extract and their antibacterial activity. *Karbala International Journal of Modern Science*, 2(4), 251-258.
- Bendif, H. H. (2021). Phytochemical constituents of Lamiaceae family. *Rhazes: Green and Applied Chemistry*, 11, 71-88.
- Berry, C. C., & Curtis, A. S. (2003). Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36(13), R198.
- Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable materials and technologies*, 13, 18-23.
- Bharathi, D., Preethi, S., Abarna, K., Nithyasri, M., Kishore, P., & Deepika, K. (2020). Bio-inspired synthesis of flower shaped iron oxide nanoparticles (FeONPs) using phytochemicals of *Solanum lycopersicum* leaf extract for biomedical applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101698.
- Bhimba, J. S. D. B. V. (2014). Antibacterial and antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using *Hypnea muciformis*. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 11, 235-238.
- Boczkowski, J., & Lanone, S. (2010). Nanoparticules : une prévention est-elle possible ? *Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 214-216.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Boudjerda, L., Boulkrara, N., & Cherbal, A. E. (2010). *Marrubium vulgare*: composition chimique et effets pharmacologiques. université de jijel.
- Bosetti, M., Massè, A., Tobin, E., & Cannas, M. (2002). Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity. *Biomaterials*, 23(3), 887-892.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., Hazem, Z., & Bouredja, N. (2013). Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire*, 8(31).

Buzea, C., & Pacheco, I. (2017). Nanomaterial and nanoparticle: origin and activity. In *Nanoscience and Plant–Soil Systems* (pp. 71-112). Springer, Cham.

C

Castranova, V. (2011). Overview of current toxicological knowledge of engineered nanoparticles. *Journal of occupational and environmental medicine*, 53, S14-S17.

Chandran, S. P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., & Sastry, M. (2006). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract. *Biotechnology progress*, 22(2), 577-583.

Christoforidis, J. B., Chang, S., Jiang, A., Wang, J., & Cebulla, C. M. (2012). Systemic treatment of vitreous inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2012.

Cho, M., Chung, H., Choi, W., & Yoon, J. (2005). Different inactivation behaviors of MS-2 phage and *Escherichia coli* in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Applied and environmental microbiology*, 71(1), 270-275.

Chuto, G., & Chaumet-Riffaud, P. (2010). Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire*, 34(6), 370-376.

D

Dallas, P., Sharma, V. K., & Zboril, R. (2011). Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Advances in colloid and interface science*, 166(1-2), 119-135.

De, M., Ghosh, P. S., & Rotello, V. M. (2008). Applications of nanoparticles in biology. *Advanced Materials*, 20(22), 4225-4241.

Deepika, S., Kumar, R. H., Selvaraj, C. I., & Roopan, S. M. (2018). Toxicity of metal/metal oxide nanoparticles and their future prospects. *The Macabresque: Human Violation and Hate in Genocide, Mass Atrocity and Enemy-Making*, 141-164.

Dehnavi AS, Raisi A, Aroujalian A (2013) Control size and stability of colloidal silver nanoparticles with antibacterial activity prepared by a green synthesis method. *Synth React Inorganic Met Nano-Metal Chem* 43:543–551.

Dendougui, H., Seghir, S., Belloum, Z., Benayache, F., Leon, F., Brouard, I., Benayache, S. (2011). A new labdane diterpene and other constituents from *Marrubium deserti* Noe ex coss. *Records of Natural Products*, 5(4), 300.

Dib, K., Cherrah, Y., Rida, S., Filali-Maltouf, A., & Ennibi, O. (2021). In vitro antibacterial activity of *Myrtus communis* L. and *Marrubium vulgare* L. leaves against *Aggregatibacter*

actinomycetemcomitans and Eikenella corrodens. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021.

Djahra, B. 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, anti hépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L.

E

Ealia, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017, November). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In IOP conference series: materials science and engineering (Vol. 263, No. 3, p. 032019). IOP Publishing. ISO 690

Edison, T. N. J. I., Lee, Y. R., & Sethuraman, M. G. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia cuneata and its catalytic action in reduction of direct yellow-12 dye. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 161, 122-129.

Elahi, N., Kamali, M., & Baghersad, M. H. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. Talanta, 184, 537-556.

Elsupikhe, R. F., Shameli, K., Ahmad, M. B., Ibrahim, N. A., & Zainudin, N. (2015). Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ -carrageenan. Nanoscale research letters, 10(1), 1-8.

F

Firdhouse, M. J., & Lalitha, P. (2015). Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications. Journal of Nanotechnology, 2015.

Foldbjerg, R., Dang, D. A., & Autrup, H. (2011). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. Archives of toxicology, 85(7), 743-750.

G

Gaikwad, V. L., Choudhari, P. B., Bhatia, N. M., & Bhatia, M. S. (2019). Characterization of pharmaceutical nanocarriers: in vitro and in vivo studies. In Nanomaterials for drug delivery and therapy (pp. 33-58). William Andrew Publishing.

García-Barrasa, J., López-de-Luzuriaga, J. M., & Monge, M. (2011). Silver nanoparticles: synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications. Central European

Gardea-Torresdey, J.L., Gomez, E., Peralta-Videa, J.R., Parsons, J.G., Troiani, H., Jose-Yacaman, M., (2003). Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. Langmuir 19, 13571361.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., & Bousselsela, H. (2014a). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2), 64-74.

Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014b). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

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

Ghosh Chaudhuri, R., & Paria, S. (2012). Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chemical reviews*, 112(4), 2373-2433.

Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., ... & Yang, X. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28), 285604.

Gruenwald J. BT, Jaenicke Ch., *PDR for Herbal Medicines*. Forth edition. ed. 2000: Medical Economics Company. pp: 401.

Gu, H., Ho, P.L., Tong, E., Wang, L., Xu, B., (2003). Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities. *Nano Lett.* 3 (9), 1261–1263.

Gupta, A., & Silver, S. (1998). Molecular genetics: silver as a biocide: will resistance become a problem?. *Nature biotechnology*, 16(10), 888-888.

Gurunathan, S., Lee, K. J., Kalishwaralal, K., Sheikpranbabu, S., Vaidyanathan, R., & Eom, S. H. (2009). Antiangiogenic properties of silver nanoparticles. *Biomaterials*, 30(31), 6341-6350.

H

Hirlekar, R., Yamagar, M., Garse, H., Vij, M., & Kadam, V. (2009). Carbon nanotubes and its applications : a review. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 2(4), 17-27.

Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale research letters*, 9(1), 1-24.

Hussein, J., El-Naggar, M. E., Latif, Y. A., Medhat, D., El Bana, M., Refaat, E., & Morsy, S. (2018). Solvent-free and one-pot synthesis of silver and zinc oxide nanoparticles: activity toward cell membrane component and insulin signaling pathway in experimental diabetes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170, 76-84.

I

Ibrahim, E., Zhang, M., Zhang, Y., Hossain, A., Qiu, W., Chen, Y., ... & Li, B. (2020). Green-synthesization of silver nanoparticles using endophytic bacteria isolated from garlic and its antifungal activity against wheat Fusarium head blight pathogen *Fusarium graminearum*. *Nanomaterials*, 10(2), 219.

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9(6), 385.

J

Jain, P., & Pradeep, T. (2005). Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and bioengineering*, 90(1), 59-63.

Jebril, S., Jenana, R. K. B., & Dridi, C. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Melia azedarach* leaf extract and their antifungal activities: In vitro and in vivo. *Materials Chemistry and Physics*, 248, 122898.

Joerger, R., Klaus, T., & Granqvist, C. G. (2000). Biologically produced silver-carbon composite materials for optically functional thin-film coatings. *Advanced Materials*, 12(6), 407-409.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. & Stevens, P. (2002). *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*, De Boeck Supérieur.

Ju-Nam, Y., & Lead, J. R. (2008). Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of the total environment*, 400(1-3), 396-414.

Jyoti, K., Baunthiyal, M., & Singh, A. (2016). Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. Leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(3), 217-227.

K

Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.

Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., & Srinivasan, K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(3), 594-598.

Kawata, K., Osawa, M., & Okabe, S. (2009). In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. *Environmental science & technology*, 43(15), 6046-6051.

Khalil MMH, Ismail EH, El-Baghdady KZ, Mohamed D (2014) Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arab J Chem* 7:1131–1139.

Khan, S. T., & Malik, A. (2019). Engineered nanomaterials for water decontamination and purification: From lab to products. *Journal of hazardous materials*, 363, 295-308.

Khan, F., Shariq, M., Asif, M., Siddiqui, M. A., Malan, P., & Ahmad, F. (2022). Green Nanotechnology: Plant-Mediated Nanoparticle Synthesis and Application. *Nanomaterials*, 12(4), 673.

Khezerlou, A., Alizadeh-Sani, M., Azizi-Lalabadi, M., & Ehsani, A. (2018). Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microbial pathogenesis*, 123, 505-526.

Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K. H., Park, K., Yi, J., & Ryu, D. Y. (2009). Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology in vitro*, 23(6), 1076-1084.

Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins—more than nature's colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 239.

Krutyakov, Y. A., Kudrinskiy, A. A., Olenin, A. Y., & Lisichkin, G. V. (2008). Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. *Russian Chemical Reviews*, 77(3), 233.

Kumar, H., Bhardwaj, K., Kuča, K., Kalia, A., Nepovimova, E., Verma, R., & Kumar, D. (2020). Flower-based green synthesis of metallic nanoparticles: Applications beyond fragrance. *Nanomaterials*, 10(4), 766.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S., & Govindaraju, M. (2013). Seaweed-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Gracilaria corticata* for its antifungal activity against *Candida* spp. *Applied Nanoscience*, 3(6), 495-500.

Kumar, R., Ghoshal, G., Jain, A., & Goyal, M. (2017). Rapid green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using (*Prunus persica*) plants extract: exploring its antimicrobial and catalytic activities. *J. Nanomed. Nanotechnol*, 8(4), 1-8.

L

Lee, H. J., Yeo, S. Y., & Jeong, S. H. (2003). Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. *Journal of Materials Science*, 38(10), 2199-2204.

Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 865.

Lee, Y. J., Song, K., Cha, S. H., Cho, S., Kim, Y. S., & Park, Y. (2019). Sesquiterpenoids from *Tussilago farfara* flower bud extract for the eco-friendly synthesis of silver and gold nanoparticles possessing antibacterial and anticancer activities. *Nanomaterials*, 9(6), 819.

Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., & Alvarez, P. J. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water research*, 42(18), 4591-4602.

Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(3), 311-317.

Long, N. V., Yang, Y., Teranishi, T., Thi, C. M., Cao, Y., & Nogami, M. (2015). Biomedical applications of advanced multifunctional magnetic nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(12), 10091-10107.

M

Masoodi, M., Ali, Z., Liang, S., Yin, H., Wang, W., & Khan, I. A. (2015). Labdane diterpenoids from *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry Letters*, 13, 275-279.

Meyre-Silva, C., & Cechinel-Filho, V. (2010). A review of the chemical and pharmacological aspects of the genus *marrubium*. *Current pharmaceutical design*, 16(31), 3503-3518.

Meyre-Silva, C. R. A. Y., Yunes, R. A., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F., & Cechinel-Filho, V. (2005). Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *Il Farmaco*, 60(4), 321-326.

Moreno-Vega, A. I., Gomez-Quintero, T., Nunez-Anita, R. E., Acosta-Torres, L. S., & Castaño, V. (2012). Polymeric and ceramic nanoparticles in biomedical applications. *Journal of Nanotechnology*, 2012.

Mukunthan K, Elumalai E, Patel TN, Murty VR (2011) *Catharanthus roseus*: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Asian Pac J Trop Biomed* 1:270–274.

N

Nadworny, P. L., Wang, J., Tredget, E. E., & Burrell, R. E. (2008). Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 4(3), 241-251.

Nam, G., Purushothaman, B., Rangasamy, S., & Song, J. M. (2016). Investigating the versatility of multifunctional silver nanoparticles: preparation and inspection of their potential as wound treatment agents. *International Nano Letters*, 6(1), 51-63.

Nasrollahzadeh, M. (2014). Green synthesis and catalytic properties of palladium nanoparticles for the direct reductive amination of aldehydes and hydrogenation of unsaturated ketones. *New Journal of Chemistry*, 38(11), 5544-5550.

Nguyen, N. T. T., Nguyen, L. M., Nguyen, T. T. T., Nguyen, T. T., Nguyen, D. T. C., & Tran, T. V. (2022). Formation, antimicrobial activity, and biomedical performance of plant-based nanoparticles: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-41.

Netala, V. R., Kotakadi, V. S., Nagam, V., Bobbu, P., Ghosh, S. B., & Tartte, V. (2015). First report of biomimetic synthesis of silver nanoparticles using aqueous callus extract of *Centella asiatica* and their antimicrobial activity. *Applied Nanoscience*, 5(7), 801-807.

Niraimathi KL, Sudha V, Lavanya R, Brindha P (2013) Biointerfaces Biosynthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera sessilis* (Linn.) extract and their antimicrobial, antioxidant activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 102: 288-291.

Noreen, H., Semmar, N., Farman, M., & McCullagh, J. S. (2017). Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 10(8), 792-801.

Nowack, B., Krug, H. F., & Height, M. (2011). 120 years of nanosilver history: implications for policy makers.

P

Pan, K., & Zhong, Q. (2016). Organic nanoparticles in foods: fabrication, characterization, and utilization. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, 7(1), 245-266.

Panáček, A., Kolář, M., Večeřová, R., Pucek, R., Soukupová, J., Kryštof, V., Kvítek, L. (2009). Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*, 30(31), 6333-6340.

Panigrahi T (2013) Synthesis and characterization of silver nanoparticles using leaf extract of *Azadirachta indica*. Dep Life Sci Natl Inst Technol Rourkela (Doctoral dissertation).

Parupudi, A., Mulagapati, S. H. R., & Subramony, J. A. (2022). Nanoparticle technologies: Recent state of the art and emerging opportunities. *Nanoparticle Therapeutics*, 3-46.

Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016, April). Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. In AIP conference proceedings (Vol. 1724, No. 1, p. 020048). AIP Publishing LLC.

Patra, J. K., & Baek, K. H. (2014). Green nanobiotechnology: factors affecting synthesis and characterization techniques. *Journal of Nanomaterials*, 2014.

Prabhu, S., & Poulose, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International nano letters*, 2(1), 1-10.

Q

Qasim Nasar M, Zohra T, Khalil AT et al (2019) Seripheidium quettense mediated green synthesis of biogenic silver nanoparticles and their theranostic applications. *Green Chem Lett Rev* 12:310–322.

R

Radojević I, Stanković M, Stefanović O, Čomić L, Topuzović M, Vasić S and Nikolić M. Exploring antimicrobial activity of Horehound, *Marrubium peregrinum* L extracts. *Kragujevac J Sci* 2013; 35:99-106.

Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles—a review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-biological interactions*, 273, 219-227.

Ramirez-Medina, I., Bashir, S., Luo, Z., & Liu, J. L. (2009). Green synthesis and characterization of polymer-stabilized silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 185-191.

Rao, Y. S., Kotakadi, V. S., Prasad, T. N. V. K. V., Reddy, A. V., & Gopal, D. S. (2013). Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 103, 156-159.

Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M., & Li, C. (2017). Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158, 408-415.

Rashid, M., Or, M., Akhter, K. N., Chowdhury, J. A., Hossen, F., Hussain, M., & Hossain, M. (2017). Characterization of phytoconstituents and evaluation of antimicrobial activity of silver-extract nanoparticles synthesized from *Momordica charantia* fruit extract. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-7.

Ratan, Z. A., Haidere, M. F., Nurunnabi, M., Shahriar, S. M., Ahammad, A. J., Shim, Y. Y., ... & Cho, J. Y. (2020). Green chemistry synthesis of silver nanoparticles and their potential anticancer effects. *Cancers*, 12(4), 855.

Raut RW, Mendhulkar VD, Kashid SB (2014) Photosensitized synthesis of silver nanoparticles using *Withania somnifera* leaf powder and silver nitrate. *J Photochem Photobiol B Biol* 132:45–55.

Reddy, D. Nagoor Vali, M. Rani, S. Sudha Rani, Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *Piper longum* fruit Mater. Sci. Eng. C 34 (2014) 115-122.

Retchkiman-Schabes, P.S., Canizal, G., Becerra-Herrera, R., Zorrilla, C., Liu, H.B., Ascencio, J.A., (2006). Biosynthesis and characterization of Ti/Ni bimetallic nanoparticles. *Opt. Mater.* 29, 95–99.

Rigano, D., Arnold, N. A., Bruno, M., Formisano, C., Grassia, A., Piacente, S., Senatore, F. (2006). Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(3), 256-258.

Rogach, A. L. (2000). Nanocrystalline CdTe and CdTe (S) particles: wet chemical preparation, size-dependent optical properties and perspectives of optoelectronic applications. *Materials Science and Engineering: B*, 69, 435-440.

Rogers, J. V., Parkinson, C. V., Choi, Y. W., Speshock, J. L., & Hussain, S. M. (2008). A preliminary assessment of silver nanoparticle inhibition of monkeypox virus plaque formation. *Nanoscale Research Letters*, 3(4), 129-133.

Rubilar, O., Rai, M., Tortella, G., Diez, M. C., Seabra, A. B., & Durán, N. (2013). Biogenic nanoparticles: copper, copper oxides, copper sulphides, complex copper nanostructures and their applications. *Biotechnology Letters*, 35(9), 1365-1375.

S

Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M., & Bailleul, F. (2002). Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of ethnopharmacology*, 79(3), 389-392.

Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. (2020). The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: A mechanism of action. *Nanomaterials*, 101566.

Schrand, A. M., Rahman, M. F., Hussain, S. M., Schlager, J. J., Smith, D. A., & Syed, A. F. (2010). Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *Wiley interdisciplinary reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(5), 544-568.

Shameli, K., Ahmad, M. B., Yunus, W. M. Z. W., Ibrahim, N. A., Gharayebi, Y., & Sedaghat, S. (2010). Synthesis of silver/montmorillonite nanocomposites using γ -irradiation. *International journal of nanomedicine*, 5, 1067.

Shankar, S. S., Ahmad, A., Pasricha, R., & Sastry, M. (2003a). Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. *Journal of Materials Chemistry*, 13(7), 1822-1826.

Shankar, S. S., Ahmad, A., & Sastry, M. (2003b). Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology progress*, 19(6), 1627-1631.

Shankar, S. S., Rai, A., Ankamwar, B., Singh, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nature materials*, 3(7), 482-488. Shankar, S. S., Rai, A., Ankamwar, B., Singh, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nature materials*, 3(7), 482-488

Singh A, Gautam PK, Verma A et al (2020) Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resist- ant bacterial infections: a review. *Biotechnol Reports* 25:e00427.

Sun Q, Li J, Le T (2018) Zinc Oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives. *J Agric Food Chem* 66:11209–11220.

Souza, T. G., Ciminelli, V. S., & Mohallem, N. D. S. (2016, July). A comparison of TEM and DLS methods to characterize size distribution of ceramic nanoparticles. In *Journal of physics: conference series* (Vol. 733, No. 1, p. 012039). IOP Publishing.

T

Thota, S., & Crans, D. C. (Eds.). (2018). *Metal nanoparticles: synthesis and applications in pharmaceutical sciences*. John Wiley & Sons.

Tran, Q. H., & Le, A. T. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 4(3), 033001.

V

Veerasamy, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C., Jeyakumar, N., & Dhanaraj, S. A. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 113-120.

Vijayan R, Joseph S, Mathew B (2018) Eco-friendly synthesis of silver and gold nanoparticles with enhanced antimicrobial, antioxidant, and catalytic activities. *IET Nanobiotechnol* 12:850–856.

W

Wang, J., Liu, R., & Liu, B. (2016). Cadmium-containing quantum dots: current perspectives on their application as nanomedicine and toxicity concerns. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 16(11), 905-916.

Wang, T. Y., Li, Q., & Bi, K. S. (2018a). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 13(1), 12-23.

Wang, L., Yao, J., Zhang, X., Zhang, Y., Xu, C., Lee, R. J., ... & Teng, L. (2018b). Delivery of paclitaxel using nanoparticles composed of poly (ethylene oxide)-b-poly (butylene oxide)(PEO-PBO). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 161, 464-470.

Wiley, B. J., Im, S. H., Li, Z. Y., McLellan, J., Siekkinen, A., & Xia, Y. (2006). Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(32), 15666-15675.

Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Éditions Tec. & Doc. EM Inter, 2e Édition, 788p.

X

Xia, Q. H., Ma, Y. J., & Wang, J. W. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Taxus yunnanensis* callus and their antibacterial activity and cytotoxicity in human cancer cells. *Nanomaterials*, 6(9), 160.

Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996

Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6(2), 112-115.

Y

Yogeswari, R., Sikha, B., & Akshya, K. O. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulashi) and study of their antibacterial and antifungal activities. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 4(6), 103-109.

Yousaf, H., Mehmood, A., Ahmad, K. S., & Raffi, M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agent. *Materials Science and Engineering: C*, 112, 110901.

Yousefzadi, M., Rahimi, Z., & Ghafari, V. (2014). The green synthesis, characterization and antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from green alga *Enteromorpha flexuosa* (wulfen) J. Agardh. *Materials Letters*, 137, 1-4.

Z

Zaabat, N., Darbour, N., Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordhem, A., Chelr-Gheddra, L., ... & Dijoux-Franca, M. G. (2010). Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. *Phytothérapie*, 8(6), 353-358.

Zhang, L., Wu, L., Si, Y., & Shu, K. (2018). Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles to *Azotobacter vinelandii*: Growth inhibition, cell injury, oxidative stress and internalization. *PloS one*, 13(12), e0209020.

Zhang M, Zhang K, De Gusseme B et al (2014) The antibacterial and anti-biofouling performance of biogenic silver nanoparticles by *Lactobacillus fermentum*. *Biofouling* 30:347–357.

Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.

Site web:

<https://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-inventaire.php?char=M>

Annexes

Annexe N°1

Matériels non-biologique

1) Partie biochimique

Appareils	Réactifs
Spectrophotomètre	Nitrate d'argent
Plaque chauffante	Extrait de Malte
Balance de précision	Extrait de levure
Étuve	Glucose
Centrifugeuse	Agar
Agitateur magnétique	Acide gallique
pH mètre	Carbonate de sodium
Broyeur	Quercétine
	Folin- Ciocalteu
	Trichlorure d'Aluminium (AlCl ₃)

2) Partie microbienne

Appareils	Outils
- Bec Bunsen	- Micropipette réglable
- Vortex	- Écouvillon
- Autoclave	- Pipette pasteur
- Bain marie	- Anse de platine
	- Boite de pétri

Annexe N°2

Composition de milieu ISP2	Composition de milieu PDA
<ul style="list-style-type: none">- 4g extrait de levure- 4g de glucose- 10g extrait de malte- 20g d'agar- Compléter avec 1l de l'eau de robinet	<ul style="list-style-type: none">- 20g de glucose- 12g d'agar- L'eau bouillante de 200g de pomme de terre- Compléter avec 1l de l'eau de robinet

