

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du Diplôme de Master en science biologique

**Option : Biochimie**

Thème

Comparaison entre les activités biologiques d'extrait  
aqueux et des nanoparticules à base d'extrait du *Pistacia*  
*lentiscus*

**Présenté Par :**

M<sup>elle</sup>. BENAÏSSA RAHAL Saadia

M<sup>elle</sup>. BENDIMERAD Abir Soulef

**Devant le jury composé de :**

Dr. BENTABET Nesrin

Dr Tahari Fatima Zohra

Dr.BENNABI Farid

MCB UAT.B.B (Ain Temouchent) Présidente

MCB UAT.B.B (Ain Temouchent) Examinatrice

M C A UAT.B.B (Ain Temouchent) Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## **Remerciements**

*Cette recherche a été rendue possible par tout le soutien que nous avons reçu tout au long de mes années à l'Université de Ain Temouchent . Un premier remerciement à Dieu Tout-Puissant qui nous a donné la santé, la patience et la conviction pour que nous puissions encore terminer nos études après tous les moments difficiles durant notre cursus .*

*Nous tenons à remercier notre encadrant « **Mr BENNABI.F** » qui nous a encadrés et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, pour son aide, son soutien et sa simplicité dans les orientations.*

*Nous sommes particulièrement reconnaissantes à Mme BENTABET.N maitre de conférences B à l'université belhadj bouchaib-Ain Temouchent, pour l'intérêt qu'elle nous a fait d'avoir accepter la présidence du jury, avec le témoignage de notre respectueuse considération*

*Nos vifs remerciements vont également au Melle TAHARI.F pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Mes sincères remerciements s'adressant plus spécialement à Mr MEHAMMADI.W pour son aide, sa compétence scientifique et ses conseils techniques, merci pour votre soutien, disponibilité et votre gentillesse.*

*Aux personnels du laboratoire nous vous remercie très chaleureusement de nous avoir continuellement encouragés, pour votre soutien scientifique et humain, pour votre gentillesse et votre hospitalité.*

*Nous remercions également nos chers enseignants du département de sciences biologiques, Qui nous a accompagnés et aidés à nous améliorer durant nos cursus de formation.*

*A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on n'aurait pas pu surmonter tous les obstacles.*

*Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de Reconnaissance.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui m'ont donné la vie, l'espoir et l'amour, à ceux*

*Qui m'ont encouragé le long de mes études et de m'avoir toujours soutenu et aidé à*

*concrétiser mes ambitions :*

*Mon pere, DR Bendimerad nihad ameur ainsi que ma chere mere DR Hallali houria*

*Que dieu me les protège et me les garde sans oublier mon cher frère Bendimerad jacer ; et*

*toute ma grande famille paternelle bendimerad et ma famille maternelle Hallali ainsi que*

*toutes mes cousins et cousines chacun par son nom*

*A tous mes professeurs qui nous ont suivi pendant notre cursus universitaire qui nous ont*

*inculqué l'amour des sciences biologiques*

*A tous mes collègues du département*

*Des Sciences de la Nature et de la Vie*

*De Ain Temouchent ;*

*A toutes les personnes qui m'ont aidé de près*

*Ou de loin pour réaliser ce travail.*

*Bendimerad Abir Soulef*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma très chère mère*

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*A mon très cher père*

*Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

*A ma chère sœur Hayet et mes chères cousines Amel,Zahira,Amina,Marwa,Nour pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon cher frère Amine, qui fait une partie de mon bonheur.*

*A mon neveu Dérar et mes nièces Maysaa et Nada*

*Avoir un neveu et des nièces est le plus beau cadeau qu'une sœur puisse vous faire. Vous êtes apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je vous 'aime.*

*A toute ma famille*

*Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

*A mes amies Chahra zed, Selima, Asmaa, Sarra et Chaimaa 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.*

**BENAISSA RAHAL Saadia**

## Résumé

Dans le domaine de la médecine et la mise au point de nouvelles techniques thérapeutiques, la demande de plantes médicinales est très élevée, Ce mémoire présente les résultats d'une comparaison entre quelques activités biologiques d'extrait aqueux et des nanoparticules à base d'extrait aqueux de la plante médicinale *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) recensée dans la wilaya de Ain t'émouchent, Le screening phytochimique a fait ressortir la présence des métabolites secondaires tels que : les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les quinones libres, les stérols, les terpénoïdes. Cette plante est reconnue comme une source d'un agent médicinal traditionnel. Deux extraits aqueux sont préparés à partir de *Pistacia lentiscus* ont été obtenus à partir de l'extraction par macération (feuille et fruit). L'estimation du pouvoir réducteur de ses résidus de *Pistacia lentiscus* et les nanoparticules à base d'extrait aqueux, par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), Nous a permis de noter que cette plante possède une bonne activité antioxydante, les résultats révèlent que l'extrait aqueux des fruits et des feuilles présente une meilleure activité avec une IC<sub>50</sub> de 0.9093 mg/ml et de 1.2145 mg/ml, respectivement. Les nanoparticules à base d'extrait aqueux des feuilles étaient les moins actives avec d'IC<sub>50</sub> de 1.988 mg/ml.

L'effet antibactérien des extraits et des nanoparticules a été évalué par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Mueller-Hinton). Les résultats indiquent que cette espèce présente également une activité antibactérienne élevée vis-à-vis les quatre souches testées (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300), avec des zones d'inhibition de diamètres variables, nous avons trouvé que l'effet antibactérien des nanoparticules était le meilleur par rapport à l'extrait aqueux et par rapport au nitrate d'argent quelque soit la souche bactérienne.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus*, Etude phytochimique, activité antioxydante, activité antibactérienne, métabolites secondaires, nanoparticules.

## Abstract

In the field of medicine and the development of new therapeutic techniques, the demand for medicinal plants is very high. This thesis presents the results of a comparison between some biological activities of aqueous extract and nanoparticles based on the extract. aqueous of the medicinal plant *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) identified in the wilaya of Ain move you, The phytochemical screening brought out the presence of secondary metabolites such as:

tannins, saponosides, flavonoids, alkaloids, free quinones, sterols, terpenoids. This plant is recognized as a source of a traditional medicinal agent. Two aqueous extracts are prepared from *Pistacia lentiscus* were obtained from the extraction by maceration (leaf and fruit). The estimation of the reducing power of its residues of *Pistacia lentiscus* and nanoparticles based on aqueous extract, by the method of trapping the free radical DPPH (2-2. Diphenyl-1-picrylhydrazyl), allows us to note that this plant possesses good antioxidant activity, the results show that the aqueous extract of fruits and leaves shows better activity with an IC<sub>50</sub> of 0.9093 mg / ml and 1.2145 mg / ml, respectively. Nanoparticles based on aqueous leaf extract were the least active with IC<sub>50</sub> of 1.988 mg / ml.

The antibacterial effect of the extracts and nanoparticles was evaluated by the agar medium diffusion method (Mueller-Hinton). The results indicate that this species also exhibits high antibacterial activity against the four strains tested (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923,, *S.aureus* ATCC 43300), with zones of inhibition of variable diameters, we found that the antibacterial effect of the nanoparticles was the best compared to the aqueous extract and compared to the silver nitrate whatever the bacterial strain.

**Keywords :** *Pistacia lentiscus*, Phytochemical study, antioxidant activity, antibacterial activity, secondary metabolites, nanoparticles.

## ملخص

في مجال الطب وتطوير تقنيات علاجية جديدة ، فإن الطلب على النباتات الطبية مرتفع للغاية. تقدم هذه الأطروحة نتائج مقارنة بين بعض الأنشطة البيولوجية للمستخلص المائي والجسيمات النانوية على أساس المستخلص المائي للنبات الطبي (*Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) التي تم تحديدها في ولاية عين تحرك ، أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مستقبلات ثانوية مثل: التانينات ، السابونوزيدات ، الفلافونويد ، القلويات ، الكينونات الحرة ، الستيرويدات ، التربينويدات. يُعرف هذا النبات بأنه مصدر لعامل طبي تقليدي. تم تحضير مستخلصين مائين من *Pistacia lentiscus* وتم الحصول عليها من الاستخلاص عن طريق النقع) الأوراق والفاكهة. (إن تقدير القدرة المختزلة لمخلفاتها من *Pistacia lentiscus* والجسيمات النانوية على أساس المستخلص المائي ، عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH (2-2. Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ، يسمح لنا بملاحظة أن هذا النبات جيد النشاط المضاد للأكسدة ، أظهرت النتائج أن المستخلص المائي للفاكهة والأوراق يظهر فعالية أفضل مع تركيز 50 من 0.9093 مجم / مل و 1.2145 مجم / مل على التوالي. كانت الجسيمات النانوية المعتمدة على خلاصة الأوراق المائية هي الأقل نشاطاً مع تركيز IC<sub>50</sub> البالغ 1.988 مجم / مل.

تم تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات والجسيمات النانوية بطريقة الأجار المتوسطة الانتشار (Muelleur-Hinton) تشير النتائج إلى أن هذا النوع يُظهر أيضًا نشاطًا مضادًا للبكتيريا عاليًا ضد السلالات الأربعة المختبرة (S. aureus ATCC ، S. aureus ATCC 25923 ، E.coli ATCC 25922 ، P.aeruginosa ATCC 27853 ، 43300)، مع مناطق تثبيط بأقطار متغيرة وجدنا أن التأثير المضاد للبكتيريا للجسيمات النانوية كان الأفضل مقارنة بالمستخلص المائي ومقارنة ببنترات الفضة مهما كانت السلالة البكتيرية.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia lentiscus* ، دراسة كيميائية نباتية ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، مستقلبات ثانوية ، الجسيمات النانوية.



## Table des matières :

**Table des matières**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction** .....01

### Partie I : Synthèse Bibliographique

<b>1</b>	<b>La phytothérapie</b> .....	<b>5</b>
1.1	L'histoire de la phytothérapie : .....	5
1.2	Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques : .....	5
1.3	La récolte et la conservation des plantes médicinales : .....	6
<b>2</b>	<b>La plante <i>Pistacia lentiscus</i></b> .....	<b>8</b>
2.1	Historique de la plante : .....	8
2.2	Description botanique de la plante : .....	8
2.3	Classification taxonomique : .....	8
2.4	Nomenclature : .....	9
2.5	Répartition et localisation : .....	9
2.6	Composition chimique : .....	10
2.7	Intérêts médicaux : .....	10
<b>3</b>	<b>Les métabolites secondaires</b> .....	<b>12</b>
3.1	Définition des plantes médicinales : .....	12
3.2	Définition la phytothérapie : .....	12
3.3	Principe active : .....	12
3.3.1	Principaux groupes : .....	12
	<b>A. Composé phénolique</b> : .....	12
	<b>B. Alcaloïdes</b> : .....	14
<b>4</b>	<b>Les nanoparticules</b> : .....	<b>17</b>
4.1	Argent : .....	17
4.2	Les propriétés physiques et chimiques de l'argent : .....	17
4.3	Les nanoparticules d'argent : .....	18

4.4	Synthèse des nanoparticules d'argent et méthodes d'analyse de nanoparticules formées : .....	18
4.4.1	Réduction chimique d'une solution d'ions $Ag^+$ : .....	18
4.4.2	Réductions biologiques : .....	19
4.4.3	Molécules responsables de la bioréduction : .....	20
4.4.4	Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent : .....	20
4.5	Applications des nanoparticules d'argent : .....	21
4.6	Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent : .....	22
4.6.1	La spectroscopie UV-Visible : .....	22
4.6.2	La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) : .....	22

## **Partie II : Partie expérimentale**

### **Matériel Et Méthodes**

<b>1</b>	<b>Matériel végétal : .....</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>Les Testes phytochimiques : .....</b>	<b>25</b>
2.1	Préparation de l'échantillon : .....	25
<b>3</b>	<b>Préparation des extraits de la plante : .....</b>	<b>27</b>
3.1	Préparation de l'extrait de la plante poudre : .....	27
3.2	Préparation de l'extrait aqueux : .....	28
<b>4</b>	<b>Détermination des rendements : .....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>La synthèse des nanoparticules d'argent : .....</b>	<b>29</b>
<b>6</b>	<b>Evaluation des activités biologiques : .....</b>	<b>32</b>
6.1	Étude antibactérienne : .....	32
6.1.1	Matériel biologique : .....	32
6.1.1.1	Souches microbiennes : .....	32
6.1.2	Ajustements de la charge microbienne : .....	33
6.1.3	Préparation du milieu de culture : .....	33
6.1.4	Préparation des échantillons : .....	34
6.1.5	L'ensemencement et dépôt des disques : .....	34
6.1.6	Lecture des résultats : .....	35
6.2	Evaluation de l'activité antioxydante : .....	36
6.2.1	Activité du radical DPPH : .....	36
6.2.2	Mode opératoire : .....	37

### **Partie III : Résultats et discussion**

<b>1</b>	<b>Teste phytochimique :</b> .....	<b>41</b>
<b>2</b>	<b>Rendement des extraits :</b> .....	<b>42</b>
<b>3</b>	<b>Les activités biologiques :</b> .....	<b>44</b>
3.1	Activités antibactériennes :.....	44
3.1.1	Résultat de test d'aromatogramme :.....	44
3.2.	Activité antioxydante .....	47
	<b>Conclusion.....</b>	<b>53</b>
	<b>Référence</b>	

## Liste des figures

Figure 1 : <i>Pistacia lentiscus</i> .....	8
Figure 2: Carte de répartition en Europe et région méditerranéenne .....	9
Figure 3: Quelques composés phénoliques prometteurs : le resvératrol du raisin (a), l'hydroxytyrosol de l'olive (b), la (-) -épicatechine, une proanthocyanidine du thé vert (c) et la -mangostine, une xanthone du mangoustanier (d). .....	13
Figure 4 Représentation schématique des méthodes descendantes et ascendantes.....	18
Figure 5 : Mécanismes de synthèse biogénique des nanoparticules d'argent .....	19
Figure 6 : mécanisme de synthèse des nanoparticules d'argent .....	21
Figure 7 : Région de la récolte .....	24
Figure 8 : Broyage des feuilles.....	25
Figure 9 : Broyage des fruits.....	25
Figure 10 : Les étapes de l'extraction. ....	28
Figure 11 : Extrait aqueux des feuilles. ....	28
Figure 12 : Montage à reflux.....	28
Figure 13 : Organigramme descriptif de la synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait des feuilles du <i>Pistacia lentiscus</i> .....	30
Figure 14 : Schéma illustrant le protocole de préparation de nanoparticules d'argent par extrait de feuilles du <i>Pistacia lentiscus</i> . ....	31
Figure 15 : Souches de références de collection internationale ATCC.....	32
Figure 16 : Préparation du milieu de culture. ....	33
Figure 17 : Une série des différentes concentrations.....	34
Figure 18: Des boîtes de pétries contenant de M-H .....	34
Figure 19 : La zone stérile .....	34
Figure 20 : L'ensemencement des souches testées .....	35
Figure 21 : Déposition des disques à l'aide d'une pince bactériologique. ....	35
Figure 22 : Mécanisme de réaction de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) .....	37
Figure 23 : Réparation des solutions .....	38
Figure 24 : La lecture des concentrations par spectrophotomètre.....	38
Figure 25 : Rendement d'extraction obtenue pour les différents extraits.....	43
Figure 26 : Résultats d'aromatogramme des extraits des fruits et des feuilles. ....	44
Figure 27: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux feuilles et fruits de la plante <i>Pistacia lentiscus</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque. ....	45
Figure 28 : Résultats d'aromatogramme de l'activité antibactérien avec les nanoparticules ...	46
Figure 29 : La Représentation graphique de l'activité antimicrobienne des nanoparticules à base d'extrait par rapport au nitrate d'argent et extrait aqueux réalisé par la méthode de diffusion sur disque .....	46
Figure 30 : Activité anti-radicalaire de l'extrait des feuilles .....	49

Figure 31 : Activité anti-radicalaire de l'extrait des fruits.....	50
Figure 32 : Activité anti-radicalaire des nanoparticules à base d'extrait aqueux des feuilles ..	50
Figure 3 : Activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique.....	51
Figure 33 : représentation graphique montre la comparaison des extraits avec les témoins par rapport à l'IC 50 .....	51

### Liste des tableaux :

Tableau 1 : propriété physique de l'argent métal .....	17
Tableau 2 : Quelques applications des nanoparticules d'argent . .....	21
Tableau 3 : Les souches bactériennes utilisées. ....	32
Tableau 4 : Résultats du screening phytochimique .....	41
Tableau 5 : rendements des extraits de feuilles et des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> . ....	42
Tableau 6 : résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des fruits....	<b>Error!</b>
<b>Bookmark not defined.</b>	
Tableau 7 : résultats de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent à base d'extrait des feuilles de la plante lentisque. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## Liste d'abréviation

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

Ag : Argent

ATCC: American type culture collection

DMSO: Diméthylsulfo-oxyde

D.O: Doncité Optique

DPPH: Le radical stable [2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl]

EAQ : Extrait aqueux

E. coli: *Escherichia coli*

g: gramme

h: heure

IC50: Concentration inhibitrice a 50%.

mg/ml: milligramme par millilitre

MH: Mueller Hinton.

min : Minute

mM : mili Mole

mm : Millimètre

nm: nanomètre

OMS: Organisation mondiale de la sante

Pa : *Pseudomonas aeruginosa*

pH : Potentiel d'Hydrogène

PL : *Pistacia lentiscus*

R : Rendement

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

tr / min : Tour /minute

UV: Ultra violet

# **Introduction**

### Introduction Générale

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme car elles sont utilisées pour la nourriture ainsi que pour des activités thérapeutiques ce sont connus sur le nom de la phytothérapie. Elle représente une alternative intéressant pour traiter et soigner sans crée de nouvelles maladies (Moatti 1990; Fellah, Romdhane et al. 2006).

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et bien connue Selon l'Organisation mondiale des droits de l'homme, il s'agit actuellement d'un domaine d'intérêt public Santé (OMS), environ 65 80 % de la population mondiale consomme des drogues Les méthodes traditionnelles pour répondre aux besoins des soins de santé primaires, en raison de Pauvreté et manque d'accès à la médecine moderne (Jiofack, Fokunang et al. 2009).

Les plantes médicinales contiennent de nombreux principes actifs, dont Certains proviennent du métabolisme secondaire. Les usines produit 70% de médicament identifié parmi environ 170 000 molécules biologiquement actives fait Partie de plante(Chaabi 2008).

Une plante médicinale est un organisme vivant employée dans le but de soigner les maladies depuis longtemps, elle est utilisée sous forme (feuille, tige, racine etc.) ; aussi soit directement comme une fraiche ou transformée et stabilisée ou extraites ou préparée avec des excipients synthétiques ou autre(Ouedraogo, Yoda et al. 2021).

Cette recherche est faite sur la plante *Pistacia lentiscus* appelée en arabe « ضرور » est l'un de nombreux buissons à feuilles persistantes (*Anacardiaceae*) elles donnent des fruits d'abord rouges puis noirs existant dans l'est de la Méditerranée cette région a une longue tradition de médecine populaire depuis le temps des anciens Grecs (Correia and Barradas 2000).

Cette plante présente un intérêt thérapeutique en raison de ses propriétés médicinales. La partie aérienne est généralement, En raison de ses propriétés diurétiques, il peut être utilisé pour traiter l'hypertension artérielle. Ses feuilles fournissent des activités Anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, astringent, protecteur hépatique, Ils sont également utilisés pour traiter l'eczéma, les infections buccales, Diarrhée, calculs rénaux, jaunisse, maux de tête, asthme et problèmes respiratoires (Hafsé, Benbrahim et al. 2015)



## Introduction

Dans cette étude on a utilisé des extraits aqueux préparés à partir des fruits et des feuilles, et on a utilisé aussi des nanoparticules à base d'extrait aqueux de la plante qui présentent des particularités que la majorité de ses atomes sont localisés en surface. Donc ce sont des surfaces d'échanges (surfaces spécifiques) très importantes qui donnent des propriétés physiques et chimiques particulières pour ces nanoparticules, cela peut entraîner des effets et des activités biologiques plus efficace ; Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) (Lanone and Boczkowski 2010).

Notre objectif est l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante des extraits aqueux des feuilles et des fruits et des nanoparticules à base d'extrait aqueux de la plante Médicinale *Pistacia lentiscus*.

**Partie I**  
**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 01 :**

## **La phytothérapie**

## 1 La phytothérapie

### 1.1 L'histoire de la phytothérapie

Dans toutes les civilisations de l'antiquité la phytothérapie est présente. Le premier texte connu sur les propriétés médicinales des plantes gravé sur une tablette d'argile, Rédigé par les Sumériens durant le troisième millénaire avant notre ère, elle comporte la liste des drogues utilisées à cette époque, (Clément 2005) La traduction des hiéroglyphes a montré que les Égyptiens employaient de nombreuses drogues végétales majeures vers 1600 av. J.-C. De plus en Grèce vers l'an 400 av. J.-C.(Lardry and Haberkorn 2007) L'œuvre d'Hippocrate, rassemblant les drogues de l'Occident et celles qui ont été héritées des Perses, domine toute l'Antiquité gréco-latine. Durant la période d'obscurantisme médiéval, se développent les jardins botaniques dans les couvents et les monastères où l'on cultive les simples. La Renaissance est l'ère des idées nouvelles et des découvertes nombreuses espèces. Au XIX<sup>e</sup> siècle, avec le développement de la chimie, de nombreux principes actifs Sources végétales isolées. C'est l'idée depuis des siècles Les médicaments se distinguent des médicaments actifs plus grands, mais aujourd'hui, ces deux concepts coexistent encore. De même, l'enchevêtrement actuel entre les plantes et la nourriture remonte à la plus ancienne civilisation Humanité. C'est ainsi que les Vikings naviguent en mer depuis des centaines d'années en consommant des fruits aigres. Laissez-les éviter le scorbut. Aujourd'hui, le concept de vitamines et de minéraux semble être accepté par tous, ce qui est propice à l'émergence de nombreux compléments alimentaires contenant des extraits de plantes.(Clément 2005)

### 1.2 Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques

Pendant des centaines d'années, les plantes médicinales ont été utilisées comme méthode pour traiter les maladies humaines en raison de l'activité biologique et des ingrédients thérapeutiques contenus dans ses extraits. (Kanoun, Abbouni et al. 2016)

Aujourd'hui, de nombreux travaux dans le domaine de l'ethnopharmacologie montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle sont généralement des plantes efficaces dans différents modèles pharmacologiques et peu toxiques.(Bouزيد, Chadli et al. 2017)

Il a été prouvé que les plantes aromatiques utilisées depuis l'Antiquité ont des propriétés thérapeutiques. Les huiles essentielles peuvent soulager de nombreuses maladies, à la fois physiques et psychiques. Les recommandations d'aromathérapie reposent sur une écoute de

qualité suivie de recommandations d'utilisation strictes, le but n'est pas de nuire, mais d'apporter les meilleurs soins et accompagnements.(Couic-Marinier, Touboul et al. 2021)

### **1.3 La récolte et la conservation des plantes médicinales**

Avant de commencer la récolte, il est tout d'abord important d'évaluer le niveau de récolte idéal et la fréquence des plantes et des emplacements sélectionnés. Les espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces à longue durée de vie peuvent réagir très différemment à leur régénération. La cueillette se fait à la main, au sécateur, à la faucille ou à la faux...Les outils doivent être propres et parfaitement affûtés pour éviter une mauvaise cicatrisation et / ou une contamination par des parasites, des bactéries ou des virus. Le lieu, l'époque de récolte, le stade phénologique de la plante (début, fin de floraison, etc.) peuvent également avoir quelquefois des répercussions très importantes sur sa composition chimique et, par conséquent, sa qualité thérapeutique.(Thévenin 2017)

Les plantes médicinales sont stockées dans un endroit sombre et sec, dans des récipients en porcelaine, en faïence ou en verre coloré, des boîtes en fer blanc sèches, des sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes expérimentées Transformation chimique sous l'influence de la lumière ultraviolette. Les plantes riches en produits volatils et s'oxydant rapidement sont conservées dans un environnement hermétique.(Thévenin 2017)

**Chapitre 02 :**  
**La plante *Pistacia lentiscus***

### 2 La plante *Pistacia lentiscus*

#### 2.1 Historique de la plante

*Pistacia lentiscus* est utilisé depuis plus de 2500 ans dans les médicaments traditionnels grecs et aurait été utilisé pour une variété de maux gastriques dans les pays méditerranéens et moyen-orientaux depuis au moins 3000 ans. Il est bien connu dans les pays méditerranéens par sa résine. Les anciens Egyptiens l'utilisaient comme encens et pour l'embaumement. Il a également été utilisé comme conservateur et édulcorant. Le mastic est l'un des médicaments les plus fréquemment cités (25 fois) dans le Codex médical de Chilandar, le manuscrit serbe médiéval le mieux conservé sur la science médicale européenne du XIIe au XVe siècle. (Akbar 2020)

#### 2.2 Description botanique de la plante

*Pistacia lentiscus* appartient à la deuxième catégorie. Lentisque est un arbuste qui peut atteindre trois mètres de hauteur. Il se caractérise par des branches tordues et des feuilles persistantes et produit des fruits rouges qui, à pleine maturité, se transformeront en un noir riche en huile (Abuduli, Aydin et al. 2016; Aissi, Boussaid et al. 2016) .

Une exsudation résineuse concrète jaune pâle ou jaune verdâtre, globulaires, allongée ou forme de poire de l'arbre, appelé Mastic. Le mastic est lisse, brillant et transparent avec une odeur légèrement balsamique et un goût piquant, Obtenu à partir de la tige (Akbar 2020).



Figure 1 : *Pistacia lentiscus*

#### 2.3 Classification taxonomique

La classification botanique de l'espèce *Pistacia lentiscus* (Browicz 1987) :

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous- Embranchement	<i>Angiospermae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Dicotyledones</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

### 2.4 Nomenclature (Mifsud, S 2010)

- Nom anglais : Lentisk, Mastic Tree, Mediterranean Mastic.
- Nom français : Lentisque, arbre au mastic, pistachier lentisque
- Nom maltais : Deru, Deluwa
- Nom arabe : Edhrou, derou

### 2.5 Répartition et localisation

L'arbre à mastic est bien connu dans les zones semi-arides et arides de la région méditerranéenne, l'Amérique latine et l'Asie. Il pousse à l'état sauvage en Algérie sur tout le littoral jusqu'aux zones arides (Khiari, Tarabet et al. 2019), lentisque se développe sur tout type de sol (Beghlal, El Bairi et al. 2016).

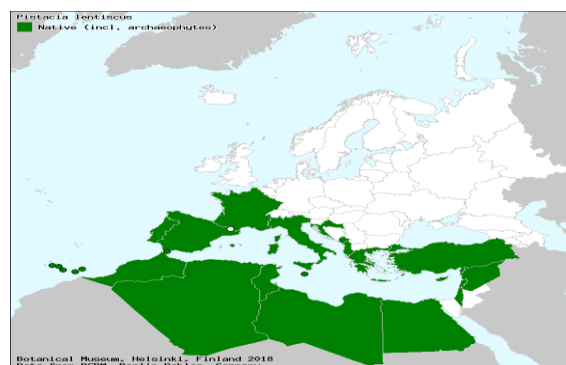


Figure 2: Carte de répartition en Europe et région méditerranéenne (2018)



### 2.6 Composition chimique

Quelques études ont montré que le mastic extrait des tiges de *Pistacia lentiscus* L a été isolée une huile essentielle qui constitue de près de 70 constituants, 36 triterpène et des protéines d'Arabinogalactane (Akbar 2020).

Les fruits de lentisque contenant une grande quantité d'acides gras insaturés tels que oléique, linoléique (Charef, Yousfi et al. 2008) et palmitique, de caroténoïdes, aussi une quantité de stérols avec la prédominance  $\beta$ -sitostérol (CP) (Brahmi, Haddad et al. 2020).

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* contenant des niveaux montables de polyphénols, certain nombre d'acides phénoliques, principalement représentés par l'acide quinique et l'acide gallique. De plus, une abondance de flavonoïde trouvée (Benhammou, Bekkara et al. 2008).

Lentisque contient certains éléments essentiels tels que calcium, potassium, sodium, zinc, chrome, cobalt, et des éléments toxiques comme arsenic, brome, antimoine (Hamlat, Benarfa et al. 2019).

### 2.7 Intérêts médicaux

Depuis l'Antiquité, l'arbre du mastic est connu pour sa valeur médicinale. En effet, il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les ulcères, l'eczéma, l'hypertension artérielle, les maux de gorge, la toux, les calculs rénaux, la jaunisse (Brahmi, Haddad et al. 2020) et l'hypocholestérolémie (Cheurfa and Allem 2015).

L'huile de graines de lentisque est couramment utilisée comme médicament pour traiter les brûlures, les maux de dos, les plaies et les allergies des voies respiratoires internes (Belyagoubi-Benhammou, Belyagoubi et al. 2018).

# **Chapitre 03 :**

## **Les métabolites secondaires**

### 3 Les métabolites secondaires

#### 3.1 Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont définies comme drogues végétales. Ces plantes médicinales peuvent être (un arbre, un buisson, un champignon, Un légume, une racine une plante-une algue) c'est ce qu'on appelle aussi espèces botaniques (Bousta and Ennabili 2011). Pour bonne efficacité les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie a des propriétés médicamenteuses généralement donc la plante n'est pas utilisée entière le plus souvent une ou deux parties sont utilisées différemment .A partir des plantes médicinales on peut faire des préparations pour extraction des huiles essentielles extraction aqueuse ou alcoolique (Jaeg 2019).

#### 3.2 Définition la phytothérapie

C'est un terme grec composé de deux mots : (phyton : veut dire plante et thérapia : veut dire traitement) (Moatti 1990). C'est l'utilisation des plantes pour guérir une ou plusieurs pathologies ou symptômes ce ci selon le principe de l'allopathie la phytothérapie est utilisée depuis l'existence de l'homme sur terre (GOETZ 2013).

#### 3.3 Principe active

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non (Chabrier 2010).

##### 3.3.1 Principaux groupes

C'est le principe actif de la plante, ce sont les grands groupes chimiques qui sont la partie responsable des propriétés médicinales : les polyphénols, les polyterpènes, les stérols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les protéines, les glucides, les alcaloïdes (Kémajou, Mba et al. 2012).

##### A. Composé phénolique

Les composés phénoliques sont accordés avec une grande gamme de structure chimique, qui sont caractérisés par la distribution quantitative, et qualitative ceci selon les espèces considérées, les organes et les stades physiologiques (Macheix 1996; Goetz 2015). Ils

sont considérés aussi comme métabolisme secondaire. Les composés phénoliques se divisent en deux formes: les terpénoïdes et les composés phénoliques (Coffi, Philippe et al. 2012).

### 1) terpénoïdes

Ces derniers agissent en deux façons directement en bloquant la croissance des microorganismes, et indirectement par l'inhibition des enzymes utilisées pour pénétrer dans la plante (Coffi, Philippe et al. 2012).

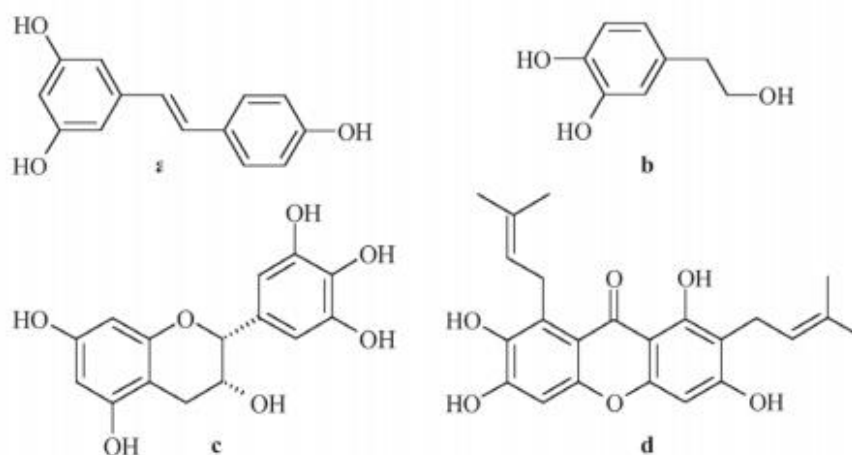


Figure 3: Quelques composés phénoliques prometteurs (Pereira, Valentão et al. 2009) : le resvératrol du raisin (a), l'hydroxytyrosol de l'olive (b), la (-) -épicatéchine, une proanthocyanidine du thé vert (c) et la -mangostine, une xanthone du mangoustanier (d).

### A.1 acide phénolique

C'est un composé complexe biologiquement actif, il est composé d'un groupe hydroxyle et un group méthoxyle. L'acide phénolique se trouve en deux formes ou bien lie aux polysaccharides de la paroi cellulaire ou bien libre. Quelques acides phénoliques sont conjugués à autre composé. L'acide phénolique a une propriété antioxydant et anti inflammatoire et peut avoir une propriété antivirale (Iserin 2001; Malunga, Joseph Thandapilly et al. 2018).

### A.2 Flavonoïde

C'est un pigment phénolique. Il est responsable de la coloration des fleurs et fruits. On une structure chimique phenylbenzooyrane (un squelette carbone C15 et relie à une partie benzopyrane), on peut les classées selon leur position des cycles aromatique par port au fragment benzopyrène on 4 classe (Pereira, Valentão et al. 2009) :

- 1) Les flavonoïdes majeurs 2-phénylbenzoprane
- 2) Les iso flavonoïdes 3-benzopyranes
- 3) Les néo flavonoïdes 4- benzopyranes

### 4) Les flavonoïdes mineurs

Se sont des antioxydants, quelque flavonoïde ont la propriété anti inflammatoire et aussi antivirale. Ils ont aussi des effets oestrogéniques (Ghedira 2005).

### A.3 Tanins (ou tanins)

Se trouvent en degré, Cela donne le goût amer aux feuilles et à l'écorce c'est pour cela ils sont impropres à la consommation. Sont composés de deux groupes chimiques (Pereira, Valentão et al. 2009) :

1) hydrolysable tanins

2) condensés les tanins

Ils sont utilisés pour stopper les hémorragies, aussi pour la lutte contre les infections, Répare les tissus endommagés, Plus la plante est riche en tanins plus il y a une souplesse des tissus (Iserin 2001).

### A.4 Lignines

Sont des polymères végétaux, Des composés organiques résultant de la liaison entre les carbones de la chaîne latérale de 2 dérivés de 1-phenylpropane, C'est des réservoirs de la matière aromatique. Forme du couplage oxydatif phénolique de monomère d'alcool hydroxycinnomoyl (Pereira, Valentão et al. 2009).

### B. Alcaloïdes

Ils ont un noyau isoquinoléique, appartient au groupe bisbenzyltétracyclique sont très actifs pharmaceutiquement car elle possède une molécule d'azote, utilisée pour traiter certains types de cancer, et d'autres ont une action sédatrice sur le corps effet sur les troubles nerveux (Iserin 2001)

### C. Terpènes et stéroïde (Iserin 2001)

- Les stéroïdes : des structures chimiques qui ressemblent aux hormones humaines (des plantes avec un effet sur l'activité hormonale)
- Les Terpènes : on les trouve dans les réglisses et les primevères, sont connus par la facilité de l'absorption des aliments, ils ont une activité hormonale moindre.

### C.1 Saponosides

Considérés comme des glycosides naturels, ils se différencient selon les liaisons et le nombre des chaînes de sucre, cela leur donne une diversité structurale et la bio activité (Podolak,

## Chapitre 03 : Les métabolites secondaires

Galanty et al. 2010). Ils sont appelés comme cela car ils produisent de la mousse quand on les plongent dans l'eau existe sous deux formes stéroïde et terpenoïde (Iserin 2001).

### C.2 Huile essentielle

On les définit comme produit odorant, extrait par trois façons soit par (PARLE 1991):

- La distillation sèche.
- Par un procédé mécanique obtenu par pressage à froid exemple : l'huile essentielle des agrumes.
- L'entraînement à la vapeur.

Les huiles essentielles considérés comme les plus importants principes actifs de la plante médicinale, ils ont un noyau aromatique, ils sont parfois triterpénoïde, fortement antiseptique (Iserin 2001).

# **Chapitre 04 :**

## **Les nanoparticules**

### 4 Les nanoparticules

#### 4.1 Argent

La première utilisation médicinale de l'argent remonte à 4000 avant JC, et c'est le troisième métal connu à documenter (Liang, Luan et al. 2018), la principale source de ce métal dans l'Antiquité était le minéraux de plomb galène (2021). L'argent est utilisé comme un récipient pour garder l'eau et le vin propre remonte probablement à l'antiquité (Yu, Yin et al. 2013). Aussi il a été utilisé pour les brûlures sérieuses pour application de la crème à la sulfadiazine d'argent (Silver, Phung et al. 2006).

#### 4.2 Les propriétés physiques et chimiques de l'argent

L'argent (AG) est un métal doux, malléable, blanc et brillant et plus réactif que l'or, c'est un excellent conducteur de chaleur et l'électricité. L'argent métallique se déforme facilement à froid, par martelage ou par étirement et il se cisèle facilement (Young 2004).

Tableau 1 : propriété physique de l'argent métal (Silver 2003) .

Propriété	Argent
Symbole	Ag
Numéro atomique	47
Masse atomique	107.86
Configuration électronique	(Kr) 4d <sup>10</sup> 5s <sup>1</sup>
Point de fusion (°C)	961.93
Point d'ébullition (°C)	2162
Densité (g/cm <sup>3</sup> )	10.5
Rayon covalent	1.34
Electronégativité (pauling)	1.93



## Chapitre 04 : Les nanoparticules

L'argent est un élément de transition rare d'origine naturelle (60e le plus abondant dans la Croûte terrestre) et c'est le deuxième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique (Wood 2011; Yu, Yin et al. 2013).

### 4.3 Les nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent sont les particules d'argent, avec une taille de particule comprise entre 1 et 100 nm (Mody, Siwale et al. 2010). De plus, les nanoparticules d'argent (AgNP) ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes, mais elles ont une toxicité élevée contre les cellules procaryotes comme les bactéries, les virus et les champignons. Les AgNPs ont des propriétés chimiques, optiques, électriques, magnétiques et mécaniques uniques (Keshari, Srivastava et al. 2020).

Les nanoparticules d'argent remplacent maintenant la sulfadiazine d'argent en tant qu'agent efficace dans le traitement des plaies (Mody, Siwale et al. 2010).

### 4.4 Synthèse des nanoparticules d'argent et méthodes d'analyse de nanoparticules formées

La production des nanoparticules d'argent peut être réalisée par deux approches descendantes et ascendantes, comme le montre la figure. L'approche descendante décompose les matériaux en vrac pour produire les nanostructures souhaitées, tandis que la méthode ascendante assemble des atomes et des molécules uniques en nanostructures plus grandes pour produire des matériaux de taille nanométrique, elle utilise généralement trois composants principaux, tels que les précurseurs métalliques, les agents réducteurs et les agents stabilisateurs/capteurs (Zhang, Liu et al. 2016).

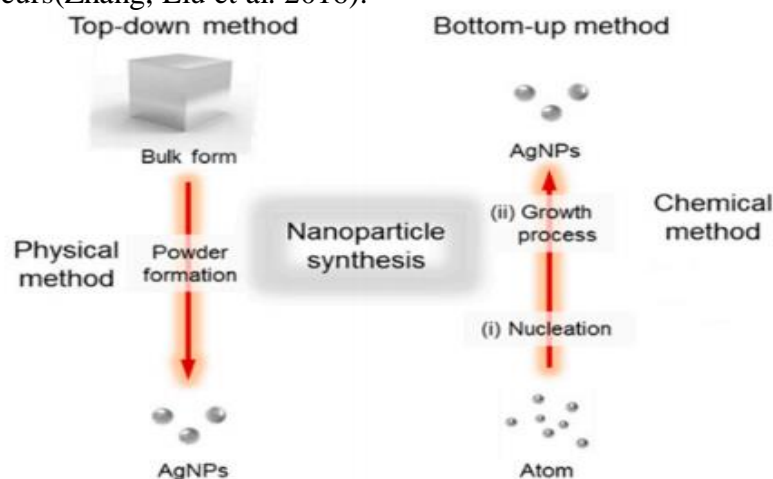
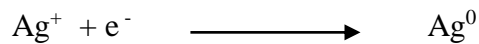


Figure 4 Représentation schématique des méthodes descendantes et ascendantes. (Lee and Jun 2019).

## Chapitre 04 : Les nanoparticules

La réduction chimique des ions argent ( $\text{Ag}^+$ ) peut être réalisée par divers agents réducteurs chimiques, notamment le glucose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), l'hydrazine ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ), l'hydrate d'hydrazine, l'ascorbate ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$ ), l'éthylène glycol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ ), le N-diméthyl formamide (DMF), l'hydrogène, le glucose, l'ascorbate, le citrate (méthode de Turkevich) et le borohydrure de sodium (méthode BSS) (Lee and Jun 2019). L'argent métallique est produit par la réaction d'oxydoréduction des ions argent selon les réactions suivantes :



### 4.4.2 Réductions biologiques

La synthèse biologique d'AgNPs permet d'obtenir des nanoparticules présentant une moindre toxicité, de meilleures caractéristiques physico-chimiques et une plus grande stabilité, par rapport à les synthèses physiques et chimiques sont toxiques et peuvent présenter des risques pour la santé et l'environnement. La synthèse verte de nanoparticules d'argent peut être réalisée à l'aide d'entités biologiques telles que des bactéries, des champignons, des extraits de plantes ou de la biomasse végétale (Mathur, Jha et al. 2018), comme montre la figure.

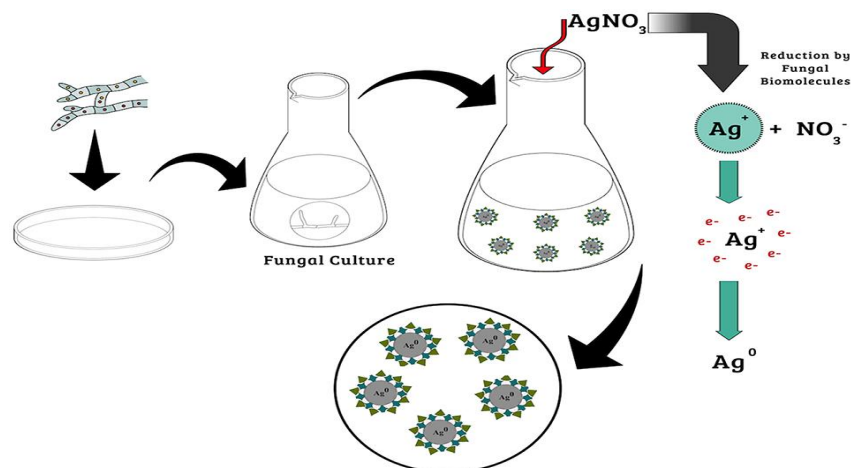


Figure 5 : Mécanismes de synthèse biogénique des nanoparticules d'argent (Guilger-Casagrande and Lima 2019).

L'utilisation de bactéries pour synthétiser des nanoparticules d'argent consiste à cultiver l'organisme dans un milieu adapté, puis à mettre en contact les bactéries ou leurs métabolites avec une solution de nitrate d'argent ( $\text{AgNO}_3$ ). Lorsque la synthèse végétale,

extraire les extraits aqueux des feuilles, des tiges ou des racines, puis ajouter une solution de nitrate d'argent. L'utilisation de champignons pour synthétiser des nanoparticules d'argent consiste à cultiver le champignon sur gélose puis à le transférer dans un milieu liquide. La biomasse résultante est ensuite transférée dans l'eau pour libérer des composés qui jouent un rôle dans la synthèse. Après filtration, la biomasse a été jetée et du nitrate d'argent a été ajouté au filtrat (Guilger-Casagrande and Lima 2019).

### 4.4.3 Molécules responsables de la bioréduction

Les agents réducteurs sont largement distribués dans les systèmes biologiques. Le solvant préféré pour extraire les agents réducteurs de la plante est l'eau dans la plupart des cas. La synthèse des AgNPs par les microbes est ardue par rapport à l'utilisation d'extraits de plantes et de biopolymères comme agents réducteurs (Srikar, Giri et al. 2016).

Pour le cas des plantes il a été démontré que les terpénoïdes, les alcaloïdes, les sucres, les protéines et les polyphénols jouent un rôle important dans la bio-réduction des ions métallique (سمير, العيفاوي et al. 2020).

### 4.4.4 Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent

La formation des AgNPs est régie par divers paramètres, notamment la température de réaction, le pH, la concentration, le type de précurseur, les agents réducteurs et stabilisants et le rapport molaire tensioactif/stabilisant et précurseur. Comme montre la figure, les ions argent ( $Ag^+$ ) sont réduits dans une solution aqueuse, acceptent les électrons de l'agent réducteur et passent d'un état de valence positive à un état de valence zéro ( $Ag^0$ ) (Lee and Jun 2019), suivie de la nucléation qui permet la formation d'une nouvelle phase solide thermodynamiquement stable dans la phase liquide. Après un certain temps, la formation de noyaux entraîne une diminution de la sursaturation. Donc taux de la nucléation diminue et le nombre de particules dans le système devient constant. après la croissance : les nucléi qui atteignent le rayon critique pourront croître en consommant les monomères dans la solution.

Cette étape favorise thermodynamiquement la croissance. Plus la concentration d'atomes est élevée, plus la croissance des particules est rapide, et la dernière étape c'est le phénomène de murissement d'Oswald. Il s'agit de l'inter diffusion des atomes des plus petites particules vers les plus grosses (سمير, العيفاوي et al. 2020)

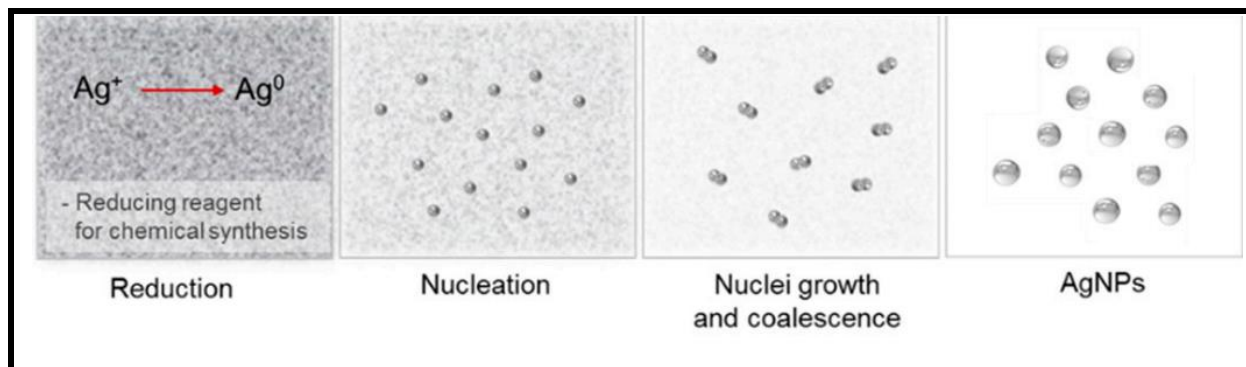


Figure 6 : mécanisme de synthèse des nanoparticules d'argent (Lee and Jun 2019).

### 4.5 Applications des nanoparticules d'argent

Aujourd'hui, les nanoparticules d'argent sont utilisées dans un large éventail de domaines scientifiques (biotechnologie, médecine, pharmacie, écologie, électronique et autres) en raison d'une combinaison parfaite de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques inhabituelles (Pulit-Prociak and Banach 2016).

Tableau 2 : Quelques applications des nanoparticules d'argent (Abbasi, Milani et al. 2016) .

<b>Applications antibactériennes</b>	<b>Ont des applications dans le domaine biologique telles que les agents antibactériens et le séquençage de l'ADN</b>
Applications médicales	<b>Peut être utilisée pour le traitement des brûlures, les matériaux dentaires, le revêtement des matériaux en acier inoxydable, le traitement de l'eau, les lotions solaires, etc.</b>
Applications de catalyse	<b>sont utilisées comme catalyseurs de réactions chimiques. elles peuvent catalyser la décomposition de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à l'oxygène. L'argent est également le catalyseur le plus populaire pour le oxydation de l'éthylène en oxyde d'éthylène et du méthanol en formaldéhyde.</b>
Applications optiques	<b>Peut surveiller la quantité de substances chimiques dans la cellule et les processus dynamiques qui se produisent.</b>
Applications électrochimiques	<b>Les propriétés électrochimiques des AgNPs les ont intégrées dans des capteurs à l'échelle nanométrique qui peuvent offrir des temps de réponse plus rapides et des limites de détection plus basses.</b>

### 4.6 Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent

La caractérisation des nanoparticules d'argent réalisé pour déterminer les aspects fonctionnels des particules synthétisées ceci a l'aide des techniques analytiques tel que :

#### 4.6.1 La spectroscopie UV-Visible

C'est une technique analytique qui permet de définir les fonctions et les propriétés des particules (Desai, Mankad et al. 2012), d'observer les synthèses et la stabilité des nanoparticules d'argent, selon une règle qui est la longueur d'onde maximale du UV-Visible associe a la taille du particule (Liu, Yu et al. 2012).

Dans l'UV-Visible une émission des bandes qui sont très proches les unes des autres, par lequel les électrons se déplacent librement, une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface (SPR), qui est produit par l'impulsion des électrons de AgNPs en résonance avec l'onde lumineuse. Le SRP est influencé par la taille, la forme, les interactions interparticulaires, l'électron libre, densité et le milieu. Le UV-Visible est utilisée aussi comme méthode pour marque la qualité et détectée la présence de AgNPs (Zhang, Liu et al. 2016).

#### 4.6.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

C'est une technique analytique, utilisée pour caractériser moléculairement les matériaux, en absorption de rayonnement IR par les différents groupes, fonctionnelle de l'échantillon trace selon la longueur d'onde (Petit and Puskar 2018). Identifiée par bande d'absorption ou chaqu'une correspondante à un mode de vibration d'une liaison chimique entre les atomes (Farcas and Touze 2001).

On l'utilise aussi pour vérifier si les biomolécules sont contenues dans la synthèse des nanoparticules (Zhang, Liu et al. 2016)

**Partie II**  
**Partie expérimentale**

## Matériels et méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de Département de Science de la Nature et de la Vie de l'Université Belhadj Bouchaïb (Ain temouchent).

L'objectif de ce travail est de démontrer «In vitro» les activités biologiques des extraits aqueux et des nanoparticules à base d'extrait de *Pistacia lentiscus*. Les expériences sont réalisées comme suite :

- 1- Préparation des extraits de la plante
- 2- Les tests phytochimiques de la plante.
- 3- La synthèse des NPs d'Ag en utilisant l'extrait aqueux des feuilles du Pistachier lentisque comme agent réducteur.
- 4- Etudier les propriétés biologiques des NPs d'Ag obtenus et des extraits préparés.

### 1 Matériel végétal

Notre étude est portée sur les feuilles et les fruits de plante *Pistacia lentiscus*. La récolte de cette plante a été faite pendant le printemps dans la région de Terga la wilaya d'Ain Temouchent.



Figure 7 : Région de la récolte

## Matériels et méthodes

La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre et à l'abri de l'humidité à température ambiante pendant quelques jours. Une fois séchées, ces dernières ont été réduites en poudre en utilisant un broyeur automatique puis soumises à l'extraction.

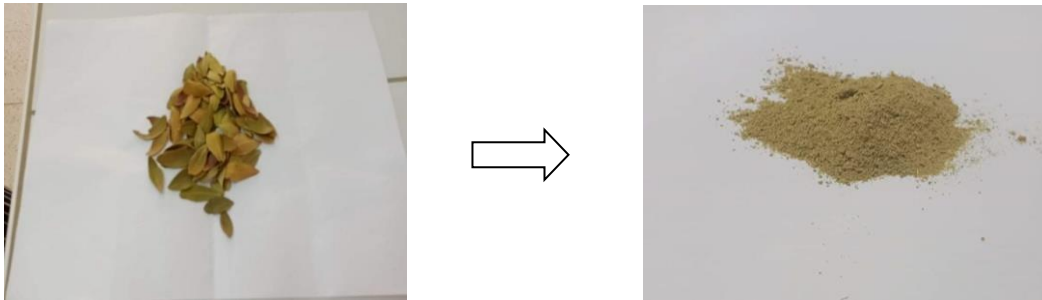


Figure 8 : Broyage des feuilles

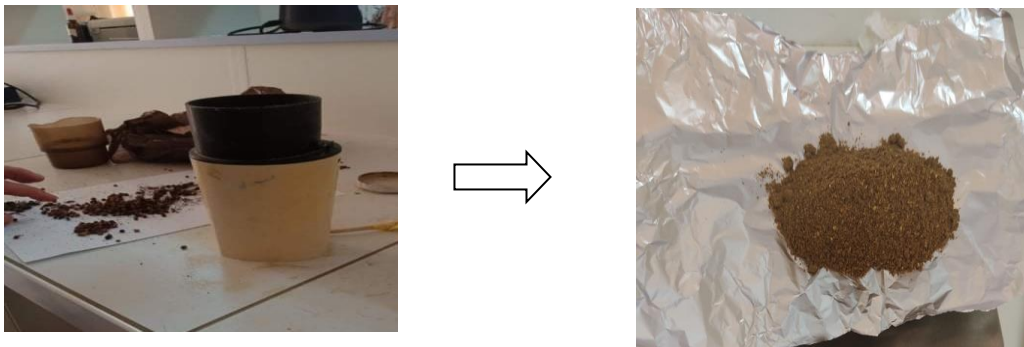


Figure 9 : Broyage des fruits

## 2 Les Testes phytochimiques

### 2.1 Préparation de l'échantillon

10 g de la matière végétale (*Pistacia lentiscus*) sont mis en contact avec 100mL d'eau distillée. L'ensemble est laissé macérer durant 24 h sous agitation continue. L'opération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les trois fractions sont réunies et filtrées puis stockés sous forme liquide à 4°C.

- Les tanins (Karumi 2004)



## Matériels et méthodes

On ajoute 3 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  1% à 1 mL d'extraits. Après deux minutes d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue ou verte foncée.

- Les flavonoïdes (Karumi 2004)

2 mL de chaque extrait végétal sont traités avec quelques gouttes d'  $\text{HCl}$  37%, et avec 0.5 g de tournure de magnésium (Mg). Le test positif est marqué par l'apparition d'une couleur rouge ou orange qui caractérise les flavonoïdes.

- Les terpénoïdes

On ajoute 1 mL de chloroforme et 1.5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrée à 2.5 mL de nos extraits. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marronne en interphase.

- Les stérols : réaction de Libermann-Burchard

On traite 1 mL d'extrait avec 2.5 mL d'anhydride acétique et 10 gouttes d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée virant au vert.

- Les coumarines

A 1 mL de chaque extrait, on ajoute 1 mL d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont la première représente un témoin et la deuxième est traitée avec 0.5 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10%. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

- Les alcaloïdes

2.5 mL d' $\text{HCl}$  à 1 %, sont ajoutés à 0.1 mL d'extrait, et incubés au bain- marie pendant 10 min. La solution obtenue est divisée en deux parties. On ajoute à l'une le réactif de Mayer et à l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Réactif de Mayer: Dissoudre 1.358g d' $\text{HgCl}_2$  dans 60 mL d'eau distillée puis 5g de KI dans 10 mL d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100mL.

Réactif de Wagner: Dans 75mL d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 127g de  $\text{I}_2$ . Le volume obtenu est ajusté à 100 mL avec l'eau distillée.

- Les quinones libres

A un volume de 1mL de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres(Oloyede 2005).

- Les saponosides

On ajoute 1 mL d'eau distillée à 2 mL de chaque extrait, puis la solution est agitée pendant 1 minute. La présence des saponosides est confirmée par l'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes. Le test est considéré comme positif si l'épaisseur de la mousse dépasse 1cm.

- Les composés réducteurs

On ajoute à 1 mL de nos extraits 0.5 mL de Liqueur de Fehling A et B puis on chauffe les tubes au bain marie à 100°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Trease and Evans 1987).

### 3 Préparation des extraits de la plante

#### 3.1 Préparation de l'extrait aqueux de la plante poudre

50g de poudre du matériel végétale a été portés par chauffage à reflux dans 500ml d'eau distillé et mis à macérer à température ambiante pendant 24h sous agitation puis filtrés. L'opération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les trois fractions sont réunies et filtrées puis évaporées à sec dans une étuve à une température de 40°C. Le produit est récupéré sous forme de solide.



Figure 10 : Les étapes de l'extraction.

### 3.1.1 Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été préparé par chauffage à reflux de 15 g de biomasse (feuilles) dans un 150 ml de l'eau distiller à 60 °C pendant 15 minutes, et filtré à l'aide du papier filtre pour enlever toutes les particules. La solution claire jaune pâle a été obtenue et stockée à 4-8 °C.

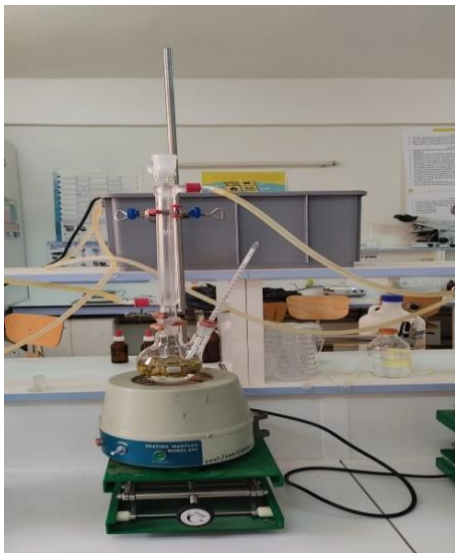


Figure 12 : Montage à reflux.

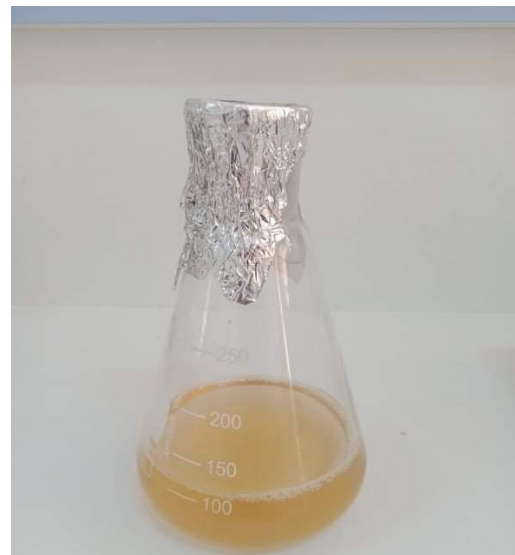


Figure 11 : Extrait aqueux des feuilles.

### 4 Détermination des rendements

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, la détermination de cette quantité est exprimée en % par rapport à la matière sèche initialement utilisée.

Rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R \% = 100 \text{ Mext} / \text{Mech}$$

Ou : R est le rendement en %

Mext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

Mech est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

### 5 La synthèse des nanoparticules d'argent

Une solution aqueuse d'une couleur transparente a été préparée avec d'AgNO<sub>3</sub> agitée avec l'eau distillé à l'aide d'un mélangeur magnétique jusqu'à ce que la totalité du nitrate soit dissoute. Ensuite, dans le processus de synthèse typique de nanoparticules d'argent, ajouter goutte à goutte 20 ml d'extrait dans les 90 ml de 1 mM de solution de nitrate d'argent. Le mélange réactionnel a été maintenu à 60 °C pendant 15 minutes sous agitation mécanique constante. Le pH reste entre 4,7 et 5,0 pendant la période de réaction. Le changement de couleur de la solution à partir de jaune a marron clair a été noté et la formation de nanoparticules a été contrôlée en utilisant un spectrophotomètre UV-Vis. Les nanoparticules d'argent synthétisées ont été centrifugées à 15 000 tr / min pendant 20 minutes, Le culot a été lavé avec de l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les impuretés et de l'éthanol à 90% pour obtenir de la poudre d'Ag NPs pure. La synthèse des NPs d'Ag par cette méthode se produit généralement selon trois étapes distinctes :

- La dissolution des sels métalliques dans l'extrait en présence d'une quantité prédéfinie de surfactant.
- Le chauffage jusqu'à la température désirée sous agitation mécanique.
- Le refroidissement lent à température ambiante du mélange réactionnel, pour enfin obtenir une solution colloïdale.

## Matériels et méthodes

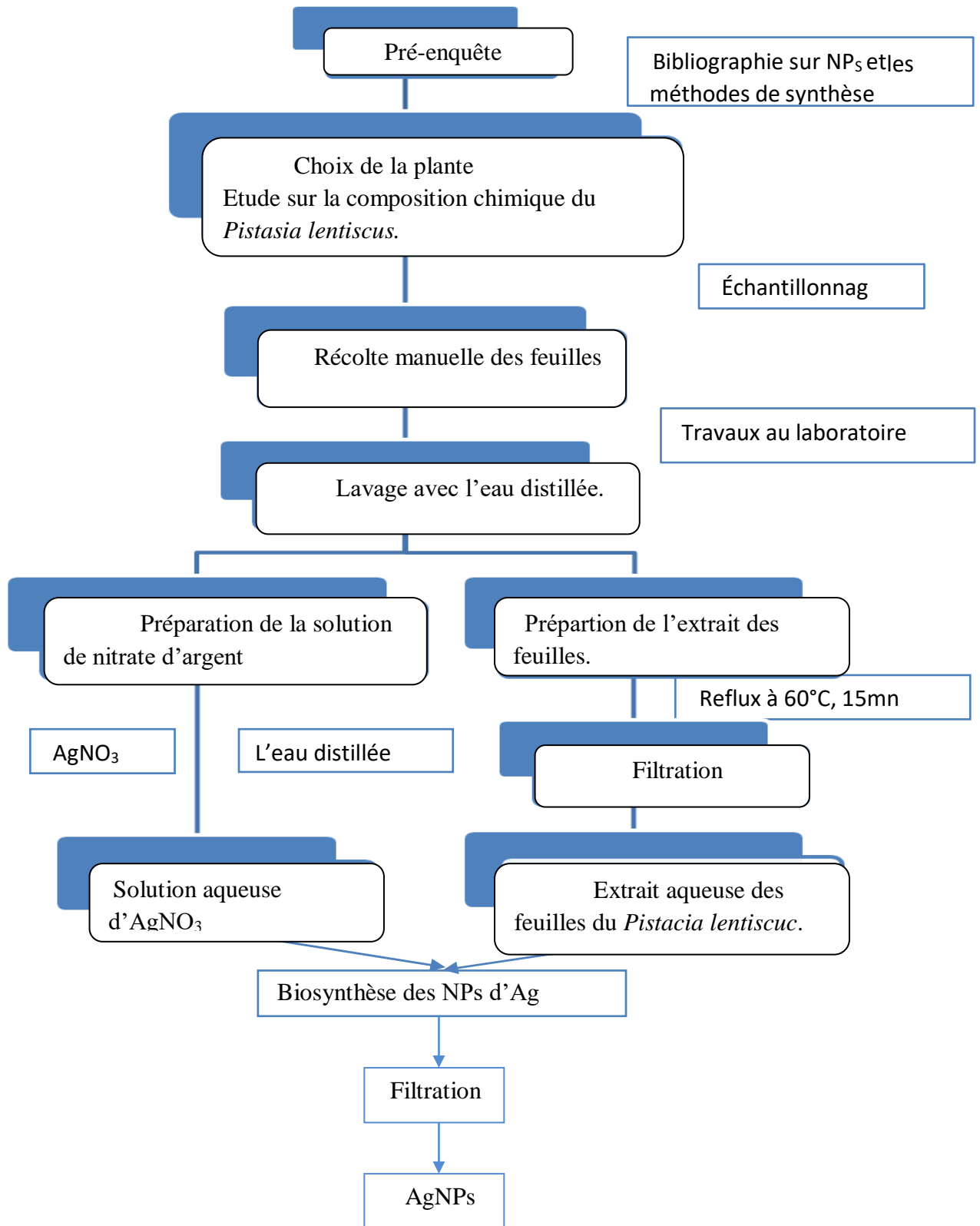


Figure 13 : Organigramme descriptif de la synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait des feuilles du *Pistacia lentiscus*.

## Matériels et méthodes

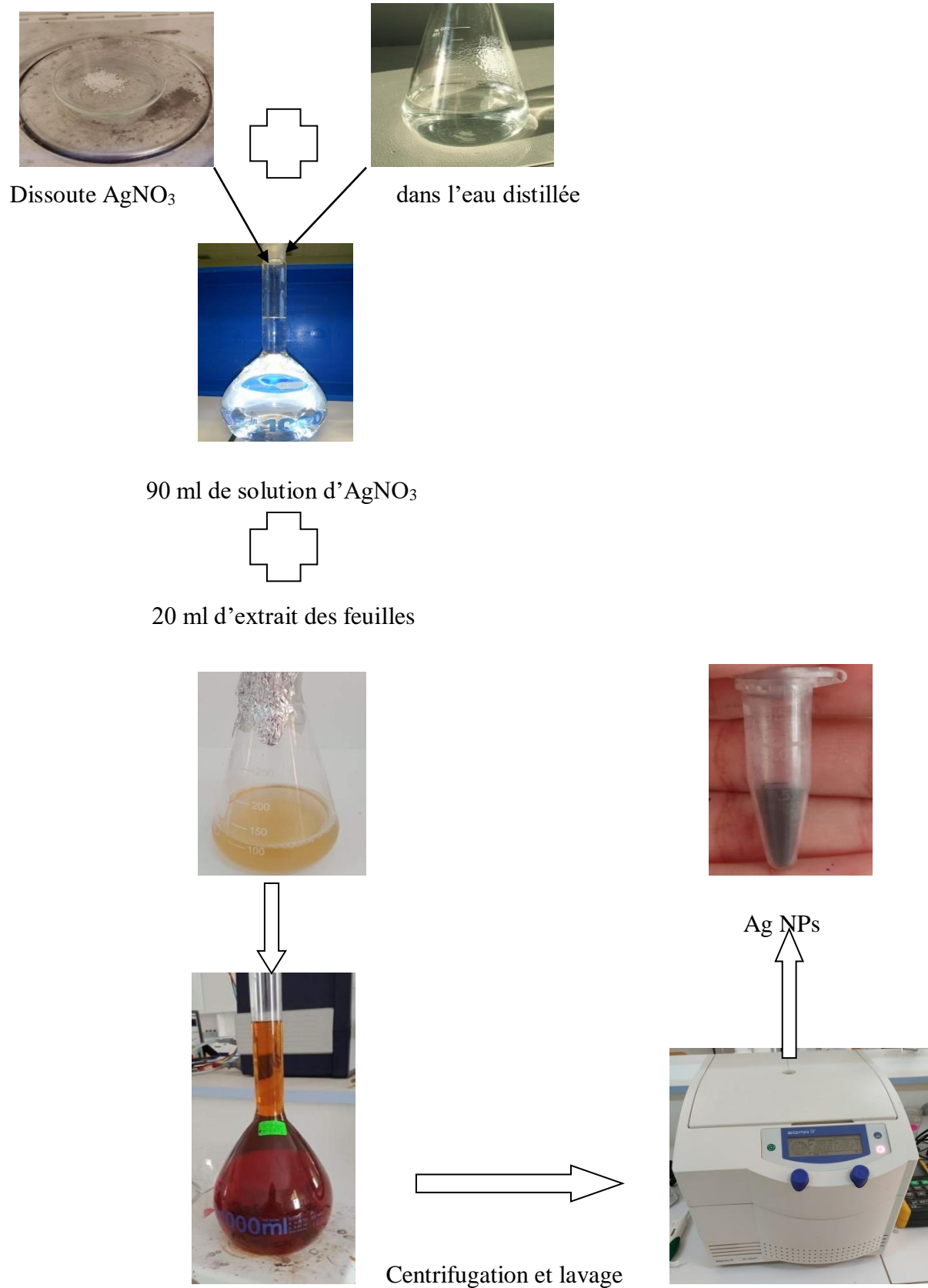


Figure 14 : Schéma illustrant le protocole de préparation de nanoparticules d'argent par extrait des feuilles du *Pistacia lentiscus*.

## 6 Evaluation des activités biologiques

### 6.1 Étude antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne, sur extraits de feuille et de graine de la plante médicinale *Pistacia lentiscus* et sur les nanoparticules d'argent à base d'extrait aqueux des feuilles de la plante, sur différentes souches bactériennes.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques (aromatogramme) pour tester la sensibilité des souches.

L'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture autour du disque, elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm (Bssaibis, Gmira et al. 2009).

#### 6.1.1 Matériel biologique

##### 6.1.1.1 Souches microbiennes

Les extraits ont été évalués sur 5 souches de références de collection internationale ATCC, Pour cela nous avons sélectionné : deux bactéries à Gram<sup>+</sup> (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus*), deux bactéries à Gram<sup>-</sup> (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*),

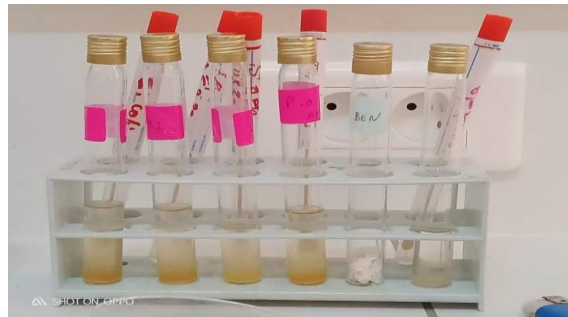


Figure 15 : Souches de références de collection internationale ATCC.

Tableau 3 : Les souches bactériennes utilisées.

Etat frais	Nom des souches	N°ATCC	Type	Maladie provoquée
Bacille	<i>Escherichia coli</i>	25922	Gram négative	Diarrhée, infection urinaire, méningite

## Matériels et méthodes

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A22		Les infections : Nosocomiales Pulmonaires urinaires
Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Gram positive	Infections cutanées, toxi-infection alimentaire. Infection nosocomiales
	<i>Staphylococcus aureus</i>	43300		

### 6.1.2 Ajustements de la charge microbienne

La densité optique (DO) est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6715 UV/Vis. Spectrophotomètre) dans une longueur d'onde de 625 nm avec un intervalle compris entre [0.08- 0.1] l'équivalent de 108 UFC/ml pour les bactéries (Tenfen, Boeder et al. 2017). Après 18h, La lecture de la DO pour chaque souche.

### 6.1.3 Préparation du milieu de culture

Pour l'étude de l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé :

- Le milieu Muller Hinton MH : Le milieu de référence le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens est la gélose nutritive Muller Hinton.
- On a pesé 17.5g du Mueller Hinton agar on lui ajouté 500 ml d'eau distillée puis on met la solution dans un agitateur chauffant.

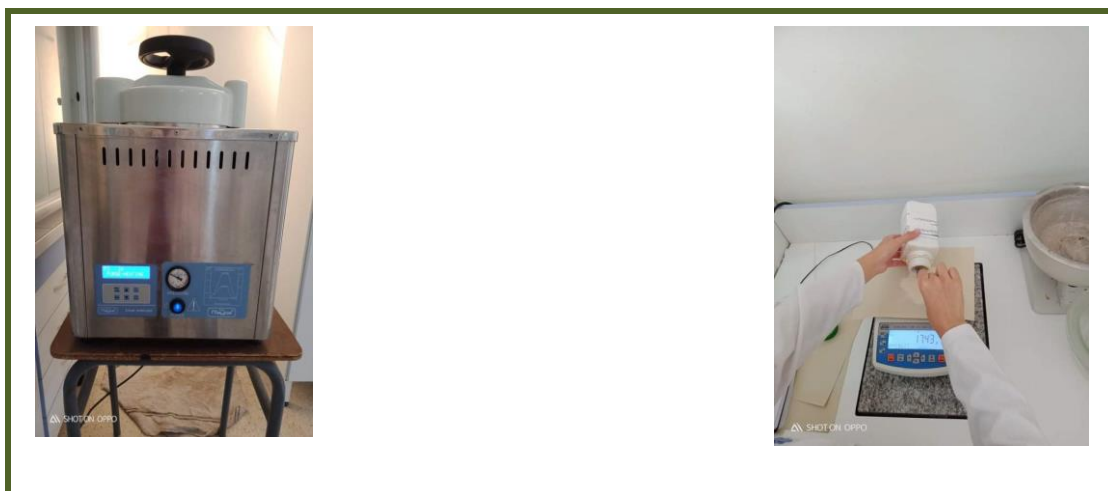


Figure 16 : Préparation du milieu de culture.



## 6.1.4 Préparation des échantillons

Pour tester l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des fruits, nous avons préparé un mélange homogène à une concentration de 12.5mg/ml à partir de l'extrait sec de chaque échantillon et de DMSO.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne avec les nanoparticules à base d'extrait aqueux des feuilles de lentisque, nous avons aussi préparés une série des différents mélanges et concentrations : solution d'AgNPs (12.5mg/ml), solution d'AgNPs (25mg/ml), solution d'AgNO<sub>3</sub> (25mg/ml), solution d'extrait aqueux des feuilles de la plante (25mg/ml).

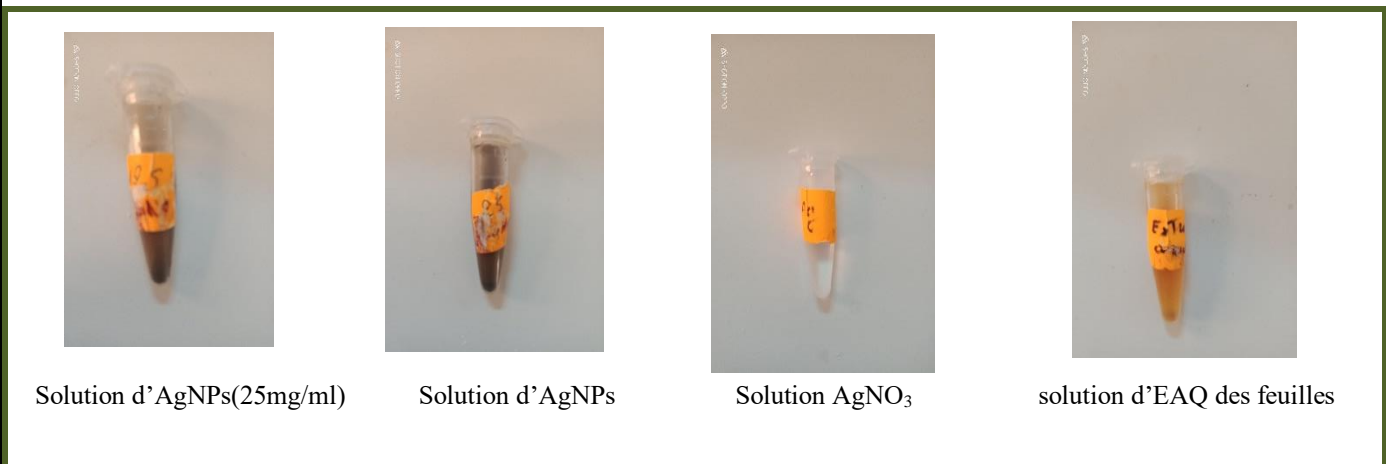


Figure 17 : Une série des différentes concentrations.

## 6.1.5 L'ensemencement et dépôt des disques

Dans un endroit stérile et à partir de la souche conservée, un ensemencement a été fait sur 8 boîtes de pétri dans un milieu contenant de la gélose de M-H, puis incubation de 24h à 37°C.



Figure 19 : La zone stérile

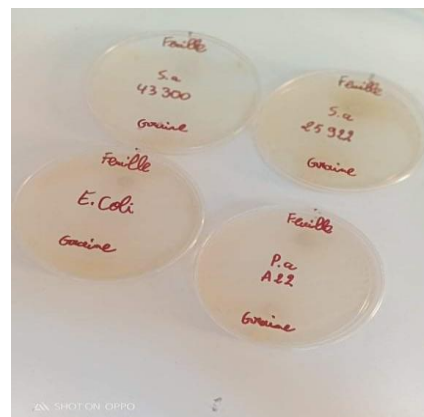


Figure 18: Des boîtes de pétries contenant de M-H

## Matériels et méthodes

L'ensemencement des souches testées a été réalisé par écouvillonnage sur la totalité de la surface du milieu de haut en bas, en stries serrées, puis nous tournons la boîte à 30° afin d'assurer une distribution homogène des bactéries.



Figure 20 : L'ensemencement des souches testées

L'aromatogramme est une méthode de diffusion sur disque (Essawi and Srouf 2000). Le but de cette méthode est de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des différents extraits. À l'aide d'une pince bactériologique, on pose à chaque extrémités deux disques stériles qui ont été placés délicatement l'un sur l'autre, puis à l'aide d'une micropipette nous injectons un volume de chaque échantillon dans les disques, et mise dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.



Figure 21 : Déposition des disques à l'aide d'une pince bactériologique.

### 6.1.6 Lecture des résultats

L'expression des résultats se fait par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition autour des disques à l'aide d'une règle exprimée en millimètres. Cette zone d'inhibition sera

comparée à une échelle d'estimation de l'activité antibactérienne (Djenadi, Micolau et al. 2011).

-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

## 6.2 Evaluation de l'activité antioxydante

### 6.2.1 Activité du radical DPPH

Le DDPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical libre qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote (Maisuthisakul 2012).

Le test DPPH pour évaluer l'activité antioxydante des produits chimiques (AH) a été suggéré pour la première fois par Blois en 1958. Ensuite, le test a été développé par Brand-Williams (Foti 2015). C'est un teste colorimétrique qui repose sur la mesure par spectrophotomètre de la capacité d'une substance antioxydante à réduire le radical DPPH de couleur violette en solution de couleur jaunâtre, ceci lorsque son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti radicalaire (Bougatef, Hajji et al. 2009).

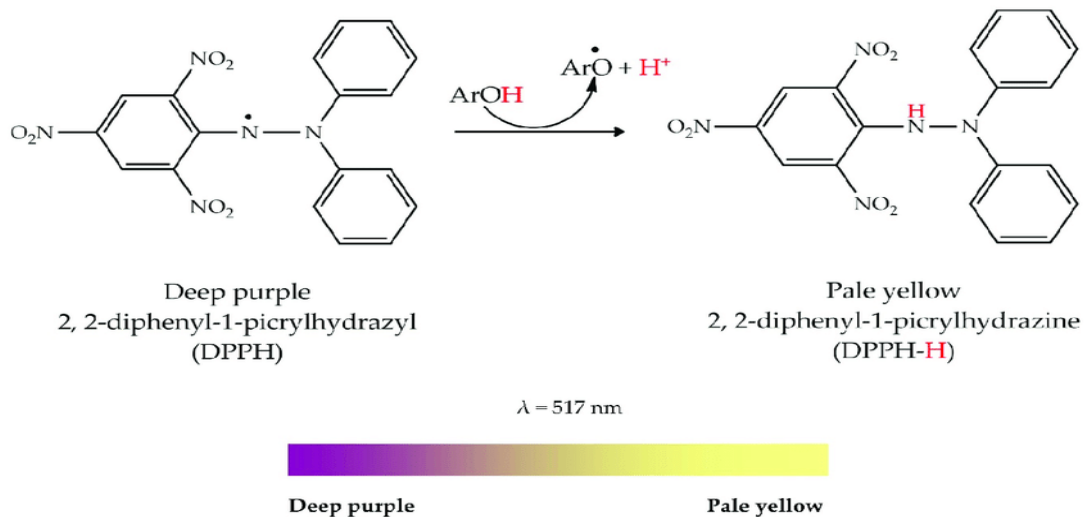


Figure 22 : Mécanisme de réaction de 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Bibi Sadeer, Montesano et al. 2020).

### 6.2.2 Mode opératoire

Cette méthode est basée sur les essais décrits par Brand-Williams avec quelques modifications. Un volume de 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,028 g/l) fraîchement préparée.

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 1ml du méthanol avec 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.

Le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante, puis la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible. Des standards de référence (acide ascorbique) ont également été analysés en respectant la même technique.

## Matériels et méthodes



Figure 23 : Réparation des solutions



Figure 24 : La lecture des concentrations par spectrophotomètre

## Matériels et méthodes

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac] \cdot 100$$

Où

Ac: Absorbance du contrôle ;

Ae: Absorbance de l'échantillon.

# **Partie III**

## **Résultats et discussion**

## 1 Teste phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur les différentes modes de préparations nous ont permis de mettre en évidence la présence de quelque métabolite secondaire présent dans notre plante étudiée par des réactions qualitatives de caractérisation (précipitation, coloration par des réactifs spécifiques, ou par un examen sous la lumière UV). Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sont illustrés dans le tableau suivant

Tableau 4 : Résultats du screening phytochimique

Métabolites secondaires		Réaction	
		EAQ feuille	EAQ fruits
Tanins	FeCl <sub>3</sub>	++++	+++
Flavonoïdes	Mg <sup>++</sup>	+++	-
Terpénoides	Chloroforme +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+++	++
Stérols	Anhydreacétique+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-
Coumarines	Fluorescence / UV	-	-
Alcaloïdes	Wanger	+++	++
	Mayer	++	++
Quinones libres	NH <sub>4</sub> OH	++	-
Saponosides	Test de mousse	++	-
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+++	++

++++ : Réaction très positive ; +++ : Réaction positive ; ++ Réaction moyennement positive ;  
+ : Réaction douteuse ; - : Test négatif



Nos résultats indiquent la présence de tanins en très forte teneur et l'absence totale des stérols et des coumarines dans les extraits aqueux des feuilles et des fruits.

On note une absence totale des flavonoïdes, des quinones libres et des saponosides et une présence des alcaloïdes, des terpénoïdes et des composés réducteurs dans l'extrait aqueux des fruits. Concernant l'extrait des feuilles, nous avons remarqués une présence flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes et composés réducteurs, et une teneur moyenne en quinones libres et saponosides.

nos résultats sont en accords avec ceux obtenus par (Arab, Bouchenak et al. 2014).

Concernant les feuilles, l'étude a révélé une teneur forte en flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes et composés réducteurs, et une teneur moyenne en quinones libres et saponosides ces résultats sont en accord avec d'autre étude menée sur le même espèce (Bammou, Daoudi et al. 2015).

On explique la présence des tanins dans les deux extraits aqueux par leurs natures chimiques, cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité physico-chimique influençant l'extraction des polyphénols(Koffi, Sea et al. 2010; Mahmoudi, Khali et al. 2013).

Ces résultats sont proches de ceux de (Dieng, Fall et al. 2017),(Arab, Bouchenak et al. 2014),(Bammou, Daoudi et al. 2015)

L'extrait aqueux polaire permet une meilleure extraction des composés, elle est due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogènes dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans des solutions vues(Sripad, Prakash et al. 1982).

## 2 Rendement des extraits aqueux

Le résultat des extractions successives est détaillé dans le Tableau 5 et la figure 25

Tableau 5 : rendements des extraits de feuilles et des fruits de *Pistacia lentiscus*.

Les extraits aqueux	Les rendements (%)
Feuilles	28.42
Fruits	11.29

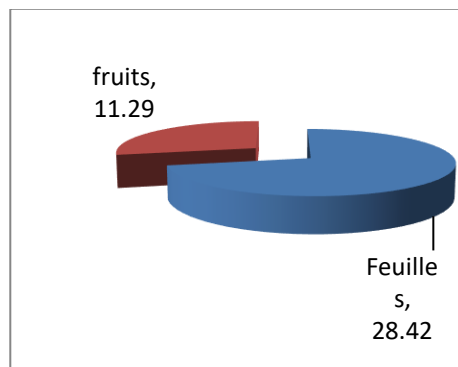


Figure 25 : Rendement d'extraction obtenue pour les différents extraits.

Le rendement des extraits des feuilles (28.42%) est supérieur à celui des fruits qui a été estimé à 11.29%. Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, de l'organe utilisé dans l'extraction, facteurs intrinsèques tel que les propriétés génétiques des plants et extrinsèques tels que l'origine géographique, les conditions et la durée de stockage du matériel végétal et aux conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée(Debbabi, Nemri et al. 2017).

D'une manière générale, l'extraction avec l'eau donne un rendement plus élevé que celle réalisée avec les autres solvants. Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécule dont une quantité importante de composés phénoliques et non phénoliques.

L'eau est plus efficace pour extraire le soluté car il a une polarité plus élevée et une chaîne plus courte(Khachatryan, Sirunyan et al. 2010).

La différence de rendement pour d'autres solvants peut être due à d'autres facteurs, notamment les composés phytochimiques présents dans les plantes, la température d'extraction et le rapport solvant / solide(Nik Rosmawati, Mohd Nazri et al. 2012).

### 3 Les activités biologiques

#### 3.1 Activités antibactériennes

##### 3.1.1 Résultat de test d'aromatogramme

L'effet antimicrobien des extraits se traduit par une zone d'inhibition autour du disque. Selon le diamètre de la zone d'inhibition les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessus

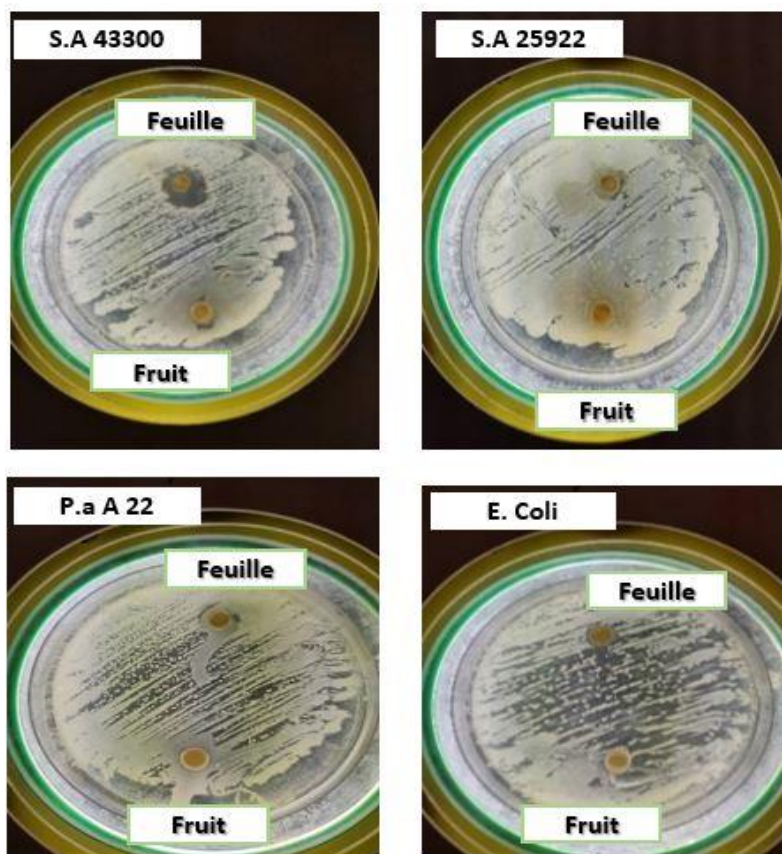


Figure 26 : Résultats d'aromatogramme des extraits des fruits et des feuilles.

La figure ci-dessous montre que les souches S.a43300 S.a25923 P.aA22 sont les plus sensibles au extrait aqueux des feuilles la grande zone d'inhibition est marquée par la souche S.a25923 (19mm) cette souche sensible à l'extrait aqueux des feuilles, suivie par S.a43300 (16mm), puis P.aA22 (15mm) et enfin E.coli avec un diamètre de (12mm).

## Résultats et discussion

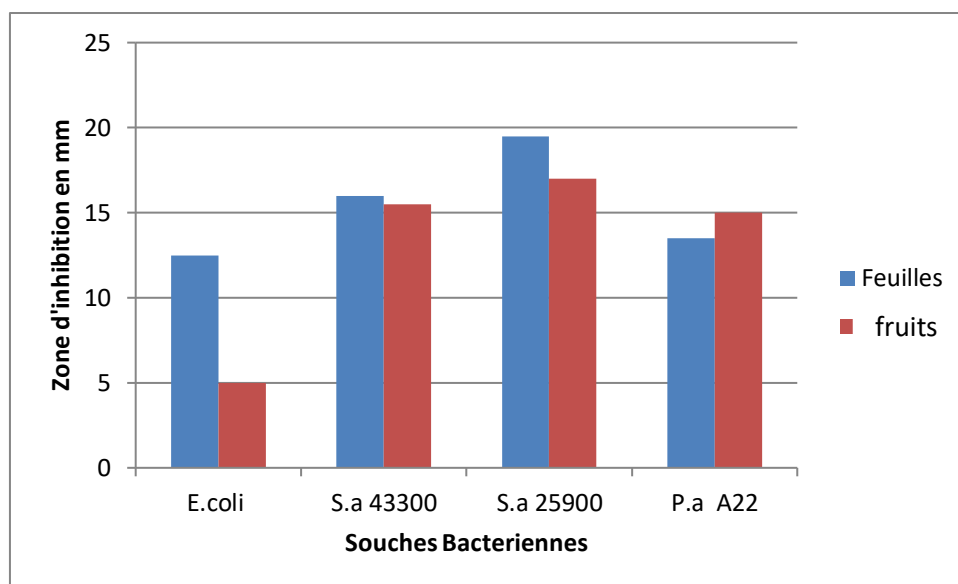


Figure 27: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des feuilles et des fruits de la plante *Pistacia lentiscus* réalisé par la méthode de diffusion sur disque.

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des différents extraits de *Pistacia lentiscus*, selon la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé Mueller-Hinton. L'effet antibactérien de nos produits se traduit par une zone d'inhibition autour des disques contenant deux extraits à tester vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300).

D'après les résultats obtenu les quatre souches étudiées sont sensibles à l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* par rapport à l'extrait aqueux des fruits, avec un diamètre variable d'une souche à l'autre. Ces résultats confirment que la plante *Pistacia lentiscus* présente des propriétés antimicrobiennes très importantes.

## Résultats et discussion

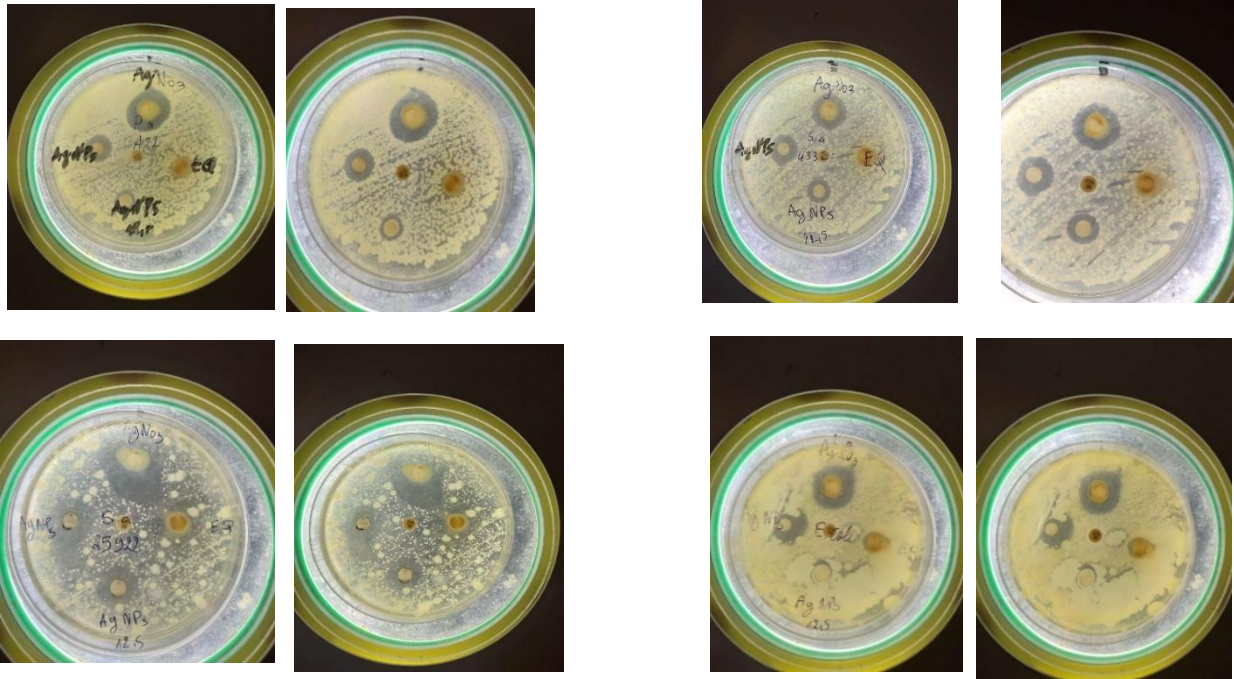


Figure 28 : Résultats d'aromatogramme de l'activité antibactérienne avec les nanoparticules d'argent

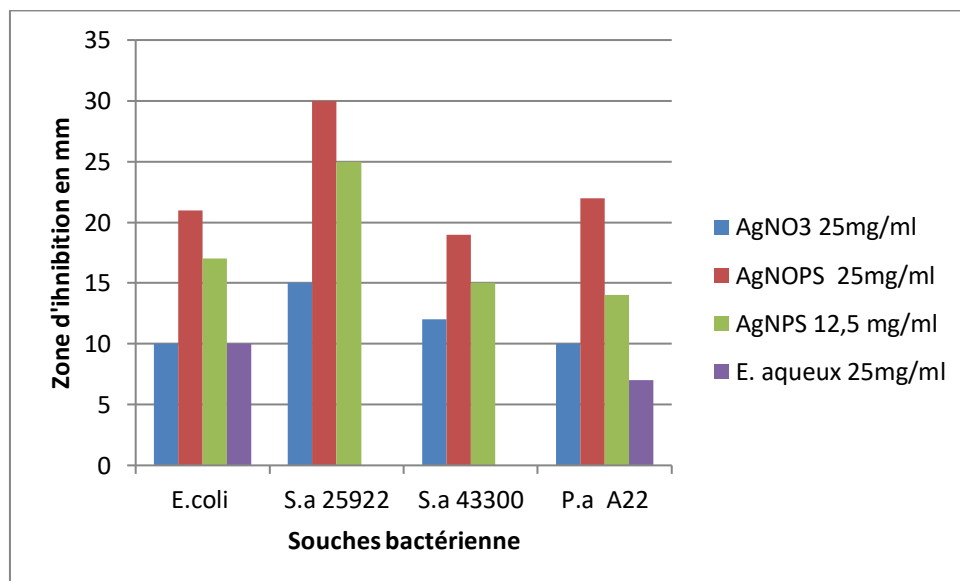


Figure 29 : La Représentation graphique de l'activité antimicrobienne des Nanoparticules à base d'extrait par rapport au nitrate d'argent et extrait aqueux réalisé par la méthode de diffusion sur disque

La figure 29 a montré Quelle que soit la bactérie utilisée, on observe des halos d'inhibition autour d'AgNPs, ce qui signifie qu'il y a des phénomènes de diffusion de l'agent antibactérien

et qui indiquaient que les AgNPs présentent un effet inhibiteur de la croissance bactérienne. Donc L'argent a été l'un des premiers antimicrobiens utilisés historiquement, mais notre étude montre que les AgNPs peuvent être plus efficaces que l'argent.

Il a été constaté que les AgNPs formés avaient une activité antibactérienne améliorée et les résultats montrent que la richesse d'extrait des feuilles du *Pistacia lentisque* en composés phénoliques à un effet Synergique élevé.

Les observations menées révèlent qu'à l'aide d'extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*, les AgNPs synthétisés confirment leur effet antibactérien sur les pathogènes Courants dont *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Des études antérieures ont indiqué que le pouvoir antimicrobien est non seulement en fonction de la nature chimique et la composition de l'extrait (Singh, Maurya et al. 2005) selon l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne de l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* est due à la présence des flavonoïdes, des tanins et des terpènes.

Nous avons conclu que nous n'avons pas remarqué une grande différence de notre étude avec les études des autres chercheurs, ce qui peut être due à la situation géographique et aux conditions climatiques ce qui confirme par certains études que l'altitude est un facteur modifiant la phytochimie des végétaux (Tkachev, Gur'ev et al. 2006; Haider, Ballester et al. 2009).

Nos observations se concordent avec d'autre étude, (Kordali, Cakir et al. 2003) qui a indiqué que les extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* sont avères efficaces contre un grand nombre de micro-organisme tels que les bactéries (E. coli , S.aureus).

Tandis que les résultats liés aux nanoparticules présentent une forte activité antibactérienne, on note une suppression de (20 µl) de la population bactérienne déposée pour les 4 souches étudiées.

Le pouvoir antimicrobien est non seulement en fonction de la nature chimique et la composition de l'extrait, mais aussi des méthodes utilisées pour l'extraction et pour l'évaluation de l'activité antibactérienne (Rodriguez-Tudela, Barchiesi et al. 2003).

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits. La variation de la composition chimique explique donc les

variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes.

Dans les travaux actuels, la taille des particules joue un rôle important dans la détermination du comportement biologique des nanomatériaux. La grande surface des nanoparticules fait que le nombre d'atomes ou de molécules à la surface augmente de façon exponentielle pour offrir une réactivité élevée

Ces effets dépendent à la fois de la taille et de la forme de ces objets. En effet il a pu être observé que ces nanoparticules peuvent être internalisées par les cellules, adsorbées à des protéines et accumulées dans de nombreux organites (Sayes, Reed et al. 2007).

Des souches bactériennes sensibles sont également souvent utilisées pour déterminer avec précision l'activité antibactérienne des nanoparticules. Par conséquent, il est impossible d'estimer l'action antibactérienne des nanoparticules uniquement par la culture cellulaire bactérienne *in vitro.*, telle que la manière dont les nanoparticules traversent la membrane cellulaire bactérienne. La paroi cellulaire bactérienne est à la fois une barrière et un canal pour le mouvement entrant et sortant des substances. Dans les membranes des cellules bactériennes à Gram négatif, les porines, qui permettent généralement le passage de molécules inférieures à 600 Da, sont les principaux canaux pour le mouvement des molécules étrangères entrant et sortant du corps cellulaires bactériens. Par conséquent, le transport de presque toutes les nanoparticules sera limité en raison de leur taille. Cependant certains spécialistes ont suggéré que les porines pouvaient faciliter le passage des nanoparticules dont le diamètre est compris entre 1 et 9 nm à travers la structure pariétale bactérienne (Neal 2008). Une endocytose bactérienne, similaire à celle observée pour les cellules eucaryotes, peut être considérée comme un autre mécanisme (Mu, Tang et al. 2016). Cependant aucun résultat n'a été présenté sur ce sujet. Actuellement, le mécanisme le plus raisonnable est que l'exposition des cellules bactériennes à de faibles concentrations de nanoparticules provoque la désintégration complète des cellules et l'élimination de la couche de LPS (uniquement chez les Gram négatifs). De plus les études portant sur les mécanismes inhibiteurs intracellulaires restent limitées.



### 3.2. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante in vitro est faite par plusieurs techniques. Ces méthodes se basent exclusivement sur la capacité réductrice ou piégeage des radicaux comme étant un indicateur de son potentiel antioxydant.

L'activité antioxydant des extraits aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* et les NPs d'Ag a été déterminée par l'Activité antiradicalaire DPPH et l'acide ascorbique est utilisé comme standard pour préparer la gamme d'étalonnage.

Calcul de d'IC<sub>50</sub>

L'IC<sub>50</sub> est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Les valeurs inférieures d'IC<sub>50</sub> indiquent l'efficacité de l'échantillon et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort. En générale, Les extraits les plus riches en composés phénoliques manifestent les activités les plus importantes contre le radical DPPH.

Les résultats des concentrations efficaces des échantillons testés qui causent la réduction de 50% du DPPH° sont résumés dans les figures suivantes :

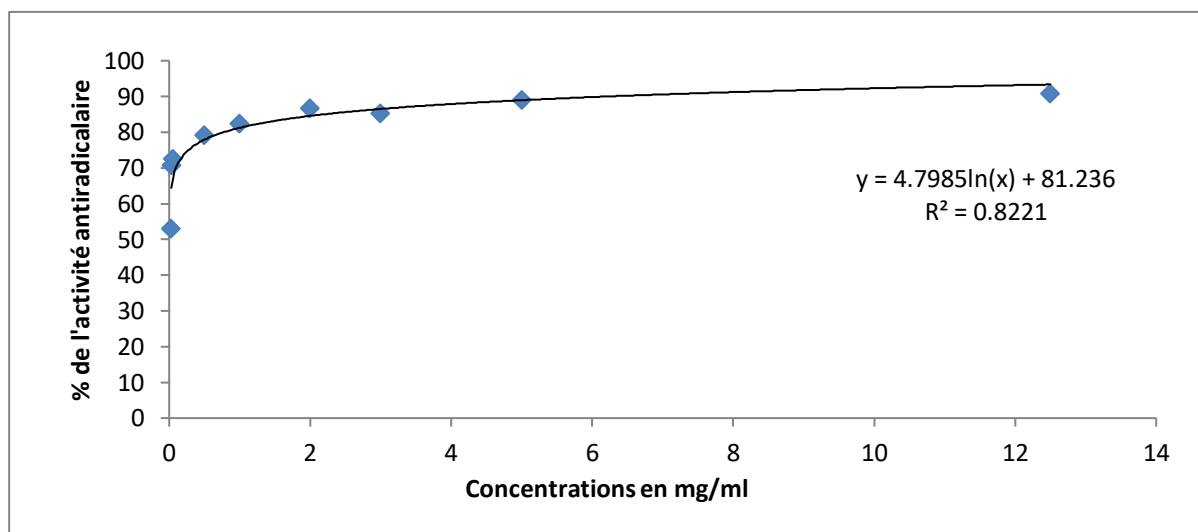


Figure 30 : Activité anti-radicalaire de l'extrait des feuilles



## Résultats et discussion

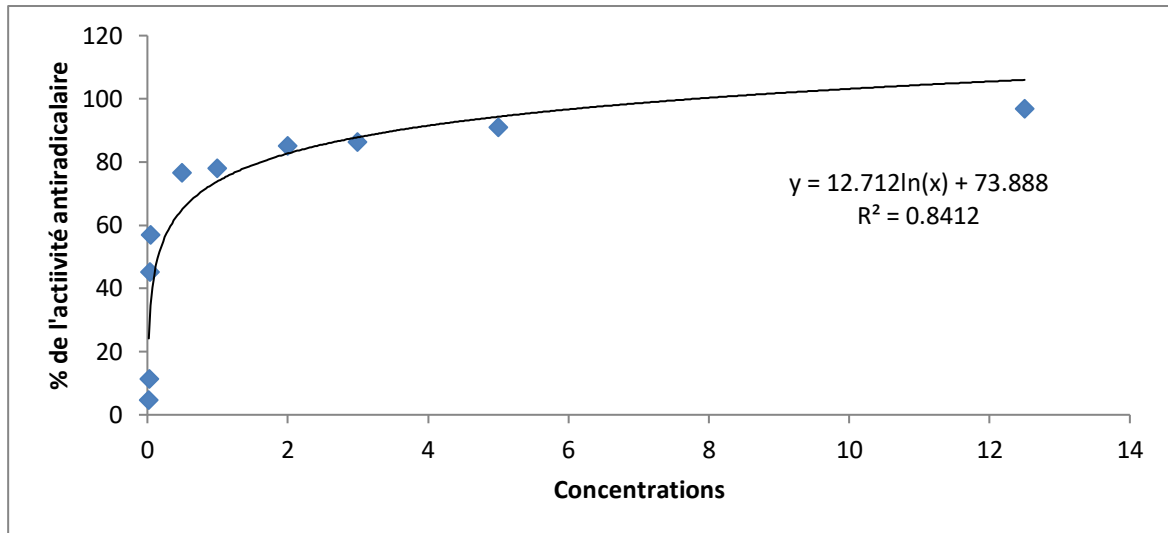


Figure 31 : Activité anti-radicalaire de l'extrait des fruits

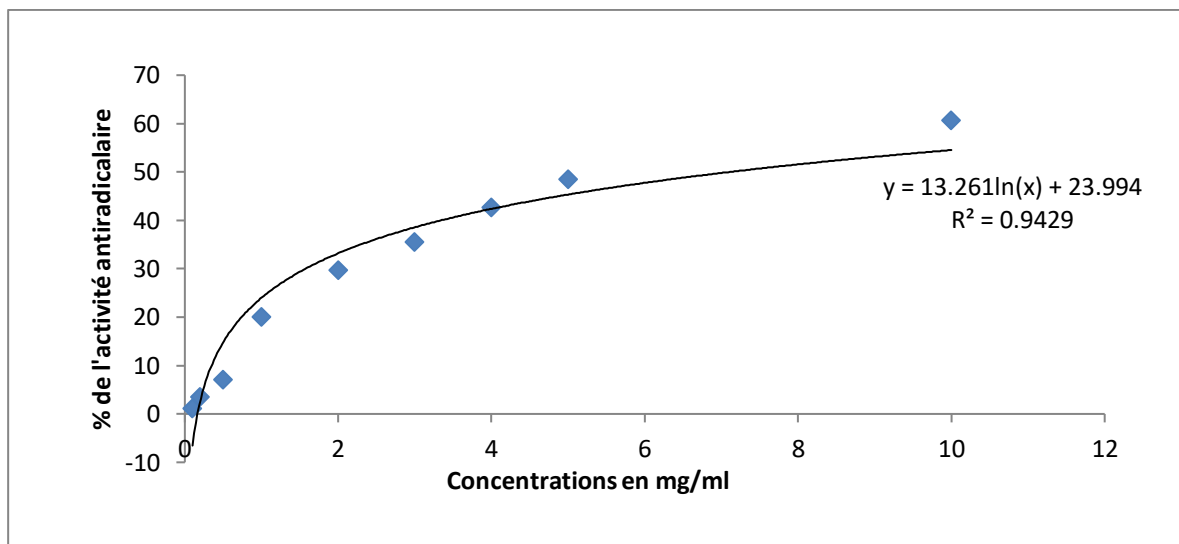


Figure 32 : Activité anti-radicalaire des nanoparticules à base d'extrait aqueux des feuilles

## Résultats et discussion

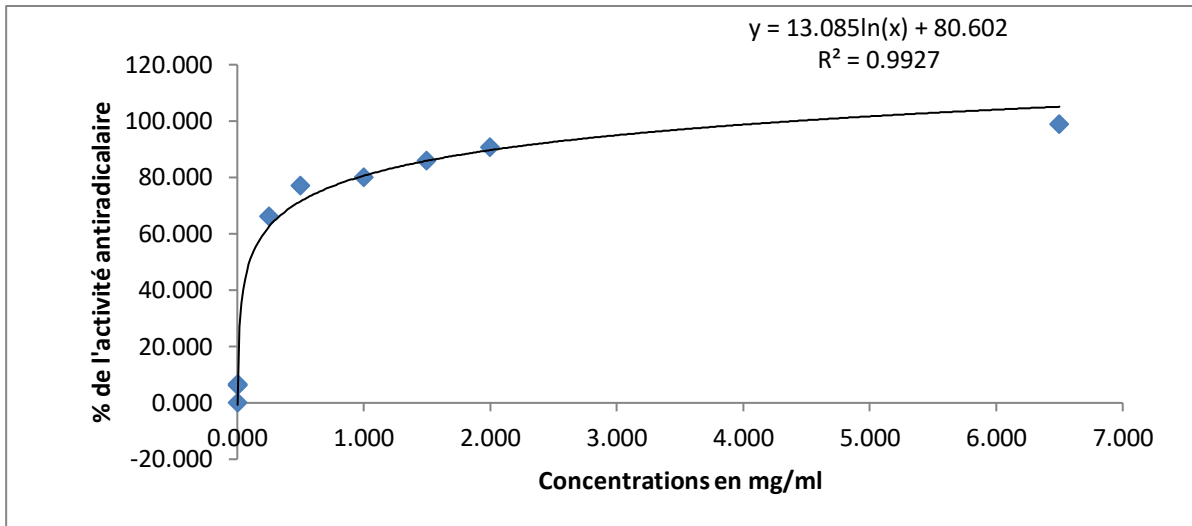


Figure 33 : Activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique

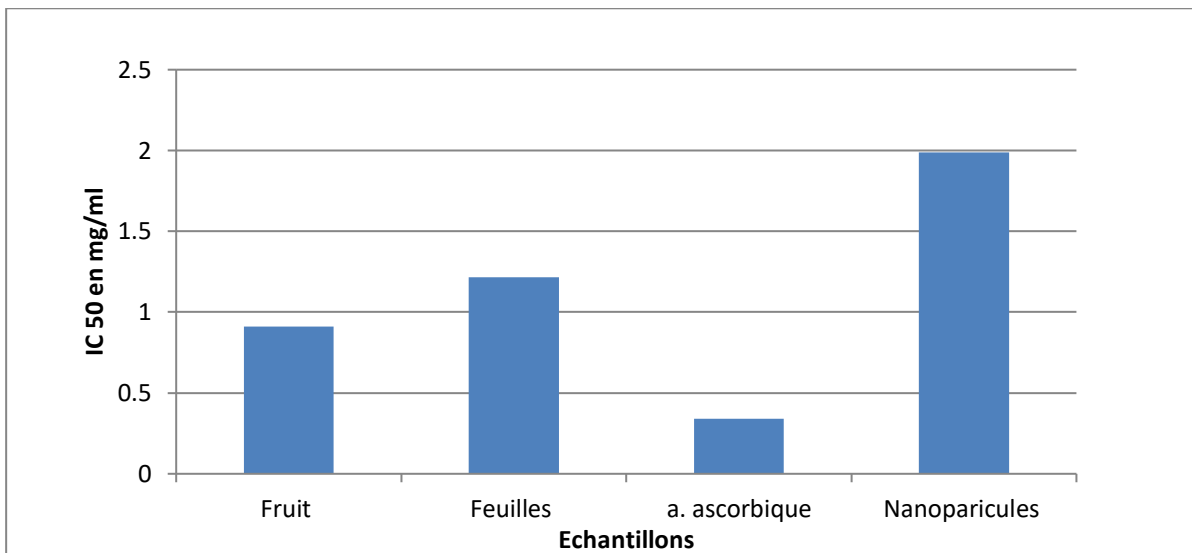


Figure 34 : représentation graphique montre la comparaison des extraits avec les témoins par rapport à l'IC 50

Ces résultats montrent que les deux échantillons présentent une capacité de piéger le radical DPPH. Les extraits des fruits et des feuilles du *Pistacia lentiscus* étaient les plus actifs et pouvaient ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) violet en diphenyl-picrylhydrazine jaune avec des IC<sub>50</sub> de 0.9093 mg/ml et de 1.2145 mg/ml, respectivement. Les nanoparticules à base d'extrait aqueux des feuilles étaient les moins actives avec d'IC<sub>50</sub> de 1.988 mg/ml. Comme figurant dans, les trois échantillons (Les extraits des feuilles et des fruits du *Pistacia lentiscus* et NPs d'Ag possèdent une capacité de neutralisation de DPPH° inférieur à celui de standard (acide ascorbique).

## Résultats et discussion

On suppose que les extraits présentant moins d'activité antioxydante sont moins riches en composé flavoniques doués d'une activité de piégeage des radicaux libre dont cette activité est strictement liée à la structure du composé flavonique lui-même dont de nombreuses études ont établi la relation entre la structure et l'activité antiradicalaire des flavonoïde (Amić, Davidović-Amić et al. 2003).

La molécule d'acide ascorbique (employé comme témoin) et sa forme déprotonée, l'ascorbate, sont des agents réducteurs. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles  $\cdot\text{OH}$ , mais aussi avec les radicaux superoxydes  $\text{O}_2$  et leur forme protonée  $\text{HO}_2$  (Gardès-Albert, Bonnefont-Rousselot et al. 2003).

On explique la faible efficacité des nanoparticules par rapport à l'efficacité d'extraits aqueux des feuilles et fruits par la durée et méthodes d'extraction. Pour l'extrait aqueux qui joue un rôle d'agent réducteur dans la synthèse des nanoparticules a été macérer pendant 15 minutes et a une température de  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , alors que l'extrait aqueux des feuilles mis à macérer sous agitation à une température ambiante pendant 72 h. Donc l'extrait aqueux des feuilles et des fruits a plus de temps dans la préparation par l'extraction.

L'effet antioxydant des nanoparticules est attribuée à la composition chimique de l'extrait.

L'activité anti-oxydante est attribuée à la composition chimique des extraits. Cependant, elle peut être due à l'un des constituants majoritaires ou à d'autres constituants minoritaires ou également à une synergie entre eux (Wang, Wu et al. 2008).

Donc l'effet antioxydant de l'extrait des fruits est attribuée à la composition chimique de l'extrait qui contenus une concentration très élevée en composés phénoliques.

On explique l'utilisation de la technique DPPH par sa rapidité à donner les résultats, comme elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits de végétaux (Kessels, Nguyen et al. 2010; Ren, Lu et al. 2019).

# Conclusion

## Conclusion Générale

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement.

Les nanoparticules métalliques ont été utilisées dans une large gamme d'applications dans divers domaines. En général, les nanoparticules utilisées dans le domaine des biotechnologies ont une granulométrie comprise entre 10 et 500 nm, dépassant rarement 700 nm. Les nanoparticules d'argent ou nano-argent sont des molécules ayant une taille de 20-40 nm, ils composées à 80% d'atome d'argent et à 20% d'ions argent.

Ce travail a commencé par un criblage phytochimique de la plante *Pistacia lentiscus* qui révèle la présence des composés bioactifs : les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les quinones libres, les terpénoïdes et les composés réducteurs.

Nous avons déduit que le meilleur rendement revient à l'extrait des feuilles 28.42%.

La synthèse des nanoparticules d'argent a été réalisé par une voie verte c'est une méthode simple et respectueuse de l'environnement. L'eau a été utilisée comme solvant et l'utilisation de l'extrait des feuilles du *Pistacia lentiscus* comme agent stabilisant pour la réduction du nitrate d'argent a été validée.

D'autre part, l'évaluation de leur effet antibactérien est réalisée par la méthode de diffusion sur disque contre les quatre souches bactériennes (Deux à Gram négatif et deux à Gram positif). Les nanoparticules synthétisées ont montré un effet bactérien très important par rapport les extraits aqueux des feuilles. Ces résultats confirment que la plante *Pistacia lentiscus* présente des propriétés antimicrobiennes très importante.

Nous pouvons dire aussi que les extraits aqueux des feuilles et des fruits, et les nanoparticules d'argent étudiées ont une bonne activité anti-oxydante et une capacité de piégeage des radicaux libres. L'extrait des fruits était le plus active avec d'IC50 égale à 0.9093 mg/ml, et pour l'extrait des feuilles et les nanoparticules d'argent étaient les moins actives avec des IC50 respectifs de 1.2145 mg/ml et 1.988 mg/ml.

# **Références bibliographiques**

- (2021). Silver. Encyclopedic Dictionary of Archaeology. Cham, Springer International Publishing: 1254-1254.
- Abbasi, E., M. Milani, et al. (2016). "Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties." Critical reviews in microbiology **42**(2): 173-180.
- Abuduli, A., Y. Aydin, et al. (2016). "Molecular evaluation of genetic diversity in wild-type mastic tree (*Pistacia lentiscus* L.)." Biochemical genetics **54**(5): 619-635.
- Aissi, O., M. Boussaid, et al. (2016). "Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities." Industrial Crops and Products **91**: 56-65.
- Akbar, S. (2020). "Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications."
- Amić, D., D. Davidović-Amić, et al. (2003). "Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids." Croatica chemica acta **76**(1): 55-61.
- Arab, K., O. Bouchenak, et al. (2014). "Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L." Journal of Fundamental and Applied Sciences **6**(1): 77-91.
- Bammou, M., A. Daoudi, et al. (2015). "Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien." Journal of applied biosciences **86**: 7966–7975-7966–7975.
- Beghlal, D., K. El Bairi, et al. (2016). "Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus* (L.)." Asian Pacific Journal of Tropical Disease **6**(4): 305-310.
- Belyagoubi-Benhammou, N., L. Belyagoubi, et al. (2018). "Fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. fruit fatty oil from Algeria." Journal of Food Measurement and Characterization **12**(2): 1408-1412.
- Benhammou, N., F. A. Bekkara, et al. (2008). "Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts." African Journal of Pharmacy and Pharmacology **2**(2): 022-028.
- Bougatef, A., M. Hajji, et al. (2009). "Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases." Food chemistry **114**(4): 1198-1205.
- Bousta, D. and A. Ennabili (2011). "L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc." Phytotherapie **9**(5): 297-303.
- Bouzid, A., R. Chadli, et al. (2017). "Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale." Phytotherapie **15**(6): 373-378.
- Brahmi, F., S. Haddad, et al. (2020). "Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels." Industrial Crops and Products **151**: 112456.
- Browicz, K. (1987). "*Pistacia lentiscus* cv. Chia (Anacardiaceae) on Chios island." Plant systematics and evolution **155**(1): 189-195.
- Bssaibis, F., N. Gmira, et al. (2009). "Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter." Rev Microbiol Ind San et Environn **3**(1): 44-45.
- Chaabi, M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: *Euphorbia stenoclada* Baill.(Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr.(Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.(Plumbaginaceae), Strasbourg 1.
- Chabrier, J.-Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, UHP-Université Henri Poincaré.
- Charef, M., M. Yousfi, et al. (2008). "Determination of the fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria." Journal of the American Oil Chemists' Society **85**(10): 921-924.
- Cheurfa, M. and R. Allem (2015). "Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts in vivo." Revista Brasileira de Farmacognosia **25**(2): 142-144.

- Clément, R.-P. (2005). "Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1 re partie)." Phytothérapie **3**(4): 171-175.
- Coffi, A., R. Philippe, et al. (2012). "Efficacité des composés métabolites secondaires extraits des folioles du palmier à huile contre les larves de la mineuse des feuilles, *Coelaenomenodera lameensis* (Coleoptera: Chrysomelidae)." Numéro spécial Productions Végétales et Animales et Economie et Sociologie Rurale: 56-65.
- Correia, O. and M. D. Barradas (2000). "Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L." Plant Ecology **149**(2): 131-142.
- Couic-Marinier, F., A. Touboul, et al. (2021). "Les fondamentaux du conseil en aromathérapie." Actualités Pharmaceutiques **60**(604): S8-S11.
- Debbabi, H., K. Nemri, et al. (2017). "Antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. foliar extracts on fresh turkey breast cutlets." Journal of New Sciences **40**: 2144-2152.
- Desai, R., V. Mankad, et al. (2012). "Size distribution of silver nanoparticles: UV-visible spectroscopic assessment." Nanoscience and Nanotechnology Letters **4**(1): 30-34.
- Dieng, S. I. M., A. D. Fall, et al. (2017). "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach." International Journal of Biological and Chemical Sciences **11**(2): 768-776.
- Djenadi, R., G. Micolau, et al. (2011). Fast extraction of extrinsic cells in a NVM array after retention under gate stress. 2011 International Semiconductor Device Research Symposium (ISDRS), IEEE.
- Essawi, T. and M. Srour (2000). "Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity." Journal of ethnopharmacology **70**(3): 343-349.
- Farcas, F. and P. Touze (2001). "La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)." Une méthode intéressante pour la caractérisation des ciments (in French) Bull. Lab. Ponts Chaussées **230**: 77-88.
- Fellah, S., M. Romdhane, et al. (2006). "Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. I cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie." Journal-Societe Algerienne De Chimie **16**(2): 193.
- Foti, M. C. (2015). "Use and Abuse of the DPPH• Radical." Journal of agricultural and food chemistry **63**(40): 8765-8776.
- Gardès-Albert, M., D. Bonnefont-Rousselot, et al. (2003). "Espèces réactives de l'oxygène." L'actualité chimique: 91.
- Ghedira, K. (2005). "Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique." Phytothérapie **3**(4): 162-169.
- GOETZ, P. (2013). "La diversité de la phytothérapie." Phytothérapie **11**(3): 147-148.
- Goetz, P. (2015). "Revue commentée des plantes médicinales." Phytothérapie **13**(2): 141-143.
- Guilger-Casagrande, M. and R. d. Lima (2019). "Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review." Frontiers in bioengineering and biotechnology **7**: 287.
- Hafsé, M., K. F. Benbrahim, et al. (2015). "Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de *Pistacia lentiscus* au Nord du MAROC (Taounate)/[Ethnobotanical survey on the use of *Pistacia lentiscus* in northern MOROCCO (Taounate)]." International Journal of Innovation and Applied Studies **13**(4): 864.
- Haider, S., B. Ballester, et al. (2009). "BioMart Central Portal—unified access to biological data." Nucleic acids research **37**(suppl\_2): W23-W27.
- Hamlat, N., A. Benarfa, et al. (2019). "Assessment of the contents of essential and potentially toxic elements in *Pistacia terebinthus* L. and *Pistacia lentiscus* L. by INAA technique." Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry **322**(2): 1127-1131.
- Iserin, P. (2001). "Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Edition Larousse Paris."
- Jaeg, J. (2019). "Evaluation de la qualité et de la toxicité des médicaments vétérinaires phytothérapeutiques." Revue Méd Vét **170**(1-3): 22-33.
- Jiofack, T., C. Fokunang, et al. (2009). "Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon." African Journal of Pharmacy and Pharmacology **3**(4): 144-150.



- Kanoun, K., B. Abbouni, et al. (2016). "Étude de l'activité des extraits de feuilles de Punica granatum Linn sur Candida albicans et Rhodotorula spp." Phytotherapie **14**(1): 5-16.
- Karumi, Y. (2004). "Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ougbuaja." Journal of Medical Sciences **4**(3): 179-182.
- Kémajou, A., L. Mba, et al. (2012). "Effet du séchage sur les principes actifs des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces de Alstonia boonei Wild, plante antipaludéenne." Nature & Technology(7): 62.
- Keshari, A. K., R. Srivastava, et al. (2020). "Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by Cestrum nocturnum." Journal of Ayurveda and integrative medicine **11**(1): 37-44.
- Kessels, H. W., L. N. Nguyen, et al. (2010). "The prion protein as a receptor for amyloid- $\beta$ ." Nature **466**(7308): E3-E4.
- Khachatryan, V., A. Sirunyan, et al. (2010). "Observation of long-range, near-side angular correlations in proton-proton collisions at the LHC." Journal of High Energy Physics **2010**(9): 1-38.
- Khiari, K., L. Tarabet, et al. (2019). "Optimization of Pistacia lentiscus oil transesterification process using central composite design." Waste and Biomass Valorization **10**(9): 2575-2581.
- Koffi, E., T. Sea, et al. (2010). "Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants." Journal of Animal and Plant Sciences (JAPS) **5**(3): 550-558.
- Kordali, S., A. Cakir, et al. (2003). "Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey." Fitoterapia **74**(1-2): 164-167.
- Lanone, S. and J. Boczkowski (2010). "Les sources de nanoparticules." Revue française d'allergologie **50**(3): 211-213.
- Lardry, J.-M. and V. Haberkorn (2007). "L'aromathérapie et les huiles essentielles." Kinésithérapie, la revue **7**(61): 14-17.
- Lee, S. H. and B.-H. Jun (2019). "Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine." International journal of molecular sciences **20**(4): 865.
- Liang, X., S. Luan, et al. (2018). "Recent advances in the medical use of silver complex." European journal of medicinal chemistry **157**: 62-80.
- Liu, J.-f., S.-j. Yu, et al. (2012). "Methods for separation, identification, characterization and quantification of silver nanoparticles." TrAC Trends in Analytical Chemistry **33**: 95-106.
- Macheix, J.-J. (1996). "Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?" Acta botanica gallica **143**(6): 473-479.
- Mahmoudi, S., M. Khali, et al. (2013). "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)." Nature & Technology(9): 35.
- Maisuthisakul, P. (2012). "Phenolic constituents and antioxidant properties of some Thai plants." Phytochemicals-A Global Perspective of their role in Nutrition and Health, Venketeshwer Rao, Editor. In Tech Croatia: 187-212.
- Malunga, L. N., S. Joseph Thandapilly, et al. (2018). "Cereal-derived phenolic acids and intestinal alpha glucosidase activity inhibition: Structural activity relationship." Journal of Food Biochemistry **42**(6): e12635.
- Mathur, P., S. Jha, et al. (2018). "Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles." Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology **46**(sup1): 115-126.
- Moatti, R. (1990). "La phytothérapie." Revue des Deux Mondes.
- Mody, V. V., R. Siwale, et al. (2010). "Introduction to metallic nanoparticles." Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences **2**(4): 282.
- Mu, H., J. Tang, et al. (2016). "Potent antibacterial nanoparticles against biofilm and intracellular bacteria." Scientific reports **6**(1): 1-9.
- Neal, A. L. (2008). "What can be inferred from bacterium–nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles?" Ecotoxicology **17**(5): 362-371.

- Nik Rosmawati, N., S. Mohd Nazri, et al. (2012). "The rate and risk factors for anemia among pregnant mothers in Jerneh Terengganu, Malaysia." J Community Med Health Educ **2**(150): 2161-0711.1000150.
- Oloyede, O. (2005). "Chemical profile of unripe pulp of Carica papaya." Pakistan journal of nutrition **4**(6): 379-381.
- Ouedraogo, S., J. Yoda, et al. (2021). "Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales." International Journal of Biological and Chemical Sciences **15**(2): 750-772.
- PARLE, O. (1991). "huiles essentielles."
- Pereira, D. M., P. Valentão, et al. (2009). Phenolics: From chemistry to biology, Molecular Diversity Preservation International.
- Petit, T. and L. Puskar (2018). "FTIR spectroscopy of nanodiamonds: Methods and interpretation." Diamond and Related Materials **89**: 52-66.
- Podolak, I., A. Galanty, et al. (2010). "Saponins as cytotoxic agents: a review." Phytochemistry Reviews **9**(3): 425-474.
- Pulit-Prociak, J. and M. Banach (2016). "Silver nanoparticles—a material of the future...?" Open Chemistry **14**(1): 76-91.
- Ren, Z.-A., W. Lu, et al. (2019). Superconductivity at 55 K in iron-based F-doped layered quaternary compound Sm [O<sub>1-x</sub>F<sub>x</sub>] FeAs. Superconductivity Centennial, World Scientific: 223-227.
- Rodriguez-Tudela, J., F. Barchiesi, et al. (2003). "Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts." Clinical Microbiology and Infection **9**(8): i-viii.
- Sayes, C. M., K. L. Reed, et al. (2007). "Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles." Toxicological sciences **97**(1): 163-180.
- Silver, S. (2003). "Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds." FEMS Microbiology Reviews **27**(2-3): 341-353.
- Silver, S., L. T. Phung, et al. (2006). "Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds." Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology **33**(7): 627-634.
- Singh, G., S. Maurya, et al. (2005). "Chemical constituents, antimicrobial investigations, and antioxidative potentials of Anethum graveolens L. essential oil and acetone extract: Part 52." Journal of food science **70**(4): M208-M215.
- Srikar, S. K., D. D. Giri, et al. (2016). "Green synthesis of silver nanoparticles: a review." Green and Sustainable Chemistry **6**(1): 34-56.
- Sripad, G., V. Prakash, et al. (1982). "Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents." Journal of Biosciences **4**(2): 145-152.
- Tenfen, A., A. M. Boeder, et al. (2017). "Chemical composition, antibacterial and antimycoplasma activities of four Eugenia species growing in Brazil." Journal of Medicinal Plants Research **11**(39): 596-602.
- Thévenin, T. (2017). "Quelle éthique, quelles pratiques pour des plantes médicinales de qualité?" Phytotherapie **15**(3): 123-130.
- Tkachev, A., A. Gur'ev, et al. (2006). "Acorafuran, a new sesquiterpenoid from Acorus calamus essential oil." Chemistry of natural compounds **42**(6): 696-698.
- Trease, G. and W. Evans (1987). A text book of Pharmacognosy. Tindal, Oxford: ELSB/Bailliere.
- Wang, W., N. Wu, et al. (2008). "Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components." Food chemistry **108**(3): 1019-1022.
- Wood, C. M. (2011). Silver. Fish physiology, Elsevier. **31**: 1-65.
- Young, J. A. (2004). "Silver." Journal of Chemical Education **81**(4): 478.
- Yu, S.-j., Y.-g. Yin, et al. (2013). "Silver nanoparticles in the environment." Environmental Science: Processes & Impacts **15**(1): 78-92.

Zhang, X.-F., Z.-G. Liu, et al. (2016). "Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches." International journal of molecular sciences **17**(9): 1534.

العيفاوي, سمير, et al. (2020). "Synthèse verte de nanoparticules d'argent."