



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

Mémoire

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

Option

Biotechnologie et Pathologies Moléculaires

Thème

**Biosynthèse de nanoparticules à base d'extrait de plantes et la
caractérisation de leurs activités biologiques**

Présenté par :

Larbi Chaimaa

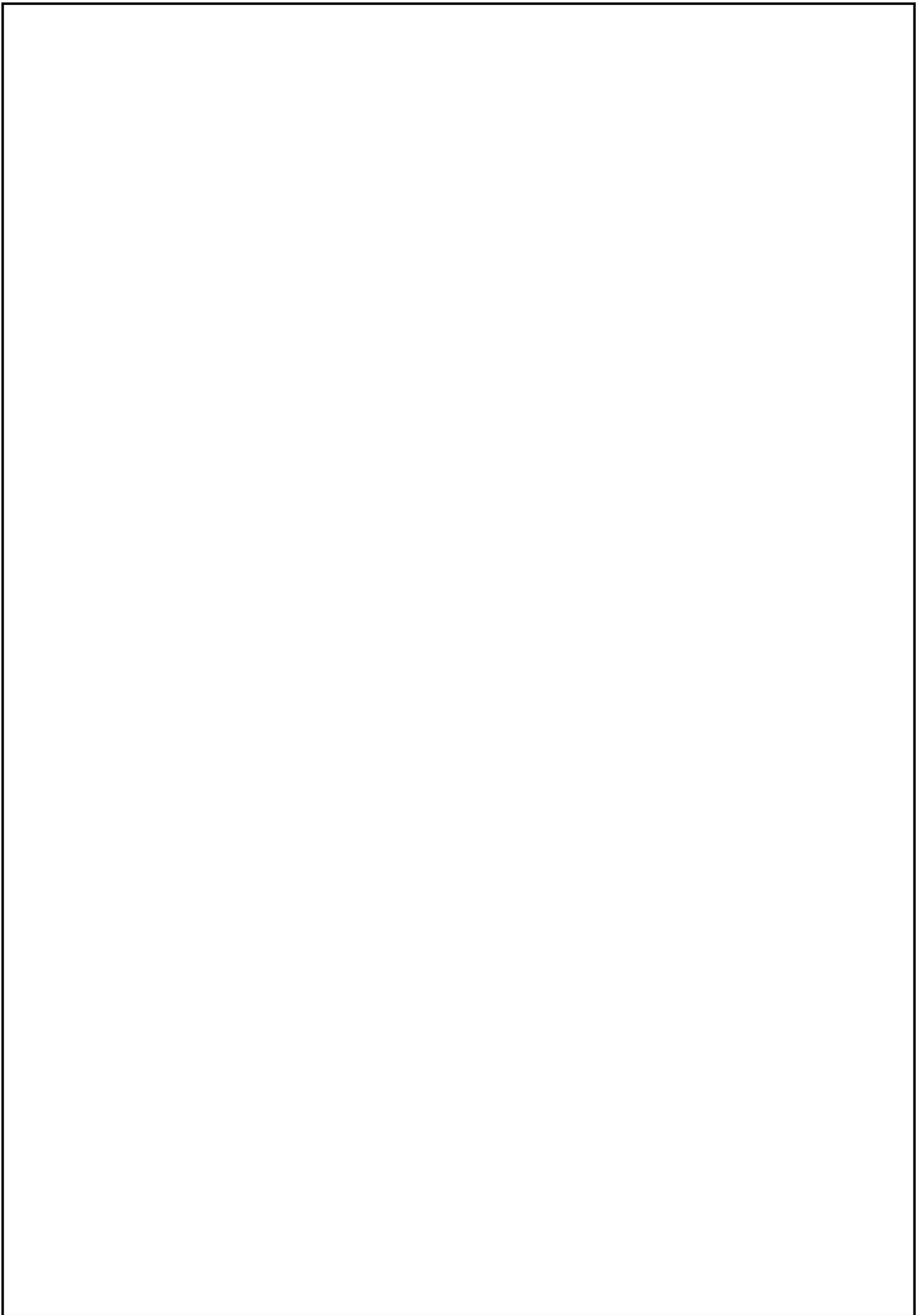
Medjadji Bahia

Soutenu le : mardi 27 juillet 2021

Devant le Jury :

<i>Mme. Benazouz F.</i>	<i>GRADE</i>	<i>MAA</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mr. Boukhatem M.N.</i>	<i>GRADE</i>	<i>Professeur</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mme Bouafir Y.</i>	<i>GRADE</i>	<i>MRB</i>	<i>CRAPC, BOUISMAIL</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Chelghoum H.</i>	<i>GRADE</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Session 2020 / 2021



Dédicaces

Dédicaces

وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ (هود: 88)

Je dédie ce travail

A mon père qu'il y a Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Qu'ALLAH le tout puissant vous préservez, vous accordez Santé, bonheur et vous protège de tout mal.

A ma très chère mère lumière de ma vie, source d'amour de tendresse et de soutien éternel, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie

A mes sœurs Hafsia, Khaoula, noussaila, Khadidja, Raihana, Ikram et loudjaina que j'aime tant Pour leur petit mot et leur soutien

A mon cher frère Nasro ellah .A tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A mes amies Manar, Sarah, kaouther, raouia, samia, imen, asma, meriem, feriel , radia et faiza.

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Sans oublier mon binôme Bahia pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

A tous la promo BPM que j'aime tant un par un.

Chaimaa

Dédicaces

“ IF YOU HAVE KNOWLEDGE, LET OTHERS LIGHT THEIR CANDLES IN IT.”

MARGARET FULLER

TO ALL OF THOSE WHO CONTRIBUTED IN LIGHTING MY CANDLE...

IN MEMORY OF LEBAN CHERIFA AND TEKTAKI SAMIA,

TO MY DEAR PARENTS, MY GENIUS BROTHER WHO IS ALWAYS TEN

STEPS AHEAD OF ME AND TO MY BELOVED SISTERS.

BAHIA

Remerciements

Remerciements

Nous tenons tous d'abord à remercier Allah, qui nous a donné la force, la patience, le courage et la volonté d'accomplir ce Modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : Mme. Benarouz F et Mr. BOUKAHEM M.N, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Ce travail de mémoire, a été effectué au niveau de laboratoire « Biomolécules et effets thérapeutiques », Division santé de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico - Chimiques Bou-Ismaïl.W. Tipaza, et au laboratoire de microbiologie bloc C et station expérimental laboratoire BPC, Faculté de Science de la Nature et de la Vie université de Blida 1.

En second temps, nous remercions

- Le responsable du laboratoire Mr. BOUHENNA Mustapha Mounir et tous l'équipe du CRAPC.*
- Le responsable des laboratoires de la faculté (SNT), université Blida 1) Mr. abderahman Benmaalem et leur équipe.*

Qui ont contribué à la réalisation de notre vision dans la réalité.

Nous aimerions exprimer notre admiration sans limite à nos encadreurs Dr. Bouafir Lfesmine et Dr. Chelghoum Hayet grâce à leur précieux conseils et leur aide durant toute la période du travail. Elles nous ont fait une grande confiance en acceptant cette étude et en acceptant d'encadrer notre travail.

Nous remercions également notre cheffe d'option Mme. Djazouli Alim et tous les enseignants rencontrés lors de notre cycle universitaire.

En fin, nous remercions également toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table de matières

Table de matières

Dédicaces	ii
Remerciements	iv
Table de matières.....	v
Liste des figures	vii
Liste des Tableaux	viii
Liste des Abréviations.....	ix
ملخص	xi
Abstract.....	xii
Résumé	xiii
Introduction.....	1
I. Données bibliographiques	3
I.1. Présentation de la plante étudiée	3
I.1.1. <i>Marrubium vulgare</i>	3
I.1.2. Répartition et Caractérisation botanique	3
I.1.3. Propriétés thérapeutiques et pharmacologiques	4
I.1.4. Métabolites secondaires.....	5
I.2. Nanotechnologies et Nanoparticules	6
I.2.1. Nanotechnologies.....	6
I.2.2. Nanoparticules	7
I.3. Activités Biologiques.....	19
I.3.1. Activité antibactérienne.....	19
I.3.2. Activité anti-inflammatoire	21
I.3.3. Activité antioxydante	22

II. Matériel et Méthodes	23
II.1. Matériel.....	23
II.1.1. Matériel végétale.....	23
II.1.2. Matériel microbiologique.....	23
II.1.3. Matériel non biologique.....	23
II.2. Méthodes.....	23
II.2.1. Préparation de la plante	23
II.2.2. Préparation de l'extrait hydroéthanolique du <i>Marrubium vulgare</i>	24
II.2.3. Dosage biochimique des composés phénoliques dans l'extrait hydroéthanolique du <i>Marrubium vulgare</i>	24
II.2.4. Biosynthèse et caractérisation des nanoparticules d'argent.....	27
II.2.5. Activité antibactérienne	28
III. Résultats et Discussions	29
III.1. Evaluation du rendement de l'extraction.....	29
III.2. Dosage biochimique des composés phénoliques.....	29
III.3. Evaluation de la biosynthèse des nanoparticules d'argent et leur caractérisation	30
III.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.....	33
Conclusion	37
Liste des références bibliographiques	39
Annexes	45

Liste des figures

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Fig.1	Description botanique simplifié du <i>Marrubium vulgare</i>	3
Fig.2	Classification des nanomatériaux selon la définition ISO des nano-objets	7
Fig.3	Nanomatériaux couramment appliqués en biomédecine	9
Fig.4	Approche de fabrication des nanomatériaux	11
Fig.5	Méthode de synthèse chimique des NPsAg.	12
Fig.6	Schéma de l'approche chimique de la synthèse des NPsAg	13
Fig.7	Méthode de synthèse physique (Ablation par laser) des NPs	14
Fig.8	Schéma explicatif de mécanismes d'action des NPs contre les souches bactériennes	21
Fig.9	Photo réelle de la plante étudiée <i>Marrubium vulgare</i>	23
Fig.10	<i>Marrubium vulgare</i> sous forme d'une poudre	24
Fig.11	Protocole de dosage des polyphénols totaux dans l'extrait hydroéthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	25
Fig.12	Protocole de dosage des flavonoïdes totaux dans l'extrait hydroéthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	26
Fig.13	Protocole de biosynthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait de <i>Marrubium vulgare</i>	27
Fig.14	Observation visuelle du changement de couleur après 24h à l'obscurité	31
Fig.15	Spectres d'absorbance obtenus par balayage spectral au moyen d'un spectrophotomètre.	32
Fig.16	Images par microscope électronique à balayage des nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir d'extrait d'une plante à différents grossissements ($\times 30000$; $\times 40000$).	33
Fig.17	Histogrammes et tableau des zones d'inhibition des NPsAg	35
Fig.18	Observation réelle des résultats de l'activité antibactérienne de la méthode des puits	36

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau I	Classification botanique du <i>Marrubium vulgare</i> .	4
Tableau II	Structure chimique des composés polyphénoliques.	5
Tableau III	Définitions des NPs et des nanomatériaux selon diverses organisations.	8
Tableau IV	Nanomatériaux courants à usage biomédical.	10
Tableau V	La taille des NPsAg produites en fonction du type du micro-organisme.	15
Tableau VI	Utilisation des NPsAg dans les objets de la vie quotidienne.	17
Tableau VII	Les souches bactériennes étudiées.	20
Tableau VIII	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	28

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- MA Maladie d'Alzheimer
- ISO Organisation Internationale de Normalisation
- NPs/NP Nanoparticules
- ASTM Société Américaine des Matériaux d'Essai
- NIOSH Institut National de la Sécurité et de la Santé au Travail
- SCCP Comité des Produits de Consommation
- BSI Institution Britannique de Normalisation
- BAuA Office Fédéral de la Protection du Travail et la Médecine du Travail
- Ag L'argent
- NPsAg Nanoparticules d'argent
- NaBH₄ Borohydrure de Sodium
- DMF N N-diméthylformamide
- Ag⁺ Ion d'argent
- Ag⁰ Argent métallique
- Au L'or
- PBS Tampon phosphate salin
- NPs-Me Nanoparticules Métalliques
- AgNO₃ Nitrate d'argent

- ZnO Oxyde de zinc
- CuO Oxyde de cuivre
- Fe₂O₃ L'oxyde ferrique
- ROS Dérivés Réactifs de L'oxygène
- Na₂CO₃ Carbonate de Sodium
- AlCl₃ Trichlorure d'aluminium
- MEB Microscopie Electronique à Balayage
- Genta Gentamicine
- R Rendement
- AG Acide Galique
- SPR Résonance Plasmonique de Surface

Résumé

تَشْتَهَرُ جُزَيْنَاتُ الفِضَّةِ النَّنْوَیَّةِ بقدرتها المضادة للبكتيريا، المضادة للإلتهابات والمضادة للأكسدة. يهدف هذا العمل إلى تصنيع وتَمییز واختِبار النشاط البيولوجي لجزيئات الفضة النانوية باستعمال نبات طبي *Marrubium vulgare* من عائلة *Lamiaceae*.

تم حصاد الأوراق الطازجة لهذا النبات من ولاية عين الدفلى ثم تجفيفها وطحنها إلى مسحوق ناعم. وللحصول على مستخلص إيثانولي تم نقع المسحوق في كمية من الإيثانول. حُدِدَ مستوى مركبات الفلافونويد وإجمالي الفينولات في المستخلص الإيثانولي بطريقة قياس الألوان، من منحنيات المعايرة التي استُخْرِجَت من الكيرسيتين وحمض الجاليك على الترتيب. أعطى مستخلصنا مردوداً قدره 7,53 %، الفعالية العلاجية للمستخلص النباتي تم التأكيد عليها من خلال وجود مستويات محددة من إجمالي الفينولات ومركبات الفلافونويد.

من أجل الحصول على جسيمات الفضة النانوية، يُضَاف مَحْلُول نَتْرَاث الفضة إلى المستخلص الإيثانولي النباتي، تُمَيِّز الجسيمات النانوية المتشكلة من خلال ثلاث طرق الملاحظة البصرية، المسح الطيفي وباستخدام المسح بواسطة المجهر الإلكتروني. أكد تغير اللون وامتصاص ما يقارب من 420 نانومتر تشكيل جسيمات الفضة النانوية، التي لوحظت في شكل كروي بواسطة المجهر الإلكتروني.

تم تَقْيِيم النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات الفضة النانوية باستخدام طريقة الفجوات ضد أربع سلالات بكتيرية *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas aureginosa* . تظهر الجسيمات النانوية الفضية نشاطاً حساساً للغاية ضد البكتيريا المدروسة.

أظهرت هذه الدراسة أن المستخلص الإيثانولي يحتوي على العلاجات ذات دور ارجاعي في التصنيع البيولوجي للجسيمات النانوية للفضة التي لها نشاط كبير مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية : مريوت، الأجسام النانوية الفضية، بوليفينول، فلافونويد، مضاد للميكروبات.

Abstract

Silver nanoparticles are known for their antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant capacities.

This work aims to synthesize, to characterize and to test the biological activities of silver bio-nanoparticles obtained by the use of a medicinal plant *Marrubium vulgare* from the *Lamiaceae* family.

The fresh leaves of this plant are harvested from the wilaya of Ain Defla, then dried and ground into a fine powder. To obtain an ethanolic extract, the powder was macerated in one volume of ethanol. The level of flavonoids and total phenols in the ethanolic extract of *Marrubium vulgare* was then determined by a colorimetric method from the calibration curves produced by quercetin and gallic acid respectively. Our extract gave a significant yield of 7.53%, the therapeutic efficiency of the plant extract was ensured by the presence of known levels of total phenols and flavonoids.

In order to obtain silver nanoparticles, a solution of AgNO₃ was added to the ethanolic extract of *Marrubium vulgare*. The nanoparticles obtained are characterized by three methods, visual observation, spectral scanning and scanning electron microscopy. A change in color and an absorbance of around 420 nm confirmed the formation of the silver nanoparticles, which were observed in spherical shape by the electron microscope.

The antibacterial activity of silver nanoparticles was assessed using the hole method against four bacterial strains *Bacillus substilus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aureginosa*. The silver nanoparticles show sensitive to extremely sensitive activity against the bacteria studied.

This study showed that the ethanolic extract of *Marrubium vulgare* exhibits therapeutic effects with a role of reduction in the biological synthesis of silver nanoparticles which themselves have a significant antibacterial activity.

Key words : *Marrubium vulgare*, Silver Nanoparticles, Polyphenol, Flavonoïde, Antibacteriel activity.

Résumé

Les nanoparticules d'argent sont connues pour leurs capacités antibactérienne, anti-inflammatoire et antioxydante.

Ce travail vise à synthétiser, à caractériser et à tester les activités biologiques des bio-nanoparticules d'argent obtenues par l'utilisation d'une plante médicinale *Marrubium vulgare* de la famille des *Lamiaceae*.

La récolte des feuilles fraîches de cette plante a été faite à la wilaya d'Ain Defla, par la suite elles ont été séchées et broyées en poudre fine. Pour avoir un extrait hydroéthanolique, la poudre a été macérée dans un volume d'éthanol. Ensuite, on a déterminé le taux des flavonoïdes et des phénols totaux dans l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare* par une méthode colorimétrique à partir des courbes d'étalonnage réalisées par la quercétine et l'acide gallique, respectivement. Notre extrait a donné un rendement significatif de 7,53%, l'efficacité thérapeutique de l'extrait de la plante a été assurée par la présence des taux déterminés des phénols totaux et des flavonoïdes.

Afin d'obtenir des nanoparticules d'argent, une solution d'AgNO₃ a été ajoutée à l'extrait hydréthanolique du *Marrubium vulgare*. Les nanoparticules obtenues sont caractérisées par trois méthodes, observation visuelle, balayage spectral et microscopie électronique à balayage. Un changement de couleur et une absorbance d'environ 420 nm ont confirmé la formation des nanoparticules d'argent. Ces dernières ont été observées sous forme sphérique par le microscope électronique.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent a été effectuée à l'aide de la méthode des puits contre quatre souches bactériennes *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aureginosa*. Les nanoparticules d'argent présentent une activité sensible à extrêmement sensible contre les bactéries étudiées.

Cette étude a montré que l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare* présente des effets thérapeutiques avec un rôle de la réduction dans la synthèse biologique des nanoparticules d'argent qui possèdent eux même une activité antibactérienne importante.

Mots clés : *Marrubium vulgare*, Nanoparticules d'argent, Polyphénol, Flavonoïde, Activité antibactérienne.

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, l'humanité a profité de la richesse naturelle végétale à la fois comme une source agro-alimentaire ainsi qu'une matière première utilisée par les tradipraticiens. Avec la progression des médecines, ces plantes ont obtenu une attraction comme une source de principes actifs pour les médicaments à base de plantes grâce à leurs métabolites secondaires. En Algérie, de nombreuses espèces appartenant à la famille des *Lamiaceae* sont fortement utilisées en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies parmi elles, *Marrubium vulgare*.

Le Marrube blanc a attiré l'attention du monde par ces propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et surtout antimicrobiennes comme une alternative aux substances antibiotiques qui ont été surmontées par la résistance bactérienne.

À l'heure actuelle, la progression de la nanotechnologie a permis de développer des molécules à l'échelle nanométrique à plusieurs intérêts. De nombreuses approches ont été proposées pour créer différent nanomatériaux, mais en raison du changement climatique et de la vague qui frappe le monde pour réduire l'utilisation des produits chimiques toxiques pour notre environnement et des activités physiques qui aggravent l'état de la couche d'ozone, et consomment beaucoup d'énergie, de nouvelles méthodes biologiques respectueuses de l'environnement ont émergé à base des sources naturelles.

L'exploration de méthodes de synthèse respectueuses de l'environnement a toujours orienté les scientifiques vers la biosynthèse et l'utilisation de plantes et de micro-organismes tels que les bactéries, les levures et les champignons, sachant que les plantes sont considérées comme une source impérative dans la synthèse des nanoparticules. Les applications thérapeutiques de l'argent connues depuis des milléniales font de lui un métal noble de choix pour la synthèse des nanoparticules.

Pour proposer de nouvelles méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent rapides et propres vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur, ce présent travail détermine l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent produites à partir de l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare* et leur caractérisation. Dans cette optique, nous avons suivi la démarche suivante :

- Extraction hydroéthanolique du *Marrubium vulgare*.
- Dosage biochimique des composés phénoliques dans l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare*.

- Biosynthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare*.
- Caractérisation des nanoparticules d'argents (Observation visuelle, spectroscopie UV-visible, Microscope électronique à balayage).
- Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent vis-à-vis de quatre souches bactériennes.

Chapitre I

Données bibliographiques

I. Données bibliographiques

I.1. Présentation de la plante étudiée

I.1.1. *Marrubium vulgare*

Le genre *Marrubium* fait partie de la famille des Lamiacées qui est composée de près de 258 genres (DJAHRA, 2014). Il comporte environ 40 espèces. En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* et *Marrubium deserti de Noé*. Dans notre travail, on s'intéresse au *Marrubium vulgare*, également appelé Marrube blanc connu en Algérie sous le nom de Marriouth (Quezel et Santa, 1963).

I.1.2. Répartition et Caractérisation botanique

Le Marrube est originaire d'Eurasie tempérée, d'Europe, du Moyen Orient et de la région Méditerranéenne, y compris l'Afrique du nord (Yabrir, 2019). C'est une plante herbacée annuelle ou vivace (Aćimović *et al.*, 2020). Le Marrube vulgaire est un arbuste, d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, feuilles petites en coin à la base portant quelques dents au sommet, fleurs en petits glomérules à l'aisselle des paires des feuilles, corolle petite par rapport au calice tubuleux, celui-ci s'accroissant considérablement par sa partie supérieure en formant au tour du fruit une auréole membraneuse (Fig.1) (Ozenda, 2004). Le Tableau I représente la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare*.

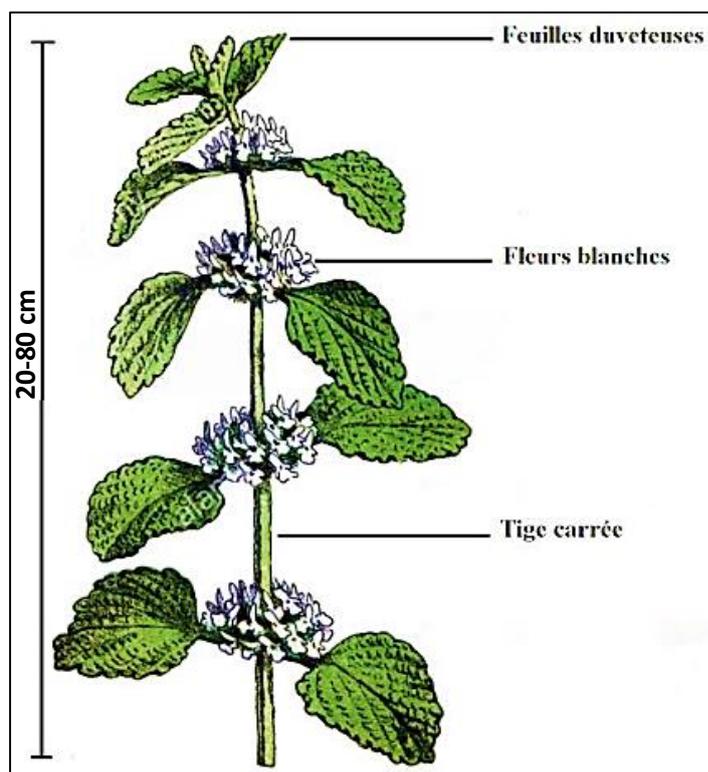


Fig. 1: Description botanique simplifiée du *Marrubium vulgare*

Tableau I : Classification botanique du *Marrubium vulgare* (Judd *et al.*, 2002)

Règne	Plantae	Sous-classe	Asteridae
Sous-règne	Tracheobionta	Ordre	Lamiales
Division	Magnoliophyta	Famille	Lamiaceae
Classe	Magnoliopsida	Genre	<i>Marrubium</i>

I.1.3. Propriétés thérapeutiques et pharmacologiques

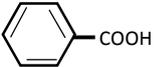
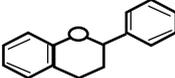
Marrubium vulgare est connu pour posséder de nombreux effets sur le corps humain. Il est largement utilisé dans la médecine traditionnelle dans le monde entier pour traiter une variété de maladies (Yabrir, 2019). En Algérie, il est utilisé dans la médecine populaire pour guérir plusieurs maladies telles que la diarrhée, le diabète, les rhumatismes, le rhume et les douleurs respiratoires (Belhattab *et al.*, 2006).

I.1.4. Métabolites secondaires de la plante

Les plantes synthétisent une vaste gamme de composés organiques qui sont classés comme métabolites primaires et secondaires.

Les métabolites secondaires sont intéressants en raison de leur utilisation comme colorants, fibres, colles, huiles, cires, agents aromatisants, médicaments et parfums. Ils sont considérés comme des sources potentielles de nouveaux médicaments naturels, antibiotiques, insecticides et herbicides (**Crozier *et al.*, 2008**).

Tableau II : Structure chimique des composés polyphénoliques (groupes hydroxyles non représentés) (**Crozier *et al.*, 2008**).

Nombre de carbone	La structure chimique	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acide Phénolique	Acide Gallique	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïde	Naringinine	

Le terme « acides phénoliques » décrit généralement les composés phénoliques ayant un groupe acide carboxylique (Tableau II). Les acides phénoliques ou phénol-carboxyliques sont l'une des principales classes de composés phénoliques végétaux. On les trouve dans la variété des aliments à base de plantes, à savoir les graines, les peaux de fruits et les feuilles de légumes qui en contiennent en concentrations très élevées (**Kumar , 2019**).

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant quinze carbones, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones (Tableau II). Ils se trouvent dans tout le règne végétal, présents en fortes concentrations dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits et ont des rôles importants et variés de métabolites secondaires (**Crozier *et al.*, 2008**). Les métabolites végétaux secondaires, comme les polyphénols, sont généralement impliqués dans la défense chimique et contre les agents pathogènes, la reproduction et la communication plante-plante. On trouve des milliers de composés de polyphénols dans divers aliments d'origine végétale, y compris les légumes (**Mendonça *et al.*, 2019**). Cette classe de métabolites secondaires végétaux à structure polyphénolique, ont divers effets biochimiques et antioxydants favorables associés à diverses maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer (MA), l'athérosclérose. Les flavonoïdes sont associés à une vaste gamme d'effets bénéfiques pour la santé et constituent un élément indispensable dans diverses applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques. Ceci est dû à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-mutagènes et anti-cancérigènes, couplées à leur capacité à moduler les principales fonctions enzymatiques cellulaires (**PANCHE *et al.*, 2016**).

I.2. Nanotechnologies et Nanoparticules

I.2.1. Nanotechnologies

La nanotechnologie constitue un champ de recherche multidisciplinaire. Elle peut être définie comme étant la science et le génie permettant d'étudier la matière au niveau moléculaire ou supramoléculaire (**Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010**) (**Saini et al., 2010**), rassemblent à la fois les nanomatériaux, les nano-composants, les nano-systèmes, les techniques et procédés de fabrication, de manipulation, de caractérisation, d'imagerie, ainsi que les outils de modélisation-simulation (**Badillo, 2012**).

La nanotechnologie, dans son essence, est la science qui concerne l'ingénierie et l'application des nanomatériaux naturels ou objets manufacturés présentant au moins une des trois dimensions à l'échelle nanométrique (**Barkalina et al., 2014**).

D'après les travaux de la Commission Européenne en 2011, une définition des nanomatériaux a été proposée : « On entend par nanomatériaux, un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé, contenant des particules libres, sous forme d'agrégats ou sous forme d'agglomérats, dont au moins 50% des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm ». Ainsi, selon le comité technique 229 « Nanotechnologies » de l'organisation internationale de normalisation (ISO), deux grandes familles de nanomatériaux sont distinguées (Fig.2) :

- Les nano-objets : qui sont des « Matériaux dont une, deux ou trois dimensions externes se situent à l'échelle nanométrique », parmi les nano-objets, trois catégories sont distinguées, les nanoparticules (NPs), les nano-fibres et les nano-feuillets.
- Les matériaux nanostructurés : qui sont des « Matériaux qui possèdent une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique ». Il est possible de distinguer plusieurs familles de matériaux nanostructurés à l'instar des nanocomposites, agrégats et agglomérats de nano-objets et les matériaux nanoporeux...etc. (**Myriam Ricaurd et Olivier Witschger, 2012**).

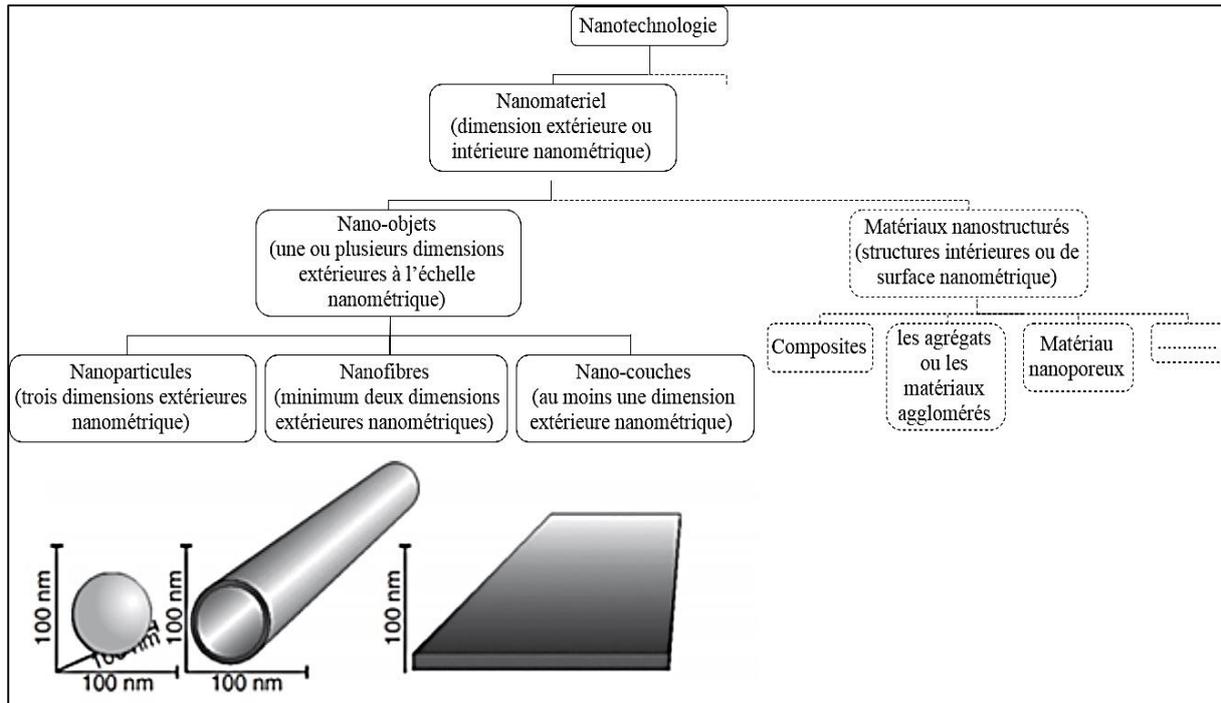


Fig. 2: Classification des nanomatériaux selon la définition ISO des nano-objets. Les nano-objets comprennent les nanoparticules (à l'échelle nanométrique dans les trois dimensions), les nanofibres (à l'échelle nanométrique dans les deux dimensions) et les nano-couches (à l'échelle nanométrique dans une seule dimension) (**Krug et Wick, 2011**).

I.2.2. Nanoparticules

Les éléments constitutifs les plus fondamentaux dans la fabrication d'une nanostructure sont les NPs. Ils sont beaucoup plus petits que les objets du monde quotidien décrit par les lois du mouvement de Newton, mais plus grand qu'un atome ou une simple molécule régie par la mécanique quantique. Cependant, la façon dont une NP est vue et définie dépend dans une large mesure de l'application spécifique. A cet égard, le tableau III résume les différentes définitions des NPs et des nanomatériaux suggérés par diverses organisations (**Horikoshi et Serpone, 2013**).

Tableau III : Définitions des NPs et des nanomatériaux selon diverses organisations : Organisation Internationale de Normalisation (ISO), Société Américaine des Matériaux d'Essai (ASTM), Institut National de la Sécurité et de la Santé au Travail (NIOSH), Comité des produits de consommation (SCCP), Institution Britannique de Normalisation (BSI), et Office Fédéral de la Protection du Travail et la Médecine du Travail (BAuA) (**Yezhelyev et al., 2006**).

	Nanoparticules	Nanomatériaux
ISO	Une particule s'étendant sur 1-100nm (diamètre).	-----
ASTM	Particule ultrafine dont la longueur en 2 ou 3 dimensions est de 1 à 100nm.	-----
NIOSH	Particule avec un diamètre compris entre 1 et 100 nm ou fibre couvrant la gamme 1-100nm.	-----
SCCP	Au moins un côté est à l'échelle nanométrique.	Matériel dont au moins un côté ou la structure interne est dans la gamme nanométrique.
BSI	Tous les champs ou diamètres sont dans l'échelle nanométrique.	Matériel dont au moins un côté ou la structure interne est dans la gamme nanométrique.
BAuA	Tous les champs ou diamètres sont dans l'échelle nanométrique.	Matériel constitué d'une nanostructure ou d'une nanosubstance.

Chaque jour, un nouveau type des NPs s'approche de la surface, et malgré cela, elles ne sont divisées qu'en deux grandes catégories (Tableau IV) : les particules qui contiennent des molécules organiques comme les matériaux de construction majeurs et celles qui utilisent des éléments inorganiques, généralement des métaux, comme les noyaux, liposomes, dendrimères, nanotubes de carbone, émulsions,...etc (Fig.3) (**Yezhelyev et al., 2006**). Les NPs organiques ont fait l'objet d'études approfondies avec des liposomes, des polymères, des constructions de polymères, des micelles utilisées pour l'imagerie ou la drogue et techniques de délivrance de gènes. Entre temps, les NPs inorganiques ont également attiré l'attention des chercheurs ces dernières années, en raison de leurs propriétés physicochimiques uniques dépendantes du

matériau et de la taille, qui sont incomparables aux NPs traditionnels à base de lipides ou de polymères. Ce sont donc leurs propriétés physiques (optiques et magnétiques) qui rendent les NPs uniques, en plus de leurs propriétés chimiques telles que l'inertie, la stabilité et la facilité de fonctionnalisation (**Khalid et al., 2020**).

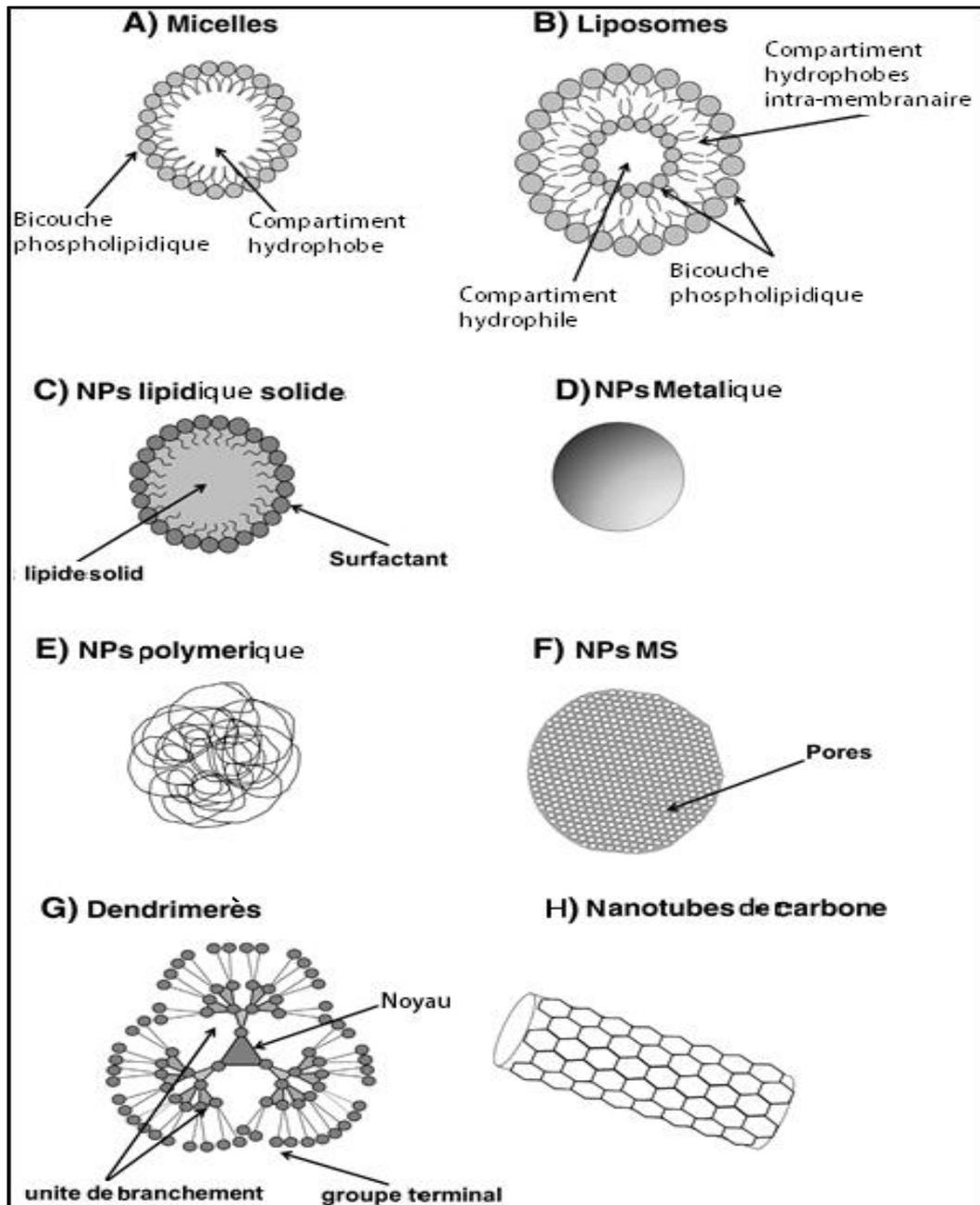


Fig. 3: Nanomatériaux couramment appliqués en biomédecine. (A) Micelle. (B) Liposomes. (C) Nanoparticules lipidiques solides. (D) Nanoparticules inorganiques (métalliques). (E) Nanoparticules polymères. (F) Nanoparticules de silice mésoporeuses. (G) Dendrimères. (H) Nanotubes de carbone (**Yezhelyev et al., 2006**).

Tableau IV : Nanomatériaux courants à usage biomédical (**Yezhelyev *et al.*, 2006**).

Classe	Sous-classe	Matériel	Structure	Description							
Organique	Lipides	Phospholipides	Liposomes	Nanosphères fermées constituées d'une bicouche phospholipidique							
			Micelles	Nanosphères fermées constituées d'une monocouche phospholipidique							
		Lipides Solide	Lipides-Solides nanoparticules	Nanosphères constituées d'un noyau lipidique stabilisé par des agents tensioactifs et/ou des polymères							
	Polymères	Poly-L-lactide-co-glycolide (PLGA)	acide Polylactique (PLA) Chitosane Gélatine	Nanoparticules	Structures de formes variées avec les trois dimensions physiques à l'échelle nanométrique (100 nm)						
						Polyamidoamine (PAMAM)	Dendrimers	Nanomolécules sphériques constituées d'un noyau central et de couches séquentielles de groupes ramifiées			
									Polypropyleneimine (PPI)	Nanoparticules	Structures de formes variées avec les trois dimensions physiques à l'échelle nanométrique (100 nm)
		Oxides	Platinum	Magnetic	Nanoparticules	Structures de formes variées avec les trois dimensions physiques à l'échelle nanométrique (100 nm)					
			Semi-conducteurs				Cadmium Selenium Tellurium Indium	Boîte quantique	Nanocristaux semi-conducteurs ayant des propriétés optiques		
		Inorganique	A base de carbone	Carbon	Fullerènes	Nanosphères creuses, constituées d'atomes de carbone, formant des structures en forme de cages					
Nanotubes	Structures cylindriques avec deux des trois dimensions physiques à l'échelle nanométrique (100 nm)										
Autre	silice méso-poreuses		Nanoparticules	Structures de formes variées avec les trois dimensions physiques à l'échelle nanométrique (100 nm) et architecture mésoporeuse (diamètre des pores : 2-50 nm)							

Pour fabriquer les nanomatériaux (par exemple un semi-conducteur réduit aux tailles nanométriques ou dispersé dans une matrice polymère), on dispose de deux approches (Fig.4). Dans l'approche dite « Top-down », du haut vers le bas, on prend un gros morceau et on réduit sa taille, c'est le domaine de la miniaturisation des composants électroniques ; l'autre approche dite « Bottom-up » consiste à construire la matière à partir d'éléments, par exemple faire une réaction chimique puis stabiliser des NPs de taille voulue ou encore construire des molécules avec des atomes définis et des propriétés définies. La première approche, dite de miniaturisation, est actuellement la plus répandue (**Rabu, 2019**).

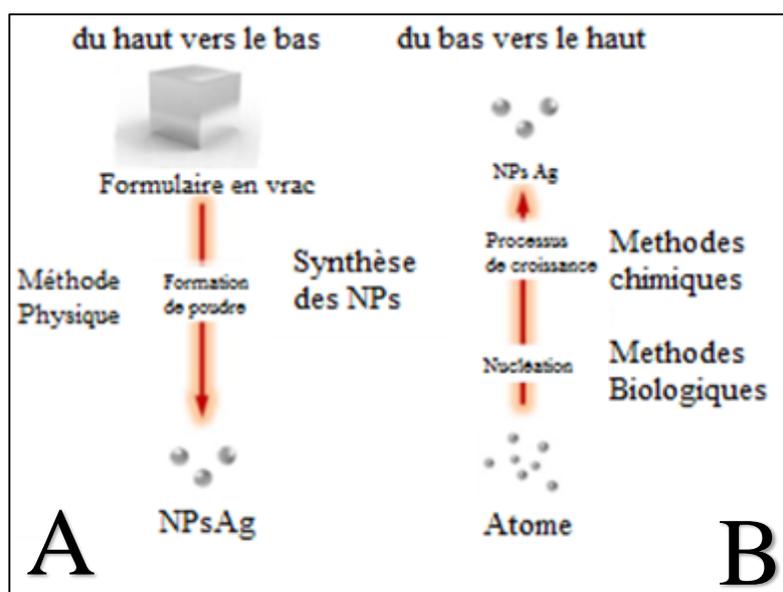


Fig.4: Approche de fabrication des nanomatériaux. (A) du haut vers le bas (Méthodes physiques). (B) Du bas vers le haut (Méthodes chimiques, biologiques) (**Lee et Jun, 2019**).

1.2.2.1. Nanoparticules d'argent

L'argent (Ag) est utilisé depuis des siècles dans le traitement des plaies et des brûlures. Avec l'avènement actuel des nanotechnologies, l'engouement pour les nanoparticules d'argent (NPsAg) et leur pouvoir antibactérien s'est accru et le développement de produits en contenant s'est accentué au fil des années. Si la principale application est le domaine médical, ces nano argents sont présents dans de nombreuses applications de la vie quotidienne (textile, hygiène, alimentation...etc.) et se retrouvent constamment en contact avec le corps humain, mais aussi dans notre environnement, ce qui représente une source de toxicité non négligeable. Pour ce qui est de ses caractéristiques, l'argent est un métal gris blanc, de masse atomique 107,87 g/mol. Il est solide à température ambiante. Sa densité est de 10,5 et son point de fusion de 960 °C. Il s'oxyde peu. Il est ductile, malléable et bon conducteur thermique et électrique (**Chauvel, 2018**).

I.2.2.2. Méthodes de synthèse des Nanoparticules d'argent

- **Approche Chimique :**

Plusieurs approches chimiques peuvent être utilisées pour la synthèse des NPsAg ; la réduction chimique, technique électrochimique, irradiation assistée par méthode chimique ou par pyrolyse (Chauvel, 2018).

La réduction chimique par des agents réducteurs organiques et inorganiques est l'approche la plus courante pour la synthèse des NPsAg. En général, différents agents réducteurs tels que le citrate de sodium, ascorbate, borohydrure de sodium (NaBH_4), hydrogène élémentaire, le procédé polyol, le réactif de Tollens, N N-diméthylformamide (DMF), et les copolymères blocs poly (éthylène glycol) sont utilisés pour la réduction des ions d'argent (Ag^+) dans des solutions aqueuses ou non aqueuses. Ces agents réducteurs réduisent l' Ag^+ et conduisent à la formation d'argent métallique (Ag^0), qui est suivi d'une agglomération en amas oligomériques (Fig.5).

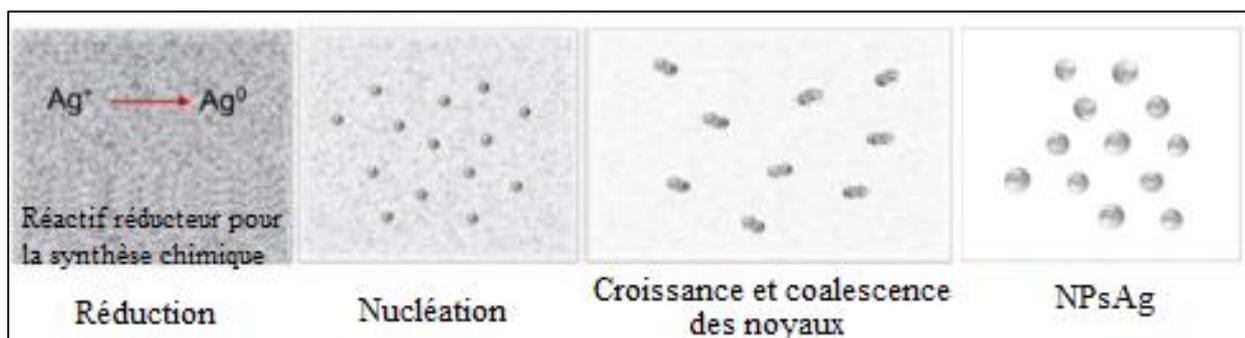


Fig.5 : Méthode de synthèse chimique des NPsAg (Lee et Jun, 2019).

Une préparation des NPsAg peut être effectuée à température ambiante, par un simple mélange des ions métalliques correspondants avec des polyoxométalates réduits qui servent d'agents réducteurs et stabilisants (Fig.6) (Irvani *et al.*, 2014).

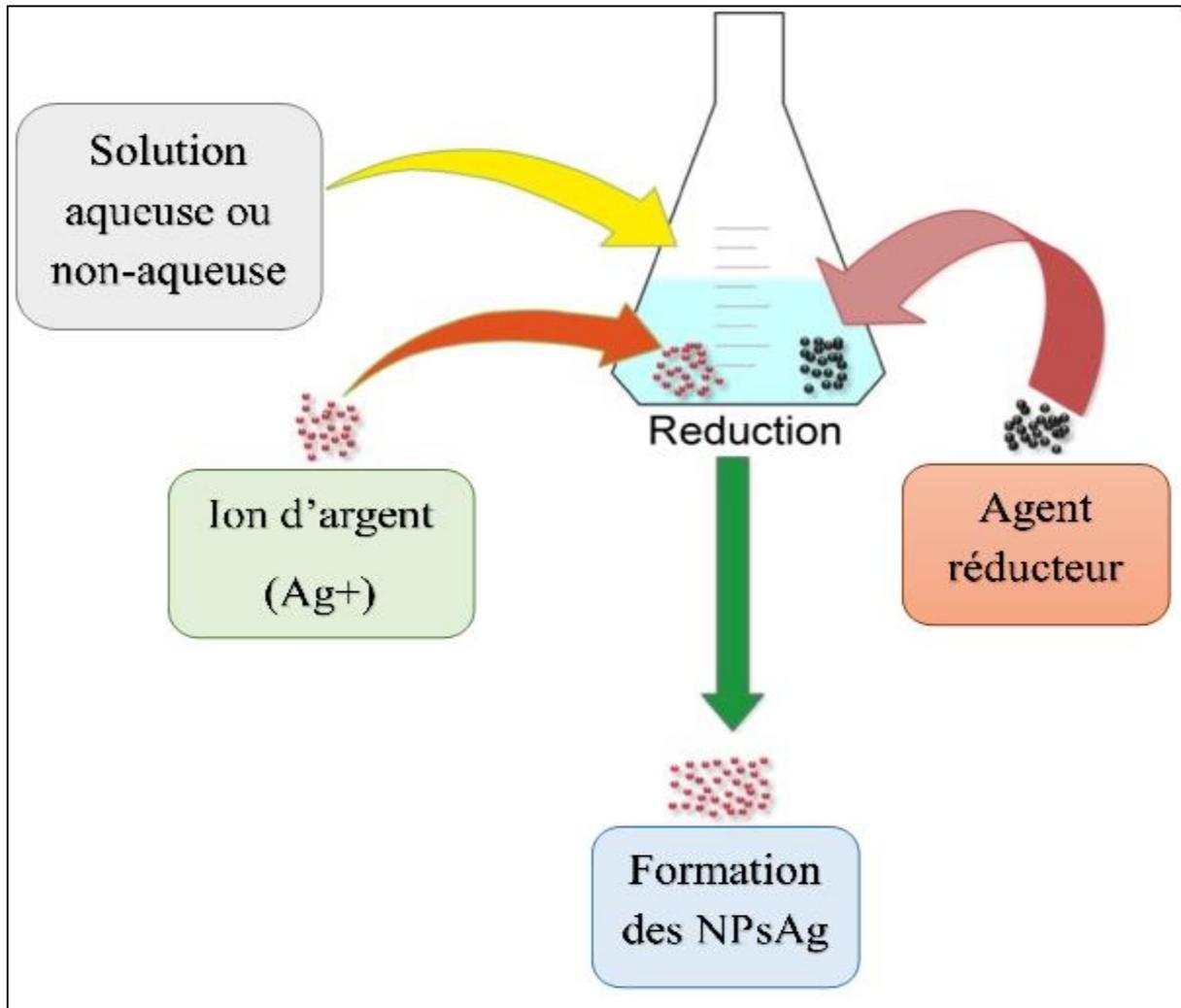


Fig.6: Schéma de l'approche chimique de la synthèse des NPsAg (Khan et al., 2018).

- **Approche physique**

Il est possible, par voie physique, de créer des NPs soit libres (broyage), soit enrobées dans des matrices liquides ou solides, notamment vitreuses. Globalement, les différentes techniques employées donnent lieu à trois processus différents de formation des NPs (Sow, 2013).

Dans les processus physiques, les NPs de divers matériaux tels que l'Ag, l'Or (Au), le tampon phosphate salin (PbS) et le fullerène sont généralement synthétisées par évaporation-condensation, ce qui pourrait être effectué à l'aide d'un four tubulaire à pression atmosphérique.

Le matériau de base d'un bateau centré sur le four est vaporisé dans un gaz porteur. De plus, les NPsAg ont été synthétisés par ablation laser des matériaux métalliques en vrac en solution (Fig.7). Un seul avantage de l'ablation laser par rapport à d'autres méthodes classiques de préparation des colloïdes métalliques est l'absence de réactifs chimiques en solutions (Abbasi et al., 2016).

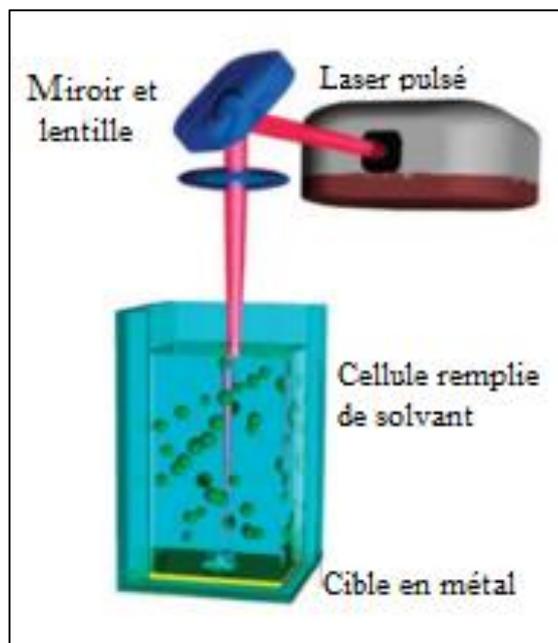


Fig.7: Méthode de synthèse physique (Ablation par laser) des NPs (Lee et Jun, 2019).

Une autre méthode consiste à utiliser les faisceaux énergétiques pour introduire l'espèce à précipiter dans la matrice hôte. C'est le cas de l'implantation ionique. Dans ce cas, il est souvent nécessaire de procéder à un traitement thermique ultérieur pour la précipitation des NPs (Sow, 2013).

- **Approche Biologique :**

La synthèse biologique, dite verte, des NPs_{Ag} présente de grands avantages par rapport aux méthodes chimique et physique. Biologiquement, les NPs_{Ag} synthétisés sont respectueux de l'environnement, car aucun réducteur toxique ou agent stabilisant n'est utilisé lors de la synthèse des NPs.

Dans les systèmes biologiques, la réduction des risques pour la santé et les agents stabilisants peuvent être remplacés par des biomolécules essentielles telles que les protéines et les hydrates de carbone, qui sont produits localement par des microbes, incluant les bactéries, les champignons et les levures, les plantes, et autres organismes comme les algues (Tableau V) (Djoumessi Lekeufack, 2010).

Tableau V : La taille des NPsAg produites en fonction du type de l'organisme (Savary, 2015).

organisme	La taille des NPsAg (nm)
Bactérie	1 - 500
Champignon	1,6 - 100
Levure	2 - 20
Algue	7 - 16
Plante	2 - 100

La production végétale est l'une des méthodes de remplacement à grande échelle les plus rentables et les plus précieuses pour la synthèse des NPsAg. Les chercheurs ont tenté de synthétiser des NPsAg de tailles et de formes variées à l'aide de différents extraits végétaux ayant une vaste gamme d'activités telles que l'activité antimicrobienne, anticancéreuse, antivirale et anticatalytique (Khan *et al.*, 2018).

I.2.2.3. Avantages et inconvénients des méthodes de synthèse

La synthèse chimique des NPsAg est l'une des plus utilisées. Avec cette méthode, le point faible est l'utilisation de beaucoup de solvants organiques délétères. Ces solvants ont une biocompatibilité plus basse qui limite leur application naturelle (Chauvel, 2018). Un certain nombre de rapports prévalant dans la littérature indiquent que la synthèse de NPs par des approches chimiques est peu écologique et coûteuse (Irvani *et al.*, 2014). Les méthodes chimiques sont également les plus simples à mettre en œuvre et sont à la base d'une grande partie de la production des nanomatériaux et nécessitent moins d'énergie que les autres procédés de synthèse des NPs (Djournessi Lekeufack, 2010).

En contraste, les techniques physiques n'utilisent pas de substances nocives pour la préparation des NPsAg, ainsi les NPs obtenues peuvent être non contaminées et pures. En général, les méthodes physiques sont rapides et permettent de produire des NPsAg de taille relativement petite (Chauvel, 2018). L'absence de contamination par les solvants dans les films minces préparés et l'uniformité de la distribution des NPs sont les avantages des méthodes de synthèse physique par rapport aux procédés chimiques. La synthèse physique des NPsAg à l'aide d'un four tubulaire à pression atmosphérique présente certains inconvénients, par exemple, le four tubulaire occupe un grand espace, consomme une grande quantité d'énergie tout en augmentant la température ambiante autour du matériau source et nécessite beaucoup de temps pour parvenir à la stabilité thermique. De plus, un four tubulaire typique nécessite une consommation d'énergie supérieure à plusieurs kilowatts et un temps de préchauffage de plusieurs dizaines de minutes pour atteindre une température de fonctionnement stable.

Il existe donc un besoin croissant de développer des procédés respectueux de l'environnement et de l'économie, qui n'utilisent pas de produits chimiques toxiques dans les protocoles de synthèse. Cela a conduit les chercheurs à se pencher sur les organismes (**Iravani et al., 2014**).

I.2.2.4. Usage des nanoparticules d'argent

En raison de leurs propriétés uniques, les NPsAg présentent un intérêt qui peut être incorporées dans les applications antimicrobiennes, les matériaux biocapteurs, les fibres composites, les matériaux supraconducteurs cryogéniques, les produits cosmétiques et les composants électroniques. Ces particules ont également de nombreuses applications dans différents domaines tels que l'imagerie médicale, les nano-composites, les filtres, l'administration de médicaments et l'hyperthermie tumorale. Les NPsAg ont été largement utilisées comme agents antimicrobiens dans l'industrie de la santé, l'entreposage des aliments, les revêtements textiles et un certain nombre d'applications environnementales (Tableau VI) (**Abbasi et al., 2016**).

Tableau VI : Utilisation des NPsAg dans les objets de la vie quotidienne (Savary, 2015).

Utilisation	Intérêt	Remarque
Textiles Chaussures	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs. Prévention des mycoses.	Les NPsAg sont introduites lors du filage ou de l'ennoblissement du textile.
Linge de maison. Literie.	Lutte contre les acariens.	
Compléments alimentaires.	Amélioration des défenses immunitaires	
Ustensiles de cuisine (planche à découper, couteau)	Hygiène.	Les NPsAg sont présentes dans les revêtements des ustensiles.
Biberons, tasses pour enfants, objets à mâcher.	Lutte contre la prolifération de germes pathogènes	
Boîtes de conservation.	Lutte contre le développement des moisissures Amélioration de la conservation des aliments	Les NPsAg sont mélangées au plastique.
Réfrigérateurs.	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs. Amélioration de la conservation des aliments.	Les NPsAg sont mélangées au plastique.
Lave-linge.	Meilleure désinfection du linge	Libération d'ions Ag ⁺ .
Réservoirs d'aspirateurs sans sac.	Lutte contre les bactéries à l'origine des mauvaises odeurs.	
Fers à friser, rasoirs, tondeuses à cheveux	Limitation de la prolifération de germes entre les clients.	Utilisation professionnelle.
Filtres de système de traitement de l'air.	Lutte contre les micro-organismes à l'origine des mauvaises odeurs émises au cours du fonctionnement.	Procédé disponible pour les habitations, les véhicules, les salles d'opération et pour certains bâtiments accueillant du public.
Traitement de l'eau.	Amélioration de la qualité du traitement si les NPsAg sont supportées sur des fibres de charbon actif Limitation de l'apparition d'un biofilm sur les parois des canalisations.	
Électronique (plastiques des claviers, des souris informatiques, des téléphones...)	Limitation de la prolifération de germes sur les surfaces.	Les NPsAg sont mélangées au plastique.
Peintures et vernis	Lutte contre les champignons et moisissures.	
Barres de maintien dans les métros en Asie.	Limitation de la prolifération de germes et des contaminations entre passagers.	
Encres.	Impression de structures conductrices.	Les encres sont utilisées dans les circuits imprimés, les panneaux photovoltaïques.
Filtres optiques.	Création de filtres optiques spécifiques.	Amélioration des caractéristiques.

I.2.2.5. Propriétés des nanoparticules d'argent

Les nanoparticules métalliques (NPs-Me) qui ont une surface spécifique élevée et une forte proportion d'atomes de surface, ont fait l'objet d'études approfondies en raison de leurs caractéristiques physicochimiques uniques, notamment leur activité catalytique, leurs propriétés optiques, leurs propriétés électroniques, leur activité antimicrobienne et leurs propriétés magnétiques (**Abbasi *et al.*, 2016**) qui ne sont pas présentes dans l'argent en vrac et qui sont censées avoir un grand potentiel pour des applications médicales (**Wijnhoven *et al.*, 2009**).

Il y a un intérêt croissant pour l'utilisation des propriétés optiques des NPsAg comme composante fonctionnelle dans divers produits et capteurs. Les NPsAg sont extraordinairement efficaces pour absorber et disperser la lumière.

Quand les NPs sont en solution, les molécules s'associent à la surface des NPs pour établir une double couche de charge qui stabilise les particules et empêche l'agrégation.

Les composés d'Ag se sont révélés efficaces contre les bactéries aérobies et anaérobies en précipitant les protéines cellulaires bactériennes et en bloquant la chaîne respiratoire microbienne. Avant l'avènement des NPsAg, le nitrate d'argent (AgNO_3) était un agent antibactérien efficace utilisé cliniquement.

Parmi les mécanismes d'action possibles :

- 1- Meilleur contact avec l'échelle nanométrique du micro-organisme, l'Ag a fourni une très grande surface de contact avec les bactéries. Les NPs se fixent à la membrane cellulaire et pénètrent également à l'intérieur des bactéries.
- 2- La mort cellulaire bactérienne peut être provoquée par l'Ag (NPs ou Ag^+) qui attaque la chaîne respiratoire des mitochondries (**Wijnhoven *et al.*, 2009**).

I.3. Activités biologiques

I.3.1. Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont causées par différents microorganismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues dans le monde. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, mais leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi-résistance bactérienne (ABDALLAH *et al.*, 2019). La résistance aux médicaments impose l'administration de fortes doses d'antibiotiques, générant souvent une toxicité intolérable. Cela a incité le développement de stratégies alternatives pour traiter les maladies bactériennes. Parmi eux, les matériaux à l'échelle nanométrique ont émergé en tant que nouveaux agents antimicrobiens (Hajipour *et al.*, 2012). En microbiologie, les NPs ont trouvé également leurs applications dans l'amélioration des antibiotiques vis-à-vis le phénomène de la résistance. Des études récentes ont montré que des constituants des NPs comme l'Ag, l'oxyde de zinc (ZnO), l'oxyde de cuivre (CuO) et l'oxyde ferrique (Fe₂O₃) ont des propriétés antibactériennes en particulier contre les bactéries Gram positif comme le *Staphylococcus aureus* et le *Bacillus subtilis* et contre les bactéries Gram négatif comme le *Pseudomonas aeruginosa* et l'*Escherichia coli* (Tableau VII) (Lemaoui *et al.*, 2017).

Parmi les NPs-Me, les NPsAg ont été largement utilisées comme agent antimicrobien efficace contre les bactéries, les champignons et les virus. Bien que le mécanisme d'action des NPsAg n'est pas encore clair, les NPsAg de petit diamètre ont un effet antimicrobien supérieur à ceux de plus grand diamètre. De plus, l'activité antibactérienne des NPsAg dépasse celle de leurs équivalents en vrac. L'Ag comme d'autres traitements non antibiotiques, a été presque abandonné lorsque la pénicilline et plus tard d'autres antibiotiques ont été découverts. Mais aujourd'hui, avec l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques, elle suscite un intérêt nouveau. Cependant, plusieurs points de controverse restent à résoudre.

De plus, les mécanismes bactéricides des NPsAg ne sont pas complètement compris. Chez *E. coli*, en tant que représentant des bactéries Gram négatives, les NPsAg détruisent la paroi cellulaire de la bactérie « Destruction physique », bloquent les enzymes respiratoires des bactéries, les aidants à assurer leur activité vitale, ce qui entraîne la perte de leur activité biologique et donc la mort du microorganisme. L'interaction des NPsAg avec un micro-organisme perturbe le mécanisme de division cellulaire et de réplication de l'ADN. Finalement, il a été suggéré que les NPsAg sont photocatalytique et peut induire les dérivés réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species ou ROS), une observation qui a été contredite par d'autres démontrant que, au moins dans les cellules eucaryotes, cet effet dépend du type cellulaire. Donc

les NPs ne tuent pas les bactéries, mais contribuent à leur mort lente et réduisent leur capacité de reproduction, créant ainsi un environnement qui empêche les agents pathogènes de survivre et de se reproduire (Fig.8).

Les NPsAg ont également des effets antibactériens synergiques sur les bactéries Gram positives et Gram négatives lorsqu'il est administré en association avec des antibiotiques.

Cependant, malgré les controverses et les débats en cours, les NPsAg sont peut-être les NP-Me antibactériennes les plus prometteuses (**Beyth et al., 2015**).

Tableau VII : Les souches bactériennes étudiées.

Famille	Bactéries	Habitat	Pouvoir pathogène	Diagnostic Bactériologique	Réf
Gram positive	<i>S. aureus</i>	Chez l'Homme porteur sain ou malade au niveau des fosses nasales, intestin, la peau ou des annexes glandulaires.	Infection nosocomiale. Intoxication alimentaires. Résistance aux antibiotiques.	Prélèvement des liquides biologiques. Isolement et identification directs de la bactérie.	(SOMIPEV, 2017)
	<i>B. subtilis</i>	S'adapter à de nombreux environnements (milieux terrestres, milieux aquatiques, flore intestinale).	Pathologies Inflammatoires (Otite, Méningite, Septicémie).	-Le diagnostic direct consiste en la mise en évidence de la bactérie elle-même après culture et isolement permettant son identification. -Le diagnostic indirect consiste en la mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques.	(BOUHAIRI, 2017)
Gram négative	<i>E.coli</i>	La microflore digestive de l'Homme et de la plupart des animaux à sang chaud.	Affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles.	Serotypes.	(Tronnet, 2017)
	<i>P.aeruginosa</i>	Les habitats aquatiques, les surfaces animées des plantes, des animaux et des humains.	Multiplés infections chez l'Homme qui varient de locales à systémiques et de bénignes à mortelles.	Isolement et identification. Cultures quantitatives.	(Klockgether, 2017)

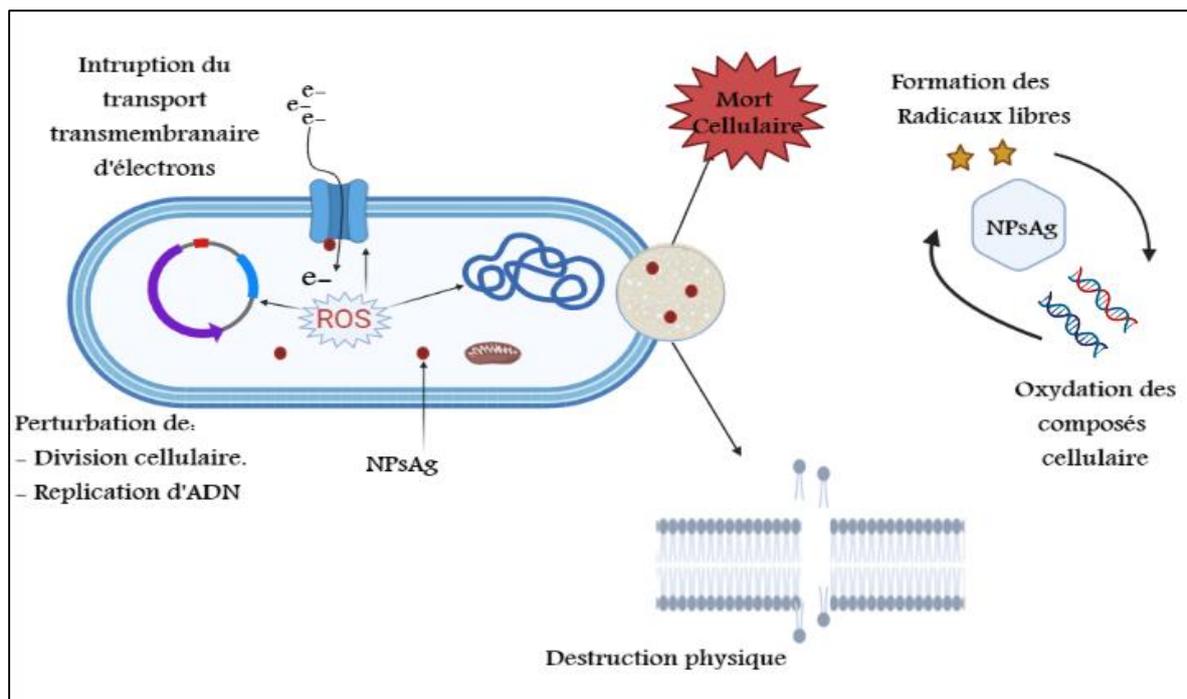


Fig.8: Schéma explicatif du mécanisme d'action des NPs contre les souches bactériennes.

I.3.2. Activité anti inflammatoire

L'inflammation est simplement le mécanisme de défense de l'organisme en répondant à des stimuli pour réparer et guérir tout signe de cellules ou de tissus endommagés. C'est pourquoi l'inflammation est un élément important de la réponse physiologique du système immunitaire, sans laquelle les infections et les lésions pourraient devenir mortelles (**Elsayed et Norredin, 2019**). Le traitement de ces troubles inflammatoires doit s'appuyer sur les cibles présentes dans les tissus malades. Pour obtenir l'effet thérapeutique désiré sur les cellules inflammatoires, il faut des doses élevées de médicaments qui peuvent parfois induire des effets indésirables sur les tissus sains. La recherche de nouveaux agents anti-inflammatoires devient populaire dans le but d'obtenir une plus grande sécurité, une meilleure efficacité et un moyen plus économique de traiter l'inflammation.

Grâce aux progrès de la nanotechnologie, les NPs formulées avec une biodisponibilité et des taux de libération améliorés peuvent potentiellement être un agent anti-inflammatoire qui réduit les doses requises tout en augmentant la sécurité et en réduisant les effets secondaires (**Elsayed et Norredin, 2019**). Les NPsAg sont présentes dans de nombreux objets de la vie quotidienne, elles améliorent la tolérance lors de la mise en place de prothèses osseuses et permettraient de lutter contre certaines maladies inflammatoires. Elles pourraient aussi entrer dans la composition de traitements anti-inflammatoires et de ceux de maladies immunologiques de type allergique (**Chauvel, 2018**).

I.3.3. Activité antioxydante

Le phénomène du stress oxydatif représente l'état où l'équilibre entre la défense antioxydante de la cellule et des molécules pro-oxydantes est perturbé par l'effet de l'excès de ces dernières. Il est induit par de nombreux facteurs (**BEDLOVIČOVÁ et al., 2020**). Par définition, l'activité antioxydante est la capacité d'un composé à inhiber la dégradation oxydative (peroxydation lipidique) (**Roginsky, 2005**). Un antioxydant agit en arrêtant l'oxydation en neutralisant les radicaux libres produits. Afin de neutraliser les radicaux libres, l'antioxydant lui-même subit une oxydation. Cette activité antioxydante peut être due aux constituants présents dans l'extrait végétal et présents sur la surface métallique (**Mittal et al., 2012**). Donc, les propriétés antioxydantes des nanoparticules d'argent dépendent de la composition chimique de l'extrait et il s'améliore habituellement avec l'augmentation de la concentration d'AgNPs. Si l'extrait est riche en composés phénoliques et en flavonoïdes, les nanoparticules montrent une activité de piquage élevée (**BEDLOVIČOVÁ et al., 2020**).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel Végétal

La récolte des parties aériennes de *Marrubium vulgare* a été effectuée durant le mois de mars 2021 dans la commune de Bourached à 18 Km de la willaya d'Ain Defla dans le nord-ouest de l'Algérie. L'identification de la plante est basée sur les clés de détermination de Quezel et Santa et Bonnie. La plante a été choisie grâce à sa disponibilité dans la région et ses propriétés médicinales, en arabe la plante est connue sous le nom de Meriwta (Fig.9).



Fig.9 : Photo réelle de la plante étudiée *Marrubium vulgare* (Haratym *et al.*,2017)

II.2.2. Matériel microbiologique

Les souches bactériennes qui ont été utilisées durant cette étude sont les suivantes : *Staphylococcus aureus* (ATCC19095), *Bacillus subtilis* (ATCC633), *Escherichia coli* (ATCC8739) et *Pseudomonas aeruginosa* (CNRISPA PS20).

II.2.3. Matériel non biologique

Tous les produits chimiques et les réactifs utilisés dans cette étude sont de qualité analytique.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de la plante

A l'état frais, les parties collectées ont été débarrassées de tous débris et lavées de la poussière avec de l'eau. Le matériel végétal a été mis à sécher à l'ombre pendant 15 jours à 20-25°C, puis broyé à l'aide d'un broyeur électronique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (Fig.10). La poudre par la suite a été conservée dans une boîte en verre couverte par un papier aluminium (à l'abri de la lumière).



Fig.10 : *Marrubium vulgare* sous forme d'une poudre

II.2.2. Préparation d'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare*

L'extraction a été réalisée par la méthode de macération à l'obscurité. 100 ml de l'éthanol 70° ont été ajoutés à 10 g de poudre de *Marrubium vulgare*, et ensuite placés sous agitation douce et continue pendant 72h à température ambiante (Annexe 02). Ces conditions assurent une macération homogène et une bonne imprégnation du matériel végétal dans l'alcool.

Le mélange a été filtré sous-vide par un dispositif de filtration à l'aide de papier Whatman (Annexe). Afin de préparer l'extrait à l'étape de la lyophilisation (Annexe 02), l'éthanol a été éliminé par évaporateur rotatif et l'extrait obtenu a été mis dans un flacon gradué (Annexe 02).

II.2.3. Dosage biochimique des composés phénoliques dans l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare*

II.2.3.1. Dosage des polyphénols

L'identification et la quantification des composés phénoliques ont été effectuées selon le protocole de Singleton et Rossi (1965) avec quelque modification en utilisant le réactif folin-ciocalteu.

1 mL d'une solution de Folin-Ciocalteu (diluée 10 fois) est ajouté à 200 μ L de l'extrait. 4 minutes après, 800 μ L d'une solution de carbonate de sodium (7,5 %) sont ajoutés au mélange. Après 2 h d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm. Une gamme étalon est préparée dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique à différentes concentrations pour l'établissement d'une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par millilitre par milligramme d'extrait sec. Le Protocole suivie pour déterminer le taux des polyphénols est résumé dans la figure suivante (Fig.11).

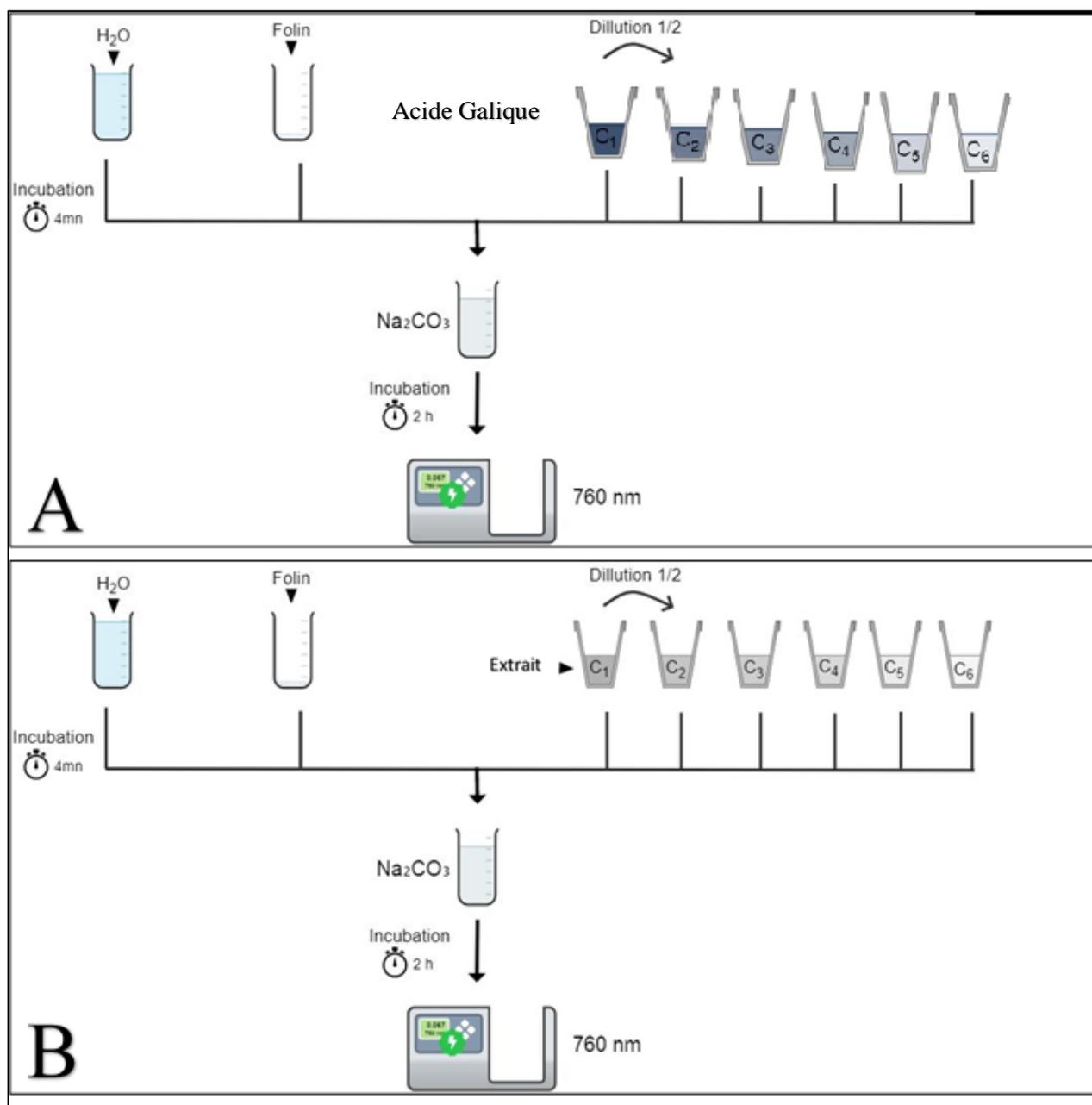


Fig.11 : Protocole de dosage des polyphénols totaux dans l'extrait hydroéthanolique de *Marrubium vulgare*. A : Protocol de solution d'étalonnage ; B : Protocol de dosage des polyphénols totaux dans l'extrait.

Na_2CO_3 : Carbonate de Sodium

II.2.3.2. Dosage des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits est déterminée par la méthode du chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) selon le protocole décrit par Bahorun *et al* (1996).

0.5 mL de la solution $AlCl_3$ (2 %) est ajouté à 0.5 mL de l'extrait hydroéthanolique de *M. vulgare*. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée contre un blanc à une longueur d'onde de 430 nm. La quercétine à différentes concentrations est utilisée dans les mêmes conditions que les échantillons pour la préparation d'une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par millilitre par milligramme d'extrait sec (Fig.12).

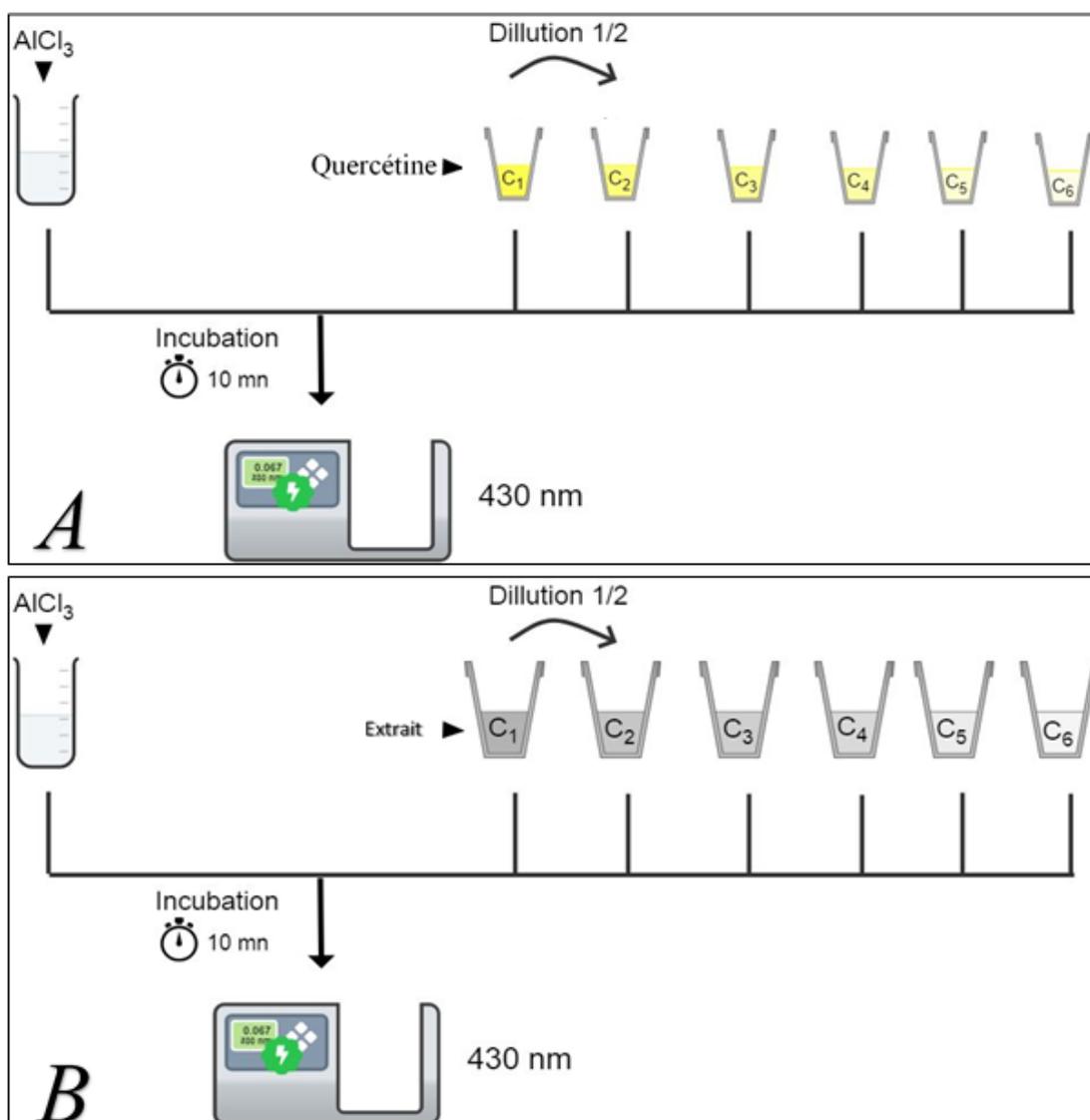


Fig.12 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux dans l'extrait hydroéthanolique de *Marrubium vulgare*. A : Protocol de solution d'étalonnage ; B : Protocol de dosage des flavonoïdes dans l'extrait.

II.2.4. Biosynthèse et caractérisation des nanoparticules d'argent

II.2.4.1. Préparation des Nanoparticules d'argent

Une solution aqueuse d'AgNO₃ a été préparée et utilisée pour la synthèse des NPsAg. 40ml d'extrait alcoolique des feuilles de *Marrubium vulgare* ont été ajoutés aux 160ml de la solution aqueuse d'AgNO₃ pour la réduction en Ag⁺. La préparation a été laissée sous agitation continue pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité.

L'extrait hydro-alcoolique a été centrifugé à 4000 rpm et à 4°C pendant 15 minutes (Annexe 02), puis lavé avec de l'eau distillée (Fig.13).

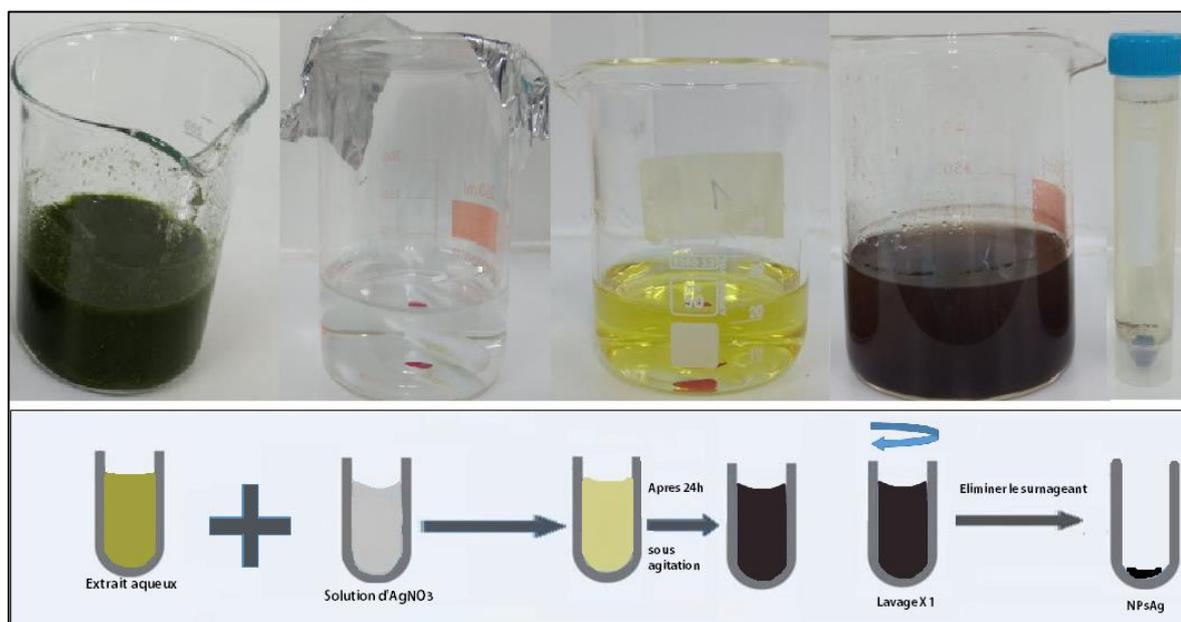


Fig.13 : Protocol de biosynthèse des NPsAg à base d'extrait de *Marrubium vulgare*.

II.2.4.2. Caractérisation des nanoparticules d'argent

I. Étude des propriétés optiques des nanoparticules d'argent

La formation des NPsAg a été vérifiée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible SPECROD®210 (Fig.14). Cette technique est la plus largement utilisée pour caractériser les NPs-Me en surveillant leur stabilité et leur synthèse. Les NPsAg synthétisés ont été placés dans un porte objet et insérés dans un spectrophotomètre UV-Vis, un balayage spectral a été réalisé entre 200 et 900 nm.

II. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Dans le cas du MEB, le faisceau d'électrons est une sonde mobile qui permet de balayer la surface d'un échantillon afin d'en obtenir une image ou de réaliser des mesures quantitatives sur la composition chimique de l'échantillon (FABRY, 2008).

II.2.5. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été évaluée *in vitro* sur des souches bactériennes de référence. Ces bactéries ont été conservées, et avant chaque utilisation, ont été pré-incubé sur des milieux de culture adéquats (à 37°C pendant 18-24h) (Annexe 02). Nous avons testé plusieurs méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne et nous avons opté à la méthode des puits celle qui a donné les meilleurs résultats.

Les suspensions bactériennes ont été préparées en ajoutant quelques colonies bactériennes au bouillon nutritif stérile jusqu'à l'obtention d'une suspension à une absorbance entre 0,08 et 0,13 à 625 nm (**Jehl et Cattoen, 2016**). Un ensemencement par écouvillonnage, en tournant à chaque fois la boîte (d'environ 60°), de telle sorte à assurer une distribution homogène de ces suspensions bactériennes, a été effectué sur des boîtes de Pétri préalablement coulée avec une gélose Mueller-Hinton. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, des puits de 6 mm de diamètres ont été introduits dans la gélose.

Les puits ont été rempli par des doses différentes de NPsAg (2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 et 0,0625 mg/ml). La Gentamicine (Genta) 10 µg/disque a été utilisée comme un contrôle positif. Après 24 heures d'incubation à 37°, le diamètre de la zone d'inhibition autour des puits a été mesuré et la sensibilité des souches a été déterminée par comparaison aux valeurs mentionnées dans le Tableau VIII.

Tableau VIII : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (**PONCE et al., 2003**).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	diamètre < 8mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	diamètre > 20 mm

Chapitre III

Résultats et Discussions

III. Résultats et Discussions

III.1. Evaluation du rendement de l'extraction

L'extraction éthanolique du *Marrubium vulgare* était indispensable afin d'avoir un rendement suffisant pour la biosynthèse des NPs.

Le rapport de la masse de la substance végétale extraite sur la quantité de la poudre végétale utilisée est défini comme étant le rendement (R) de l'extraction, exprimé en pourcentage (%).

$$\text{Rendement (R\%)} = \frac{\text{Masse de la substance extraite}}{\text{Masse de la poudre végétale}} \times 100\%$$

L'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* montre un rendement de 7,53% ce qui est supérieur à celui de Djahara (2014) qui est de 5,9%. Cette différence pourrait avoir plusieurs explications plausibles à l'instar de la période de récolte, les parties de la plante utilisées, la technique d'extraction employée...etc.

Une étude parue dans le Journal Algérien des produits naturels en 2014, a montré que l'extrait aqueux lyophilisé avait le rendement le plus élevé de 12,98 %, suivi par l'extrait méthanolique avec un rendement de 10,9% et la plus faible valeur de rendement obtenue est celle de l'extraction par l'éther de pétrole avec un rendement avoisinant les 2,1% . Cela peut être dû à la nature des solvants polaires et apolaires, vu que les solvants polaires comme l'éthanol ont la capacité de franchir la matrice végétale et de récupérer une grande quantité des métabolites contrairement aux solvants apolaires hydrophobes qui ne peuvent pas traverser le tissu végétal.

III.2. Dosage biochimique des composés phénoliques

III.2. 1. Dosage de phénols totaux

Les concentrations moyennes en phénols totaux dans l'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide galique en prenant les valeurs inférieures à 0,15 (l'équation standard de la courbe $y = 10,153x - 0,0083$; $R^2 = 0,9969$) (Annexe 01). La valeur moyenne des concentrations en phénols totaux dans l'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* est de 0,013 mg d'AG/ml/mg d'extrait sec $\pm 0,002$. Les résultats obtenus par Djahara (2014) montrent que les feuilles de cette espèce contiennent une teneur de l'ordre de 0,001708 (mg d'AG/ml d'extrait/mg d'extrait).

III.2. 2. Dosage des flavonoïdes

La quantité en flavonoïde dans l'extrait du *Marrubium vulgare* est déterminée à l'aide de l'équation de régression établis à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine en prenant les valeurs inférieure à 0,15, dans une gamme de concentrations allant de 0 à 0,55 mg/ml (l'équation standard de la courbe $y = 2,0316x + 0,0423$; $R^2 = 0,9927$) (Annexe 01). La valeur moyenne des concentrations en flavonoïde dans l'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* est de 0.0649 mg de quercétine/ml/mg d'extrait sec $\pm 0,0115$.

La composition biochimique de l'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* a été déterminée par une méthode colorimétrique. Chew *et al.*, (2011), ont rapporté que la température de l'extraction a un effet significatif ($p < 0,05$) sur la teneur en composés phénoliques. L'étude phytochimique réalisée par Djahara (2014) et Azi *et al.*, (2014) assurent que l'extrait hydroéthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare* renferme des flavonoïdes.

Les résultats de Bouterfas Karim et ses collaborateurs ont montré que la période de récolte ne change pas le fait que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles sèches soit plus riche en polyphénols totaux et flavonoïdes.

III.3. Evaluation de la biosynthèse des nanoparticules d'argent et leur caractérisation

III.3. 1. Evaluation visuelle de la biosynthèse des nanoparticules d'argent

La biosynthèse des NPsAg a été réalisée avec succès. Une solution jaunâtre a été observée après l'ajout de l'extrait hydroéthanolique à la solution d'AgNO₃. La couleur a viré par la suite au brun foncé. Cette variation de couleur a été considérée comme le premier indice d'une biosynthèse réussie des NPsAg ce qui est déjà démontré dans le travail de Khattak *et al.*, 2019 et Shankar *et al.*, 2003 (Fig.14). Selon le travail de Shabir Ahmad *et al.*, (2019) les plantes ont été utilisées souvent dans la biosynthèse des NPs. Ceci est dû au fait que les composés phytochimiques présents dans les plantes montrent une réduction et une stabilisation plus grandes. Les résultats indiquent la présence de polyphénols, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de terpénoïdes, d'hydrates de carbone et de stéroïdes. Les composés phénoliques semblent être les incriminés essentiels dans la réduction de l'AgNO₃ en NPsAg.

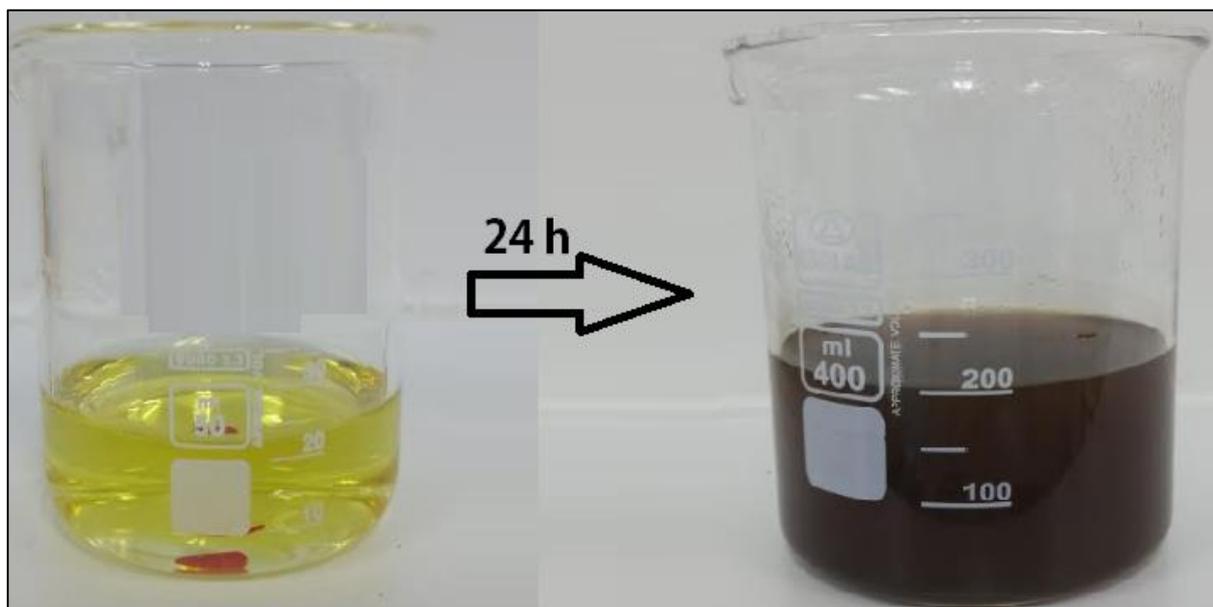


Fig.14 : Observation visuelle du changement de couleur après 24h à l'obscurité.

III.3.2. Evaluation des propriétés optiques des nanoparticules d'argent

Les électrons libres qui se trouvent au niveau des NPs-Me, produisent une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface (SPR), en raison de la vibration mutuelle des électrons des NPs-Me en résonance avec l'onde lumineuse. Les apparitions des pics montrent les caractéristiques de SPR des NPsAg (ANANDALAKSHMI *et al.*, 2016).

Ces vibrations sont spécifiées par la taille et la forme des particules d'Ag. Par conséquent, la spectroscopie UV-VIS peut être utilisée comme technique de caractérisation qui fournit des informations sur la taille et la forme des particules d'Ag. Les petites sphères d'Ag (10-50 nm) ont généralement un petit pic d'absorbance proche d'un max de 400 nm, tandis que les sphères plus grandes (100-220 nm) donnent un pic plus large avec un max qui se déplace vers des longueurs d'onde plus longues, proches de 500 nm (DE LEERSNYDER *et al.*, 2020).

L'analyse spectrophotométrique UV-Vis est utilisée pour suivre et confirmer la formation de NPsAg. Comme expliqué auparavant, des petites NPsAg donnent une bande de SPR étendue dans la gamme de longueur d'onde de 300-900 nm avec un pic positionné autour de 420 nm (Fig.15). La caractérisation faite par Muniyappan *et al.*, (2014) a démontré que la synthèse des NPsAg a été confirmée en mesurant les spectres UV-Vis qui est considérée comme une technique très utile pour analyser la formation des NPs et la stabilité des NPs-Me entre 250 et 800 nm. L'absorbance maximale (λ_{max}) détectée par l'auteur est d'environ 439 nm qui est similaire à notre résultat.

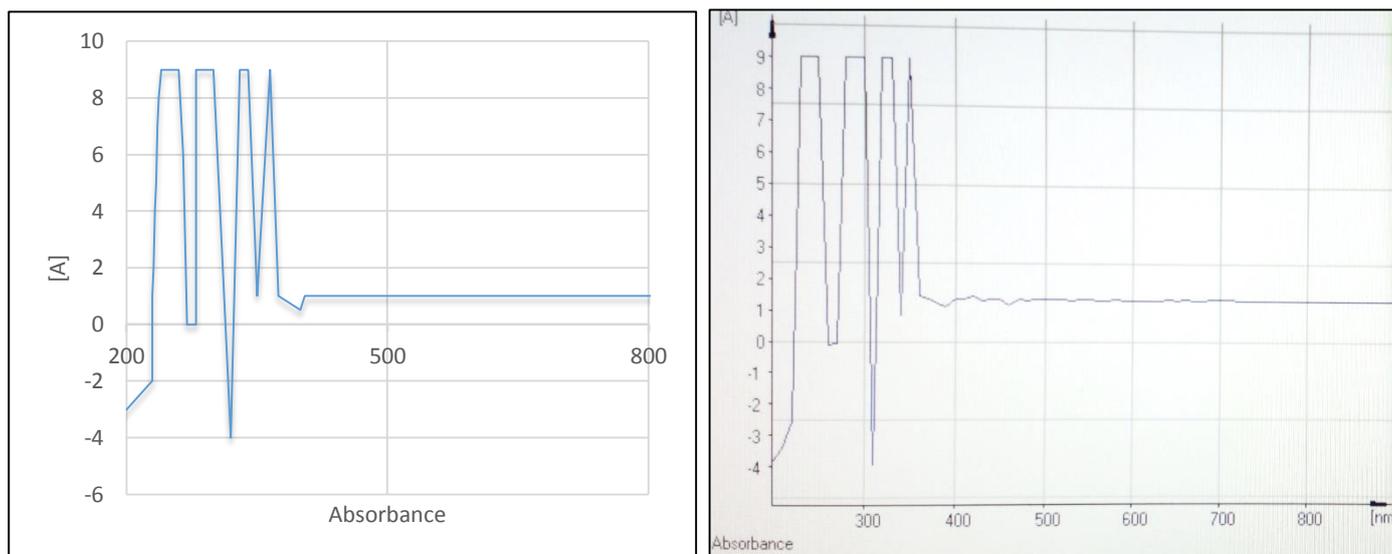


Fig.15 : Spectres d'absorbance obtenus par balayage spectral au moyen d'un spectrophotomètre.

De Leersnyder *et al.*, (2020) ont prouvé que les NPs avec une absorbance de 400 nm sont de tailles variables allant de 10 à 50 nm et les NPs avec une absorbance de 500 nm sont de taille entre 100 et 200nm, à la lumière de ces résultats et ceux obtenus dans notre étude, nous concluons que la taille des NPsAg biosynthétisées à partir de l'extrait hydroéthanolique du *Marrubium vulgare* peut être de 10-100nm.

III.3.3. Evaluation de la morphologie des nanoparticules d'argent par microscopie électronique à balayage

L'analyse par MEB des NPsAg a révélé la morphologie des NPs (Fig.16). Les NPs apparaissent agrégées et ont des formes sphériques. La formation des NPsAg métalliques a été confirmée par ces résultats. Dk *et al.*, 2020 ont signalé que les NPsAg synthétisées à partir d'extrait de plantes, évaluées par MEB sont de forme sphérique créant des assemblages.

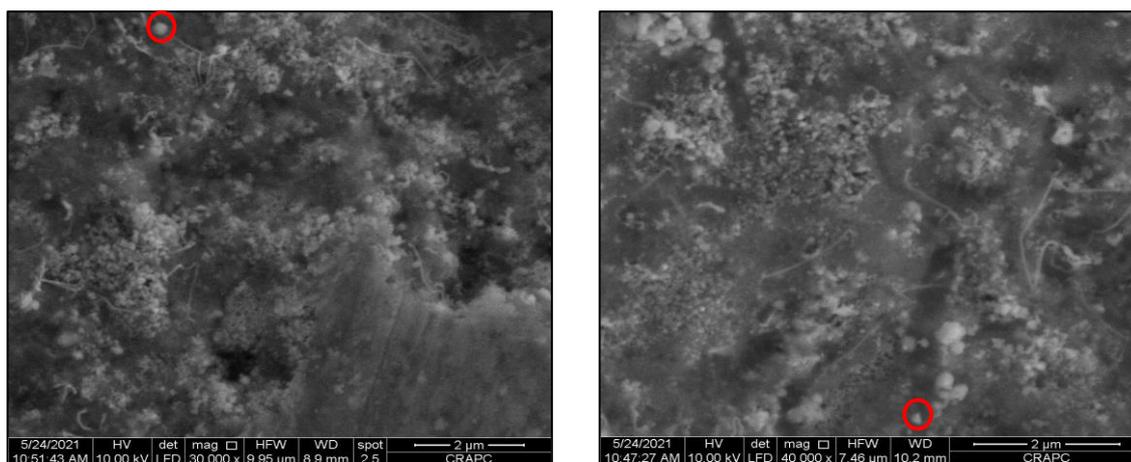


Fig.16 : Images par microscope électronique à balayage des nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir d'extrait d'une plante à différents grossissements ($\times 30000$; $\times 40000$).

III.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent

Le test de sensibilité bactérienne vis-à-vis des quatre antibiotiques testés nous a montré que les quatre souches étudiées sont sensibles à la Genta. Pour cela elle a été choisie comme un contrôle positif dans le test d'activité antibactérienne des NPsAg (Annexe 02).

L'effet antibactérien des NPsAg contre les bactéries gram-positives, y compris *S. aureus* et *B. subtilis*, et les bactéries gram-négatives, y compris *E. coli* et *P. aeruginosa*, a été étudiée par la méthode des puits. Les NPsAg biosynthétisées en utilisant l'extrait de *Marrubium vulgare* ont eu des effets antibactériens différents caractérisés par les diamètres de la zone d'inhibition de la croissance de ces souches. L'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits confirme l'effet antibactérien des NPsAg biosynthétisées.

Parmi les souches à gram négatifs, *E. coli* a une meilleure sensibilité avec des zones d'inhibition entre 19,00 et 11,00 mm à des concentrations des NPsAg entre 2,00 et 0,0625 mg/ml respectivement, alors que, *P. aeruginosa* a donné des zones d'inhibition entre 16,00 et 09,00 mm pour les concentrations précédentes respectivement.

En outre, les souches à gram positifs ont donné des zones d'inhibition entre 16,00 et 3,00 mm pour *B. subtilis* avec les mêmes concentrations des NPsAg respectivement (Fig.18) et entre 11,00 et 9,00 mm pour *S. aureus* avec des concentrations des NPsAg 1 et 0,5 mg/ml respectivement.

Il ressort de notre étude qu'avec une augmentation de la concentration des NPsAg biosynthétisées, la zone d'inhibition a été augmentée contre toutes les souches bactériennes testées. Toutefois, la concentration au-dessus de 0,125 mg/ml a montré soit une zone à faible diamètre ou aucun diamètre (Fig.17).

Selon l'étude de Khodadadi (2021), les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Vaccinium arctostaphylos* et ses NPsAg synthétisées ont montré que les NPs dans les concentrations utilisées avaient des effets antibactériens plus forts que l'extrait lui-même.

Plusieurs études menées sur l'activité antibactérienne des NPsAg biosynthétisées ont montré une activité antibactérienne significative contre *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. coli* (Tran *et al.*, 2013 ;Das *et al.*, 2019). Il a été rapporté par Singh *et al.* en 2008, que l'effet antibactérien était plus prononcé contre les bactéries à Gram négatif que contre les bactéries à Gram positif.

Toutefois, les résultats de l'étude de Tran *et al.*, (2013) et ceux obtenus dans notre étude a clairement indiqué que les NPsAg synthétisées avaient une action antibactérienne contre les microorganismes Gram positif et Gram négatif. Cependant, le mécanisme détaillé de l'effet antibactérien des NPsAg n'est pas encore clair, il doit faire l'objet d'études plus poussées.

En général, le mécanisme de l'activité antibactérienne des NPsAg est lié à leur capacité à traverser les membranes cellulaires et à la façon dont elles affectent les composants cellulaires tels que l'ADN, les protéines et autres, qui perturbent finalement la réplication de l'ADN et l'activité des protéines et des enzymes bactériennes, conduisant à la mort bactérienne (Khodadadi *et al.*, 2021).

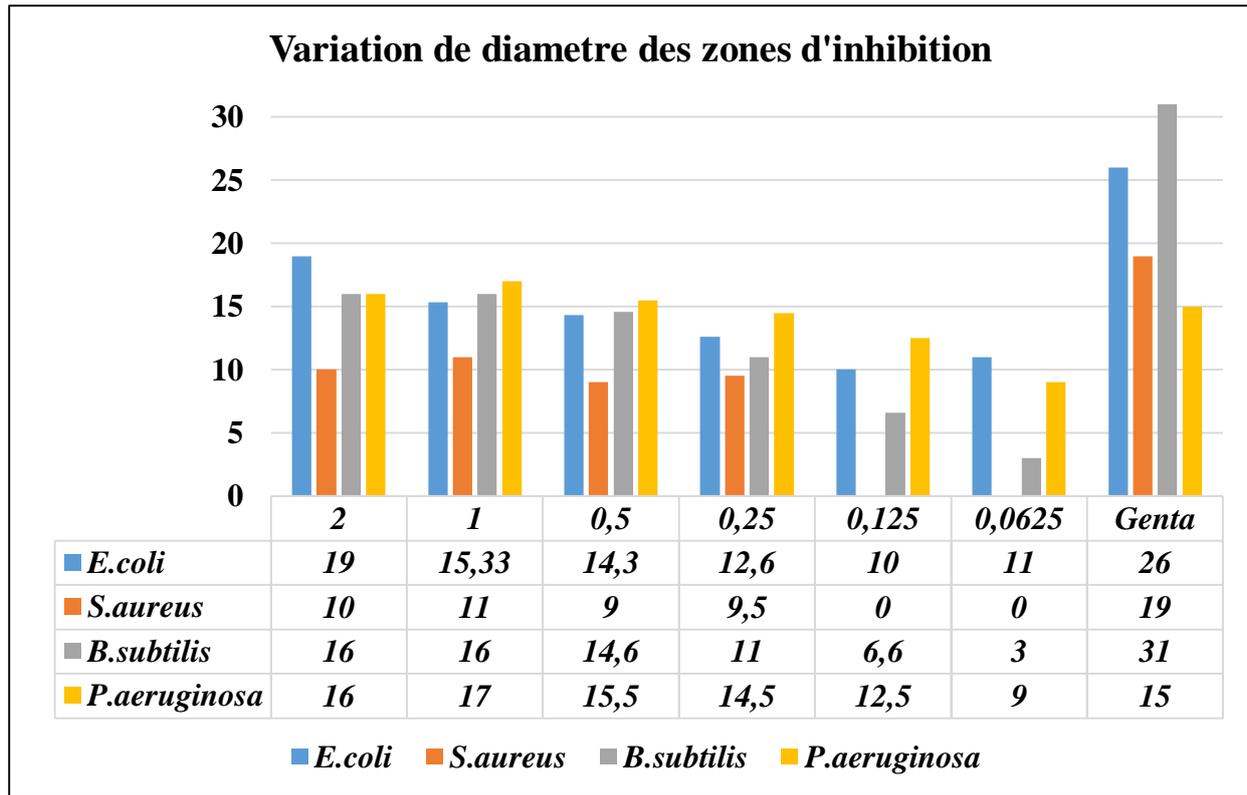


Fig.17 : Histogrammes et tableau des zones d’inhibition des NPsAg.

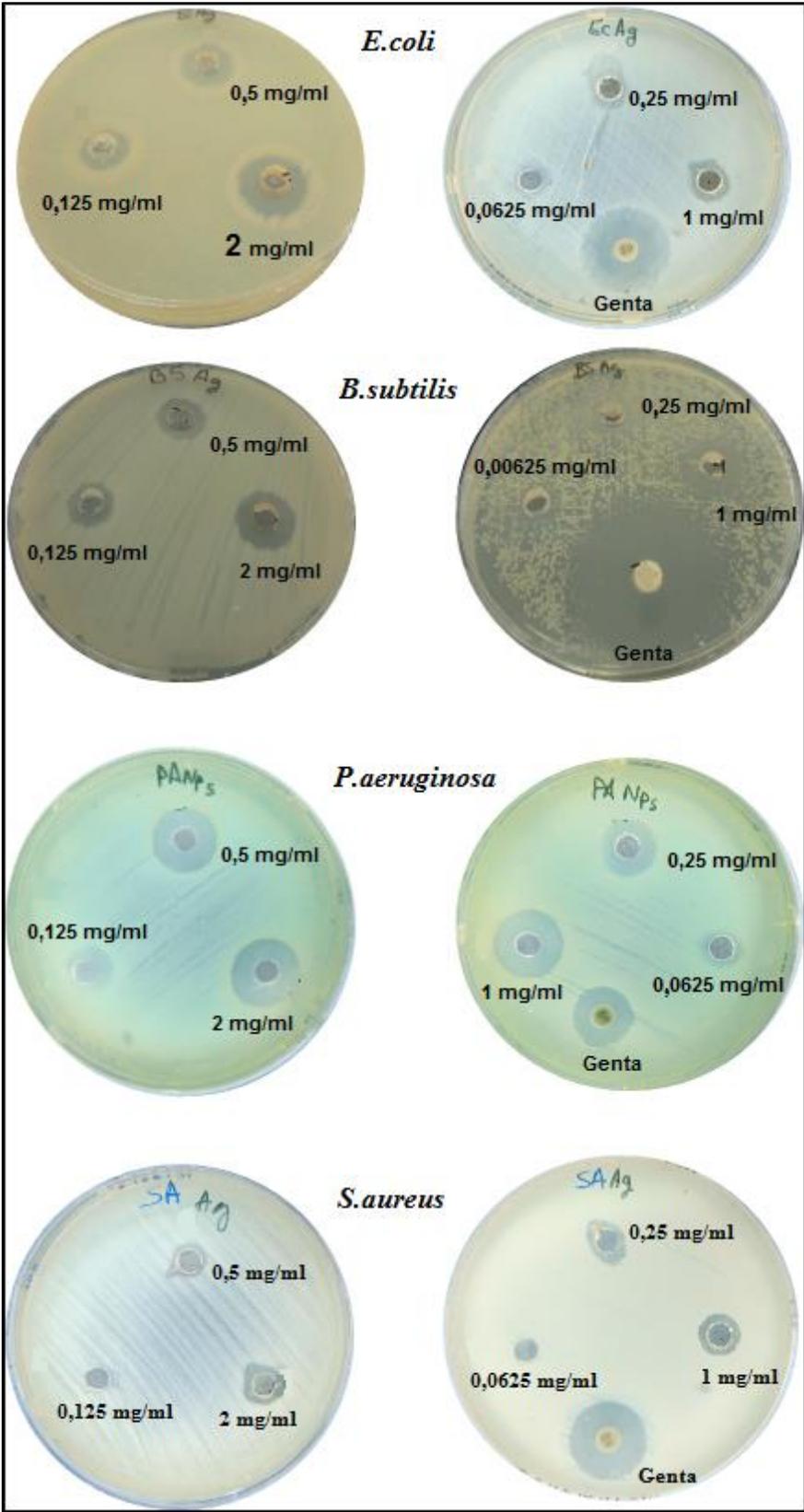
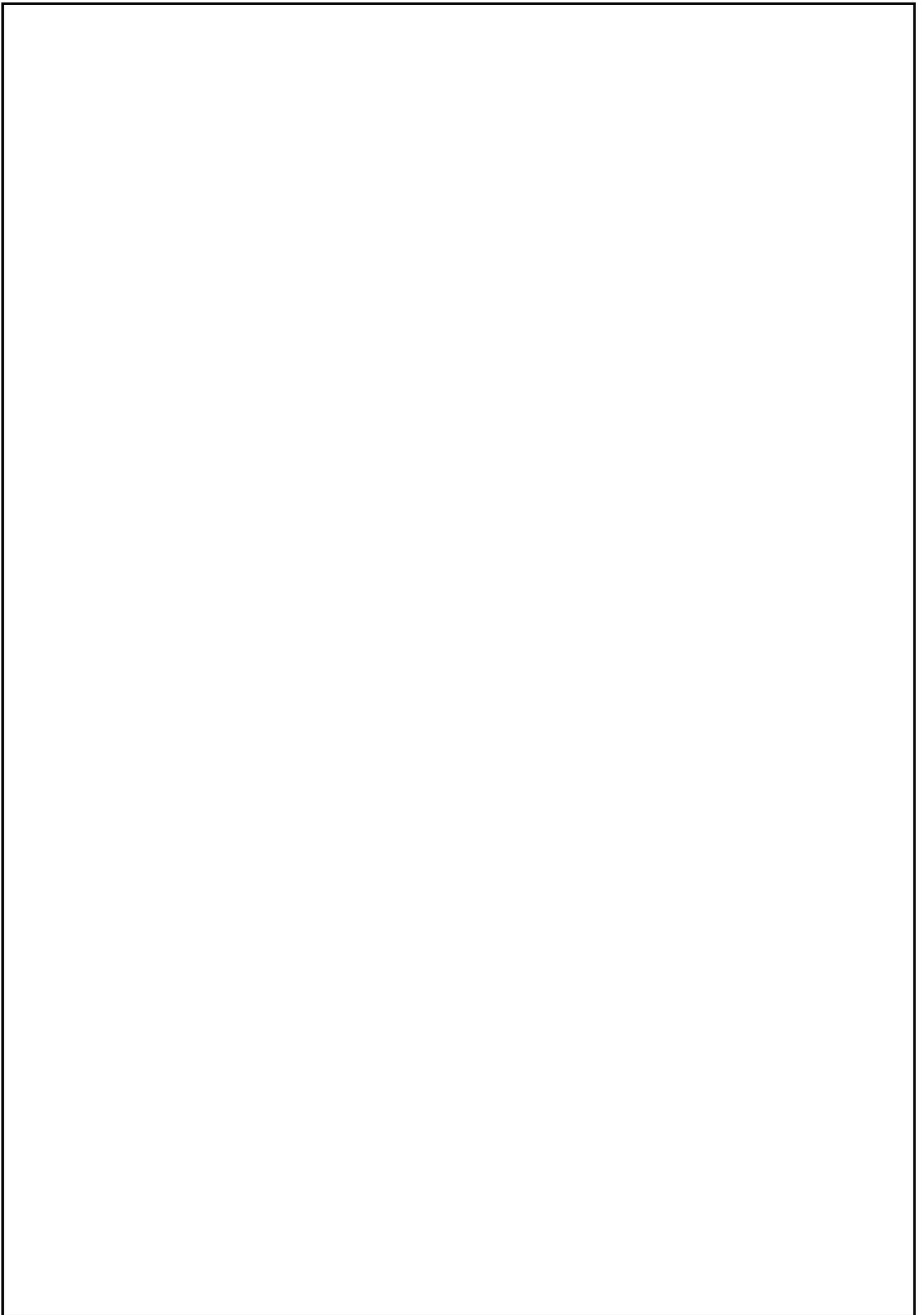


Fig.18 : Observation réelle des résultats de l'activité antibactérienne de la méthode des puits



Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de ce travail est d'utiliser une plante ; de la richesse naturelle Algérienne ; dans une nouvelle voie de synthèse de NPsAg respectueuse de l'environnement et de l'économie en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques.

La macération des feuilles du *Marrubium vulgare* nous a permis d'obtenir un bon rendement en termes d'extrait brut sec (7,53%). La présence de deux groupes de composés polyphénoliques appartenant à des familles potentiellement actives, les flavonoïdes et les phénols totaux pourrait justifier l'utilisation massive de cette plante en médecine traditionnelle.

Les méthodes de biosynthèse des NPs offrent une nouvelle possibilité pour synthétiser facilement des NPs en utilisant des agents réducteurs et stabilisants naturels (les extraits de feuilles végétales). Par conséquent, aucun réactif chimique n'est requis dans cette méthode, ce qui rend le procédé écologique et peut être facilement utilisé pour des applications cosmétiques et pharmaceutiques. Le changement de couleur observé après l'interaction du sel avec l'agent réducteur est le premier signe de la formation des NPs, la plupart des particules produites sont de forme sphérique et absorbent à une longueur d'onde de 420 nm. La présente étude a montré l'efficacité de l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* comme une bonne source en agents réducteurs pour la synthèse verte des NPsAg.

Les NPsAg ont suscité un intérêt considérable en raison de leurs propriétés uniques et de leur applicabilité prouvée dans divers domaines tels que la médecine, la catalyse, l'ingénierie textile, la biotechnologie, la nanobiotechnologie, les sciences de la bio-ingénierie, l'électronique, l'optique et le traitement de l'eau. Ces NPs ont des effets inhibiteurs significatifs contre les agents pathogènes bactériens et sont largement utilisées comme agents antibactériens, ce qui est confirmé dans notre étude sur *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* et *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibition significatives.

En perspectives certains points restent à approfondir, il serait donc intéressant de compléter cette étude par :

- Un profil de DRX afin de montrer l'information structurale et la nature cristalline des NPsAg synthétisées.
- Il est également souhaitable d'étendre l'étude antimicrobienne à d'autres micro-organismes.
- L'étude des activités anti-inflammatoire et antioxydante des NPsAg biosynthétisées.

- Réalisation d'une application à l'échelle médicale afin de mener au bien être de l'Homme et tiré profit de toutes les caractéristiques bénéfiques des nanoparticules d'Ag dans les divers domaines.

Références

Liste des références bibliographiques

ABBASI, E., MILANI, M., FEKRI AVAL, S., KOUHI, M., AKBARZADEH, A., TAYEFI NASRABADI, H., NIKASA, P., JOO, S. W., HANIFEHPOUR, Y. & NEJATI-KOSHKI, K. 2016. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. *Critical reviews in microbiology*, 42, 173-180.

ABDALLAH, R., FRIKHA, D. & SASSI, S. M. E. S. 2019. Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 38.

AĆIMOVIĆ, M., JEREMIĆ, K., SALAJ, N., GAVARIĆ, N., KIPROVSKI, B., SIKORA, V. & ZEREMSKI, T. 2020. Marrubium vulgare L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Molecules*, 25, 2898.

AHMAD, S., MUNIR, S., ZEB, N., ULLAH, A., KHAN, B., ALI, J., BILAL, M., OMER, M., ALAMZEB, M. & SALMAN, S. M. 2019. Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. *International journal of nanomedicine*, 14, 5087.

ALMATROUDI, A. 2020. Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open Life Sciences*, 15, 819-839.

ANANDALAKSHMI, K., VENUGOBAL, J. & RAMASAMY, V. 2016. Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using Pedalium murex leaf extract and their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*, 6, 399-408.

Azzi, R., Lahfa, F. and Djaziri, R., 2014. Phytochemical, antihyperglycemic and antihyperlipidemic study of crude hydroalcoholic extract of aerial parts of Marrubium vulgare L. in normal and streptozotocin induced-diabetic Wistar rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(5), p.2006.

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.

BADILLO, P.-Y. 2012. Les nanotechnologies : un nouveau paradigme.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforsch* 46, 1086–1089.

BARKALINA, N., CHARALAMBOUS, C., JONES, C. & COWARD, K. 2014. Nanotechnology in reproductive medicine: emerging applications of nanomaterials. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10, e921-e938.

BEDLOVIČOVÁ, Z., STRAPÁČ, I., BALÁŽ, M. & SALAYOVÁ, A. 2020. A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25, 3191.

BELHATTAB, R., LAROUS, L., FIGUEIREDO, A. C., SANTOS, P. A., COSTA, M. M., BARROSO, J. G. & PEDRO, L. G. 2006. Essential oil composition and glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. growing wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 369-373.

BEYTH, N., HOURI-HADDAD, Y., DOMB, A., KHAN, W. & HAZAN, R. 2015. Alternative Antimicrobial Approach: Nano-Antimicrobial Materials. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

BONNIER, G., DOUIN, R. & POINSOT, J. 1990. [*La grande flore en couleurs*]; *La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier: France, Suisse, Belgique et pays voisins*, Belin.

BOUHAIRI, S. 2017. *Bacillus subtilis* Caracteres et applications. 134.

CHAUVEL, R. 2018. *Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique*.

CHEW, K., KHOO, M., NG, S., THOO, Y. Y., AIDA, W. W. & HO, C. W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18, 1427.

CHUTO, G. & CHAUMET-RIFFAUD, P. 2010. Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire*, 34, 370-376.

CROZIER, A., CLIFFORD, M. N. & ASHIHARA, H. 2008. *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*, John Wiley & Sons.

DAS, P., GHOSAL, K., JANA, N. K., MUKHERJEE, A. & BASAK, P. 2019. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using belladonna mother tincture and its efficacy as a potential antibacterial and anti-inflammatory agent. *Materials Chemistry and Physics*, 228, 310-317.

DE LEERSNYDER, I., RIJCKAERT, H., DE GELDER, L., VAN DRIESSCHE, I. & VERMEIR, P. 2020. High variability in silver particle characteristics, silver concentrations, and production batches of commercially available products indicates the need for a more rigorous approach. *Nanomaterials*, 10, 1394.

DJAHRA, B. 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar de Annaba, Département de Biologie).

DJOURMESSI LEKEUFACK, D. E. 2010. *Synthèse et fonctionnalisation des nanoparticules d'or pour des applications en optique: perspective en photocatalyse*. Lyon 1.

Dk, A., Adeluola, A.O., Akinbile, M.J. and Johnson, O.O., 2020. Green synthesis of Ag, Zn and Cu nanoparticles from aqueous extract of *Spondias mombin* leaves and evaluation of their antibacterial activity.

ELSAYED, M. A. & NORREDIN, A. 2019. The Potential Contribution of Nanoparticles in the Treatment of Inflammatory Diseases. *Translational Studies on Inflammation*. IntechOpen.

FABRY, C. 2008. *Etude structurale par microscopie électronique et cristallographie aux rayons x de la capsid des adenovirus*. Université Joseph-Fourier-Grenoble I.

GHEADADBA, N., HAMBABA, L., ABERKANE, M., OUELD-MOKHTAR, S., FERCHA, N. & BOUSSELSA, H. 2014. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2, 64-74.

HAIPOUR, M. J., FROMM, K. M., ASHKARRAN, A. A., DE ABERASTURI, D. J., DE LARRAMENDI, I. R., ROJO, T., SERPOOSHAN, V., PARAK, W. J. & MAHMOUDI, M. 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 30, 499-511.

Haratym, W. and Weryszko-Chmielewska, E., 2017. Ultrastructural and histochemical analysis of glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Flora*, 231, pp.11-20.

Hebeish, A., El-Rafie, M.H., El-Sheikh, M.A., Seleem, A.A. and El-Naggar, M.E., 2014. Antimicrobial wound dressing and anti-inflammatory efficacy of silver nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 65, pp.509-515.

HORIKOSHI, S. & SERPONE, N. 2013. *Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons.

IRAVANI, S., KORBKANDI, H., MIRMOHAMMADI, S. V. & ZOLFAGHARI, B. 2014. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9, 385.

Jehl, F. and Cattoen, C., 2016. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2016. V1. 0 Février, p.117.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A. & STEVENS, P. 2002. *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*, De Boeck Supérieur.

KHALID, K., TAN, X., MOHD ZAID, H. F., TAO, Y., LYE CHEW, C., CHU, D.-T., LAM, M. K., HO, Y.-C., LIM, J. W. & CHIN WEI, L. 2020. Advanced in developmental organic and inorganic nanomaterial: a review. *Bioengineered*, 11, 328-355.

KHAN, S. U., SALEH, T. A., WAHAB, A., KHAN, M. H. U., KHAN, D., KHAN, W. U., RAHIM, A., KAMAL, S., KHAN, F. U. & FAHAD, S. 2018. Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. *International journal of nanomedicine*, 13, 733.

Khattak, A., Ahmad, B., Rauf, A., Bawazeer, S., Farooq, U., Ali, J., Patel, S., El-Sharkawy, E.R., Ikram, R. and Linfang, H., 2019. Green synthesis, characterisation and biological evaluation of plant-based silver nanoparticles using *Quercus semecarpifolia* Smith aqueous leaf extract. *IET nanobiotechnology*, 13(1), pp.36-41.

KHODADADI, S., MAHDINEZHAD, N., FAZELI-NASAB, B., HEIDARI, M. J., FAKHERI, B. & MIRI, A. 2021. Investigating the Possibility of Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Vaccinium arctostaphylos* Extract and Evaluating Its Antibacterial Properties. *BioMed Research International*, 2021.

KLOCKGETHER, J. & TÜMMLER, B. 2017. Recent advances in understanding *Pseudomonas aeruginosa* as a pathogen. *F1000Research*, 6.

KRUG, H. F. & WICK, P. 2011. Nanotoxicology: an interdisciplinary challenge. *Angewandte Chemie International Edition*, 50, 1260-1278.

KUMAR, N. & GOEL, N. Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* [Internet]. 2019 [cited 2020 March 1]; 24: e00370.

LEE, S. H. & JUN, B.-H. 2019. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *International journal of molecular sciences*, 20, 865.

LEMAOUI, C.-E., LAYAIDA, H., BADI, A. & FOU DI, N. 2017. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 19, 12-19.

MENDONÇA, R., CARVALHO, N., MARTIN-MORENO, J., PIMENTA, A., LOPES, A., GEA, A., MARTINEZ-GONZALEZ, M. & BES-RASTROLLO, M. 2019. Total polyphenol intake, polyphenol subtypes and incidence of cardiovascular disease: The SUN cohort study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29, 69-78.

Mittal, A.K., Kaler, A. and Banerjee, U.C., 2012. Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from Flower Extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomedicine & Engineering*, 4(3).

MUNIYAPPAN, N. & NAGARAJAN, N. 2014. Green synthesis of silver nanoparticles with *Dalbergia spinosa* leaves and their applications in biological and catalytic activities. *Process biochemistry*, 49, 1054-1061.

MYRIAM RICAURD & OLIVIER WITSCHGER 2012. les nano-matériaux, Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention,. *Institu national de recherche et de sécurité (INRS)*.

OZENDA, P. 2004. Flore et végétation des sahara. 3ème Ed, 399 -402.

Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.

PONCE, A., FRITZ, R., DEL VALLE, C. & ROURA, S. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 679-684.

QUEZEL, P. & SANTA, S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

RABU, P. 2019. Nanomatériaux, nanotechnologies: quel nanomonde pour le futur? *Chimie, nanomatériaux et nanotechnologies*.

ROGINSKY, V. & LISSI, E. A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92, 235-254.

SAINI, R., SAINI, S. & SHARMA, S. 2010. Nanotechnology: the future medicine. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*, 3, 32.

SAVARY, B. 2015. Nanoargents: de la production à l'utilisation, quels sont les risques? *Hygiène et sécurité du travail*, 58-62.

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

SINGH, M., SINGH, S., PRASAD, S. & GAMBHIR, I. 2008. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3, 115-122.

Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetric of total phenolic with phosho-molybdic-phospho-tungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16, 144–158.

SOMIPEV 2017. Guide pratique des bactéries pathogènes 54-56.

SOW, M. 2013. *Surfaces fonctionnalisées à base de nanoparticules métalliques pour l'optique et la photonique*. Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

TRAN, T. T. T., VU, T. T. H. & NGUYEN, T. H. 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Tithonia diversifolia* leaf extract and their antimicrobial activity. *Materials Letters*, 105, 220-223.

TRONNET, S. 2017. *Régulation par le fer et rôle de la colibactine dans la colonisation du tube digestif par Escherichia coli*. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

Tyavambiza, C., Elbagory, A.M., Madiehe, A.M., Meyer, M. and Meyer, S., 2021. The Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of Silver Nanoparticles Synthesised from *Cotyledon orbiculata* Aqueous Extract. *Nanomaterials*, 11(5), p.1343.

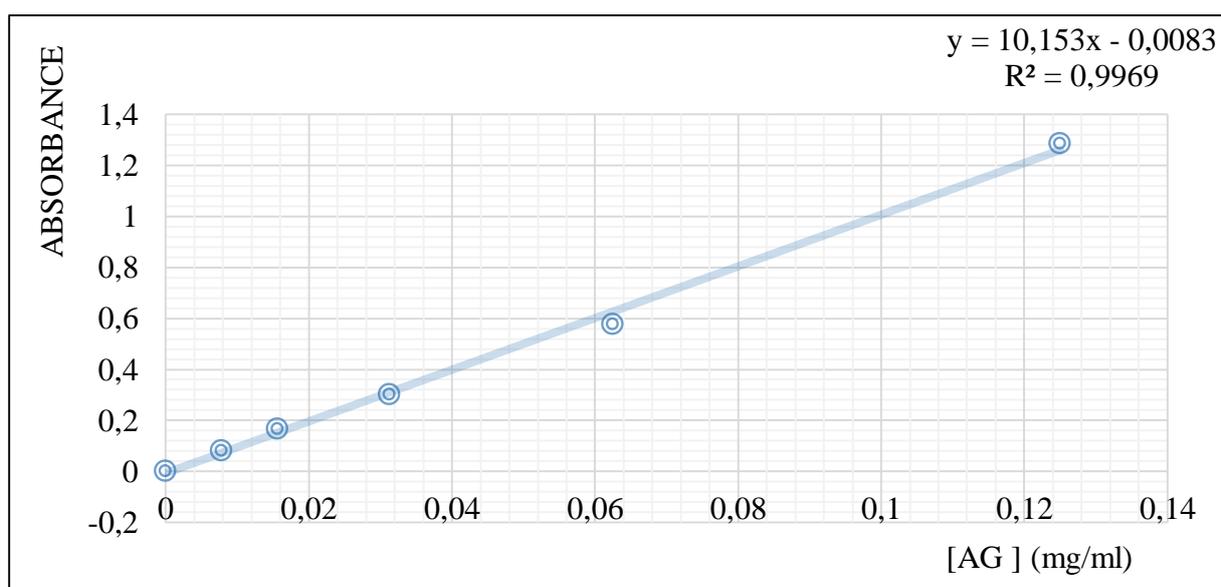
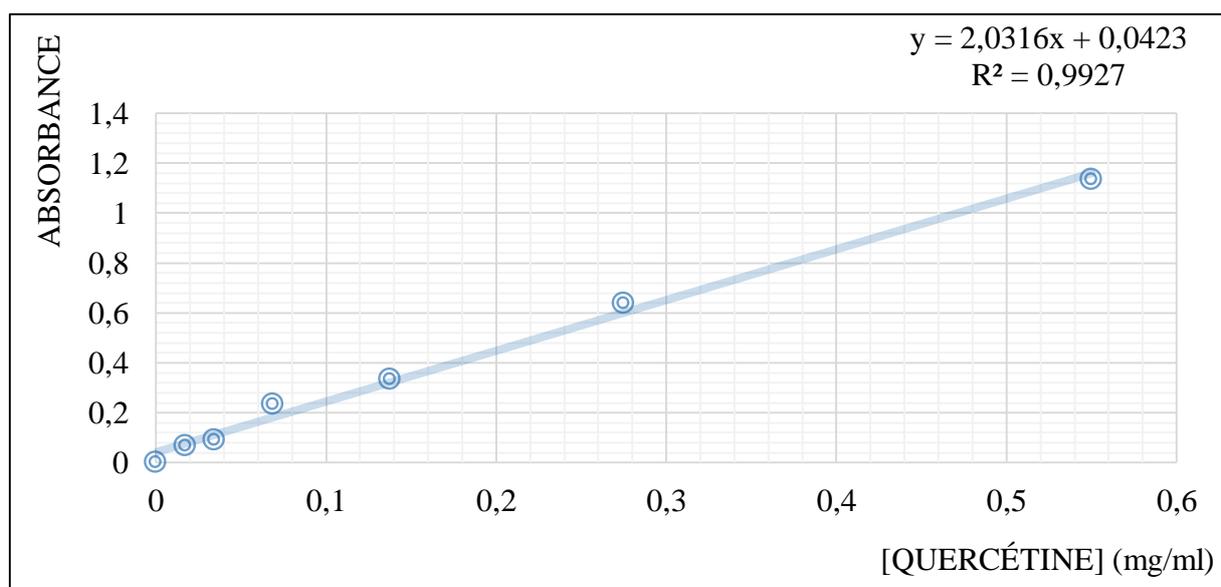
WIJNHOFEN, S. W., PEIJNENBURG, W. J., HERBERTS, C. A., HAGENS, W. I., OOMEN, A. G., HEUGENS, E. H., ROSZEK, B., BISSCHOPS, J., GOSENS, I. & VAN DE MEENT, D. De Jong, Maaïke van Zijverden, Adriëne JAM Sips, and Robert E. Geertsma. 2009." Nano-Silver—A Review of Available Data and Knowledge Gaps in Human and Environmental Risk Assessment.". *Nanotoxicology*, 3, 109-38.

YABRIR, B. 2019. Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and biological activities. A review. *Natural Product Sciences*, 25, 81-91.

YEZHELYEV, M. V., GAO, X., XING, Y., AL-HAJJ, A., NIE, S. & O'REGAN, R. M. 2006. Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *The lancet oncology*, 7, 657-667.

Annexes

Annexe 01

**Fig.1** : Courbe d'étalonnage établie avec l'acide galique.**Fig.2** : Courbe d'étalonnage établie avec la quercétine.

Annexe 02



Fig.1 : Photo réel d'un Agitateur magnétique



Fig.2: Photo réel de Dispositifs de filtration

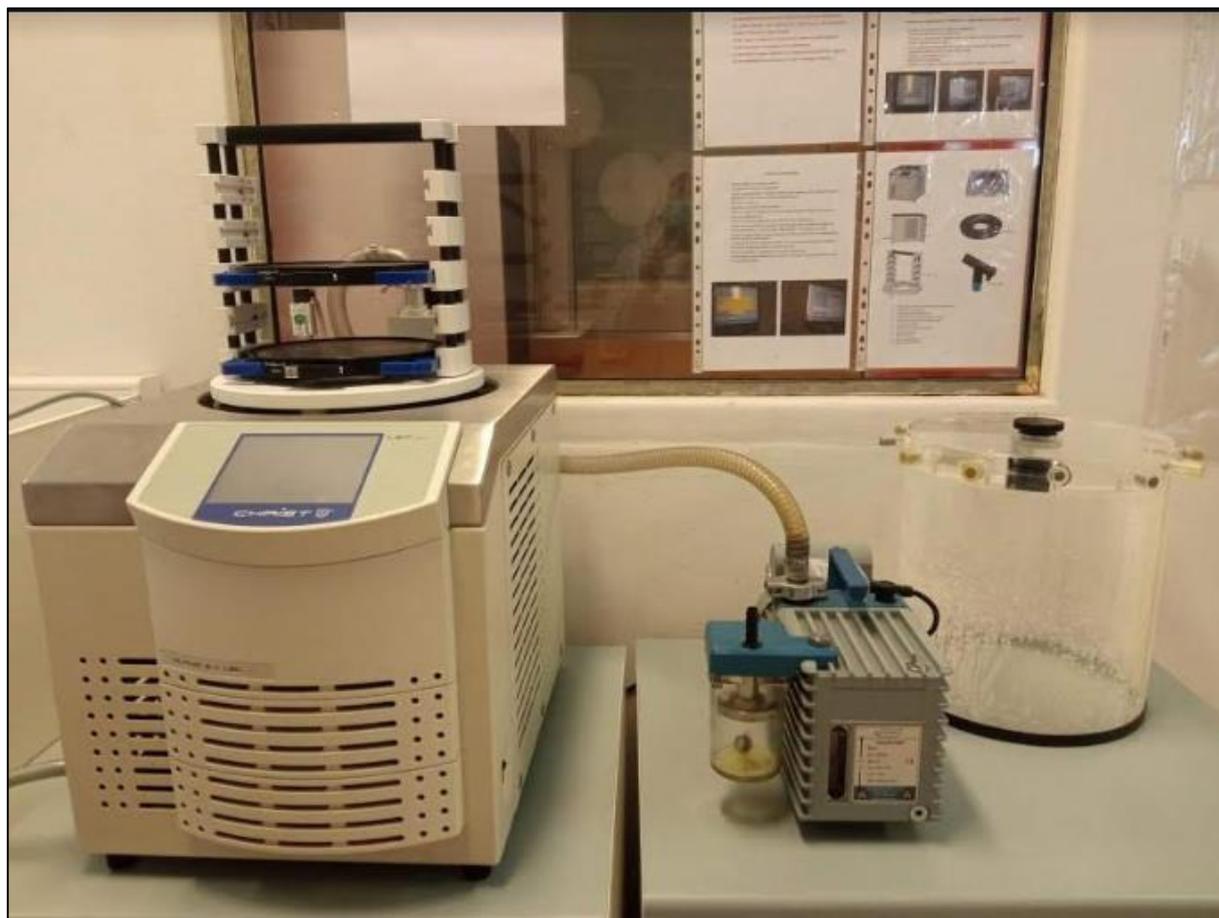


Fig.3: Photo réel de Lyophilisateur



Fig.4: Photographie des flacons d'extrait lyophilisé



Fig.5: Photographie de centrifugeuse MR23i

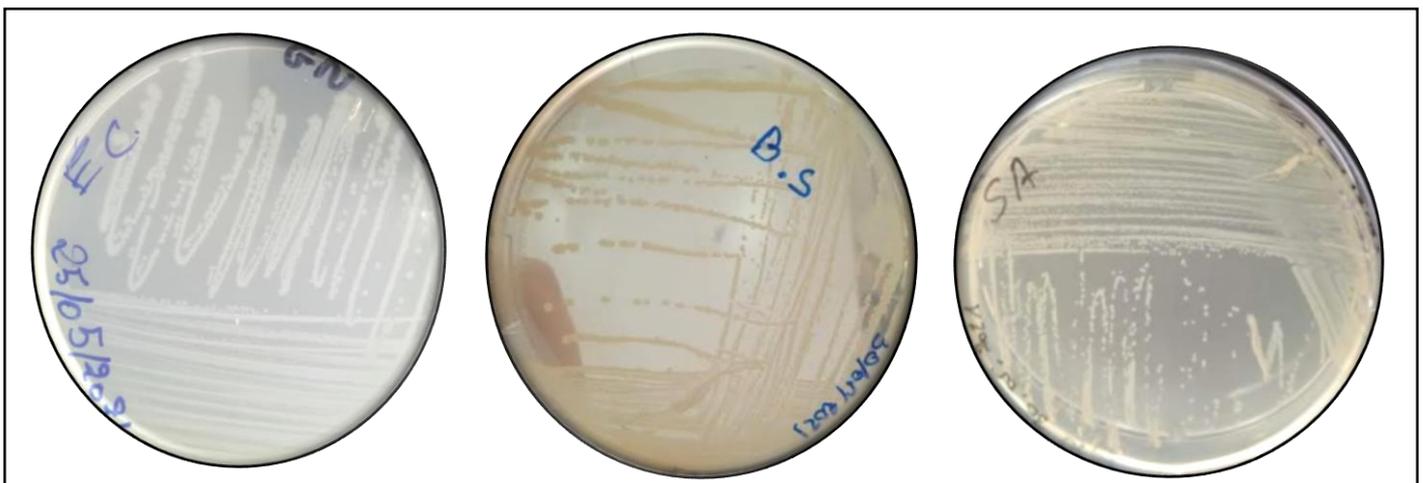


Fig.6: Repiquage solide-solide



Fig.7: Résultats de la sensibilité aux antibiotiques