

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche*  
*Scientifique*  
*Université A.MIRA-BEJAIA*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département De Microbiologie*  
*Spécialité Biotechnologie et Santé*



Réf :.....

# **Mémoire de Fin de Cycle**

En vue d'obtention du diplôme

**Master**

*Thème*

---

*Synthèse verte de nanoparticules d'argent à partir  
d'extraits de Thapsia garganica et évaluation de leur  
activité antibactérienne*

---

Présenté par :

**ALLOU Amir & SADOUDI Bilal**

**Soutenu : Septembre 2023**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> CHIBANE Nouara	MCB	Présidente
M <sup>me</sup> BOUDRIA Asma	MCA	Promotrice
M <sup>me</sup> IDRES Nacera	MCB	Examinatrice

---

**Année Universitaire : 2022/2023**

---

# Dédicaces

“ *To thee, a steadfast companion through the arduous journey until I didst find the grace to tread my own path, I extend my heartfelt gratitude.*

”

- *Sadoudi Bilal*

# Dédicaces

“ *To those beneath the wheel.*

”

- *Allou Amir*

# Remerciements

“ Tout d’abord, nous tenons à exprimer notre plus profonde et sincère reconnaissance à notre encadrante, Mme Buddha, sans qui ce travail n’aurait pas vu le jour. Sa rigueur scientifique nous a donné l’exemple de comment un bon scientifique doit se comporter. Pour tous ses conseils, nous tenons à lui dire merci.

Un très grand merci notamment est dû à Mme la présidente Chibane Nouara et à l’honorable examinatrice Mme Idres Nacera qui ont si humblement et généreusement bien voulu prendre part à ce modeste travail en nous offrant leur jugement pragmatique.

On ne peut évidemment oublier Internet. Sans elle, nous n’auriez pas eu accès aux recherches de nos pairs de la communauté scientifique. Ce projet est le fruit d’effort de travaux antérieurs auxquels nous sommes honorés d’y ajouter, ne serait-ce une infime contribution.

”

# Liste des figures

<b>Figure. 1</b>	Applications des nanotechnologies	4
<b>Figure. 2</b>	Mécanismes d'action des nanoparticules	7
<b>Figure. 3</b>	Méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques	8
<b>Figure. 4</b>	Réduction des ions métalliques	9
<b>Figure. 5</b>	<i>T.garganica</i>	10
<b>Figure. 6</b>	Distribution géographique de <i>Thapsia garganica</i>	12
<b>Figure. 7</b>	Structure des phénylpropanoïdes du genre <i>Thapsia</i>	14
<b>Figure. 8</b>	Structure squelettique des guaianolides	15
<b>Figure. 9</b>	Structure du lactone sesquiterpénique : <b>Thapsigargine</b>	15
<b>Figure. 10</b>	Localisation géographique des échantillons étudiés	19
<b>Figure. 11</b>	Réaction de réduction du réactif de Folin	21
<b>Figure. 12</b>	Réaction de réduction par chlorure d'aluminium	22
<b>Figure. 13</b>	Réaction chimique du test vanilline-HCL	23
<b>Figure. 14</b>	Réaction de réduction du radical DPPH	24
<b>Figure. 15</b>	Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de feuilles	31
<b>Figure. 16</b>	Suivi temporel de la synthèse à température ambiante	33
<b>Figure. 17</b>	Suivi temporel de la synthèse médiée par l'extrait de racine	34
<b>Figure. 18</b>	Suivi temporel de la synthèse médiée par l'extrait de de feuilles	34
<b>Figure. 19</b>	Spectre de synthèse avec modification du pH	35
<b>Figure. 20</b>	Variation chromatique de la solution de synthèse	37
<b>Figure. 21</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	56
<b>Figure. 22</b>	Courbe d'étalonnage de la Quercetine	57
<b>Figure. 23</b>	Courbe d'étalonnage de la Catechine	58
<b>Figure. 24</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	59

# Liste des tableaux

I	Structure de quelques classes de composés phenoliques	13
I	Contenu métabolique de <i>Thapsia garganica</i>	29
II	Valeur des IC50	31

# Table des matières

<b>Partie Bibliographique</b>		<b>1</b>
<b>Introduction Générale</b>		<b>1</b>
<b>I</b>	<b>Nanoparticules d'argent</b>	<b>3</b>
1	Historique . . . . .	3
2	Définition . . . . .	3
3	Propriétés physico-chimiques . . . . .	4
3.1	Physique . . . . .	4
3.2	Chimique . . . . .	5
4	Propriétés anti-bactériennes . . . . .	5
4.1	Mécanisme d'action . . . . .	6
5	Méthodes de synthèse . . . . .	6
5.1	Synthèse physique . . . . .	7
5.2	Synthèse chimique . . . . .	8
5.3	Synthèse Verte . . . . .	8
<b>II</b>	<b><i>Thapsia garganica</i></b>	<b>10</b>
6	Historique . . . . .	10
6.1	Description de l'espèce . . . . .	10
6.1.1	Caractéristiques anatomiques . . . . .	11
6.2	Taxonomie . . . . .	11
6.3	Ecologie et conditions de croissance . . . . .	11
6.4	Contenu métabolique . . . . .	12
6.4.1	Composants phénoliques . . . . .	12
6.4.2	Phénylpropanoïdes . . . . .	14
6.4.3	Sesquiterpènes lactone . . . . .	14
6.5	Importance médicinale . . . . .	15
6.5.1	Activité anti-bactérienne . . . . .	15
6.6	Activité antioxydante . . . . .	16
6.6.1	Activité antitoxique . . . . .	16
6.6.2	Activité anticancéreuse . . . . .	17
6.6.3	Activité antivirale . . . . .	17
<b>Partie Expérimentale</b>		<b>18</b>

<b>III Matériel et méthode</b>	<b>19</b>
1 Matériel biologique . . . . .	19
2 Matériel utilisé . . . . .	19
3 Extraction des composés phénoliques . . . . .	20
3.1 Mode opératoire . . . . .	20
4 Analyse phyto-chimique . . . . .	20
4.1 Phénols totaux . . . . .	20
4.1.1 Principe . . . . .	20
4.1.2 Mode opératoire . . . . .	21
4.2 Flavonoïdes . . . . .	22
4.2.1 Principe . . . . .	22
4.2.2 Mode opératoire . . . . .	22
4.3 Tanins condensés . . . . .	23
4.3.1 Principe . . . . .	23
4.3.2 Mode opératoire . . . . .	23
5 Tests d'activités . . . . .	24
5.1 Test de piégeage du radical DPPH . . . . .	24
5.1.1 Principe . . . . .	24
5.1.2 Mode opératoire . . . . .	24
6 Synthèse de nanoparticules d'argent . . . . .	25
6.1 Principe . . . . .	25
6.2 Mode opératoire . . . . .	26
6.3 Isolation des nanoparticules . . . . .	26
7 Activités anti-bactérienne . . . . .	27
7.1 Souches utilisées . . . . .	27
7.2 Test d'activité . . . . .	27
7.2.1 Revivification des souches bactériennes et standardisation des inocula bactériens . . . . .	27
7.2.2 Méthode de diffusion sur disque . . . . .	27
<b>IV Résultats et discussion</b>	<b>29</b>
1 Analyse phyto-chimique de la plante . . . . .	29
2 Activité anti-oxydante . . . . .	30
2.1 Activité scavenger DPPH . . . . .	30
3 Synthèse de nanoparticules d'argent . . . . .	32
3.1 Analyse des spectres de synthèse . . . . .	32
3.2 Isolation des nanoparticules . . . . .	37
4 Activité anti-bactérienne . . . . .	38
<b>Conclusion</b>	<b>41</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
	<b>43</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>43</b>

<b>I</b>	<b>Matériel utilisé</b>	<b>53</b>
1	Appareillage . . . . .	53
2	Produits chimiques . . . . .	53
3	Logiciels utilisés . . . . .	54
4	Préparation des réactifs . . . . .	54
4.1	Réactif de Folin . . . . .	54
4.2	Chlorure d'aluminium . . . . .	54
4.3	Vanilline . . . . .	54
4.4	DPPH . . . . .	54
4.5	Nitrates d'argent . . . . .	54
5	Composition des milieux de cultures . . . . .	55
5.1	Gélose Muller Hinton . . . . .	55
5.2	Bouillon nutritif . . . . .	55
<b>II</b>	<b>Courbes d'étalonnage</b>	<b>56</b>
1	Acide gallique : TPC . . . . .	56
2	Quercetine : Flavonoïdes . . . . .	57
3	Catechine : Tanins condensés . . . . .	58
4	Acide ascorbique : DPPH . . . . .	59

# **Partie Bibliographique**

# Introduction générale

L'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue une préoccupation mondiale pressante, représentant une menace substantielle pour la santé humaine, les thérapeutiques et la sécurité publique. La résistance antibactérienne, favorisée par l'utilisation excessive et abusive des antibiotiques, a rendu les approches thérapeutiques conventionnelles inefficaces, ce qui rend nécessaire l'adoption de stratégies novatrices pour faire face à ce problème majeur. Comme le développement de nouveaux antibiotiques est en retard sur le rythme auquel les bactéries développent une résistance, l'exploration de méthodes alternatives pour combattre les infections bactériennes a pris une importance capitale (*Hwang and Gums, 2016*).

À cet égard, les nanotechnologies sont apparues comme une voie prometteuse pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens. Les nanoparticules, en particulier les nanoparticules métalliques, ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leurs propriétés physicochimiques uniques qui offrent des avantages distincts dans les applications de lutte contre les bactéries. L'interaction entre les nanoparticules métalliques et les cellules bactériennes a démontré une activité antibactérienne accrue par le biais de divers mécanismes, tels que la perturbation des membranes cellulaires, la génération d'espèces réactives de l'oxygène et l'interférence avec les processus cellulaires. Ce potentiel suggère un changement de paradigme dans les stratégies antimicrobiennes, des produits pharmaceutiques conventionnels aux interventions basées sur les nanotechnologies (*Seil and Webster, 2012*).

Cependant, la synthèse de nanoparticules métalliques ayant des propriétés antibactériennes pose un certain nombre de difficultés. Les méthodes de synthèse traditionnelles, qui font souvent appel à des produits chimiques agressifs et à des processus à forte consommation d'énergie, posent des problèmes de viabilité environnementale et de biocompatibilité. L'utilisation de produits chimiques toxiques pendant la synthèse des nanoparticules peut entraîner une contamination de l'environnement et des effets néfastes sur la santé humaine. Il existe donc une demande croissante pour le développement d'approches de synthèse alternatives et respectueuses de l'environnement qui atténuent ces inconvénients tout en maintenant l'efficacité des nanoparticules.

Les méthodes de synthèse utilisant les principes de la chimie verte sont considérées comme une alternative durable pour la production de nanoparticules métalliques. Les méthodes de synthèse vertes visent à réduire l'impact sur l'environnement en utilisant des agents réducteurs et

stabilisateurs biocompatibles dérivés de sources naturelles. Ces méthodes offrent de nombreux avantages, tels que des conditions de réaction plus bénignes, des rendements plus élevés et une meilleure biocompatibilité des nanoparticules obtenues (*Singh et al., 2020*).

L'objet de la présente étude consiste à évaluer, pour la première fois, le potentiel antibactérien des extraits de la plante autochtone *Thapsia garganica* ainsi que des nanoparticules d'argent synthétisées par une méthode respectueuse de l'environnement, exploitant les extraits de cette plante en tant qu'agent réducteur. Dans une première phase, une analyse phytochimique sera entreprise pour déterminer la composition en métabolites secondaires susceptibles de jouer un rôle dans la réduction des nitrates d'argent en nanoparticules d'argent. Par la suite, une étude des paramètres de synthèse, notamment la température et le pH, sera entreprise afin de définir les conditions optimales de synthèse. Enfin, une évaluation de leur activité antibactérienne sera menée.

# I | Nanoparticules d'argent

## 1 Historique

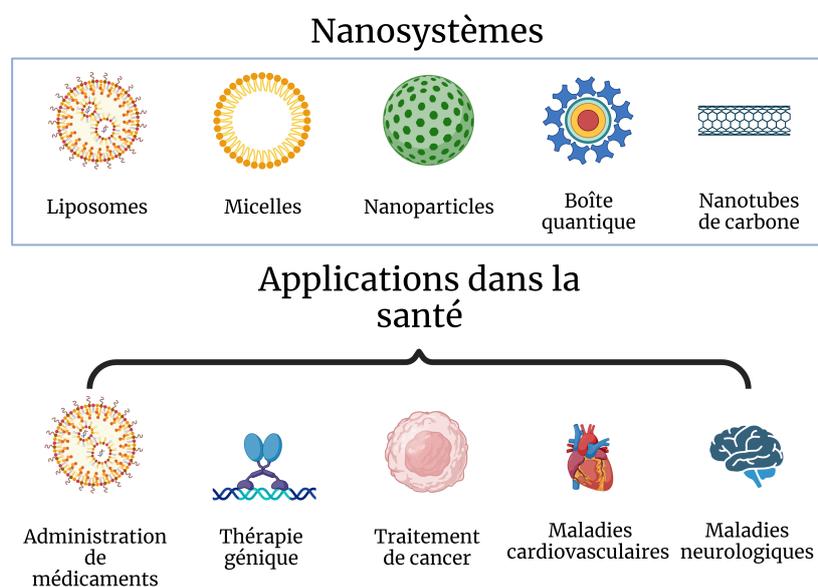
L'idée des nanotechnologies a été évoquée pour la première fois par le professeur Richard Feynman dans une conférence de 1959 intitulée **Plenty of Room at the Bottom**, dans laquelle Feynman envisageait la possibilité de manipuler la matière à l'échelle atomique ainsi que ses éventuelles applications. C'est en 1974 que le professeur Norio Taniguchi a introduit le terme "nanotechnologies" lors de la conférence internationale sur la production industrielle qui s'est tenue à Tokyo (*Tolochko, 2009*). La biotechnologie se définit par l'utilisation de processus, d'organismes ou de systèmes biologiques afin de développer des produits susceptibles d'améliorer la vie de l'homme. Malgré que l'exploitation des systèmes naturels, par des méthodes artisanales pour le but d'améliorer le mode de vie humain en utilisant des techniques telles que la fermentation, la reproduction sélective et la pollinisation croisée soient des pratiques anciennes, ce n'est qu'avec la découverte de micro-organismes et leur utilisation subséquente dans divers domaines ; la production de pénicilline à partir d'un champignon en est un exemple frappant que la biotechnologie se cristallise en un concept scientifique. Toutefois, le plus grand progrès des biotechnologies reste la découverte de l'ADN dans les années 1950 et, plus tard, le clonage de ce dernier. Aujourd'hui, la biotechnologie occupe une place prépondérante et l'un de ses champs de recherche dérivés, la nanotechnologie, a connu une évolution rapide permettant de surmonter les limites des approches biotechnologiques traditionnelles et d'en améliorer l'efficacité. Ces méthodes sont utilisées dans divers domaines, notamment la médecine, l'environnement, l'agriculture et l'industrie *fig. 1*.

## 2 Définition

Les nanoparticules sont définies comme de petites particules d'une taille comprise entre 1 et 100 nm (*Shahcheraghi et al., 2022*). Elles peuvent être synthétisées à partir de divers matériaux tels que les métaux, les céramiques, les polymères et d'autres composants. Elles peuvent avoir des propriétés physiques et chimiques qui diffèrent de celles de leurs homologues de plus grande taille (*Vert et al., 2012*). Les nanoparticules en général et plus particulièrement les nanoparticules

métalliques présentent un intérêt notable dans les domaines de la biologie et de la santé, avec des applications allant de l'imagerie à la détection des maladies, en passant par la thérapeutique en tant que vecteurs d'administration de médicaments et de particules thérapeutiques.

Les nanoparticules métalliques sont des artefacts à l'échelle submicronique constitués de métaux purs tels que l'or, le titane, le zinc, le platine, le cérium, le fer, le thallium, ou de leurs composés tels que les oxydes, les hydroxydes, les sulfures, les phosphates, les fluorures, les chlorures et l'argent. Elles ont depuis longtemps suscité l'intérêt des scientifiques du fait de leur grande polyvalence et de la multiplicité de leurs applications.



**Figure 1** – Applications des nanotechnologies

### 3 Propriétés physico-chimiques

Bien que les nanoparticules d'argent soient chimiquement identiques à l'argent en vrac, elles présentent des propriétés physico-chimiques différentes en raison de leurs dimensions réduites et de leur surface de contact plus importante.

#### 3.1 Physique

Elles peuvent adopter différentes formes géométriques telles que sphériques, cylindriques ou irrégulières. En fonction de leur taille et de leur forme, elles présentent des propriétés optiques

différentes qui sont observables à l'œil nu sous la forme de changements de couleur en suspension. Les différences de forme et de taille influencent également leur conductivité électrique, qui les rend conducteurs ou semi-conducteurs (*Dobson et al., 2019*).

### 3.2 Chimique

La surface de contact accrue des particules stimule leur réactivité chimique, qui est intimement liée à leur composition élémentaire, leur agencement atomique, leur forme et leur taille.

## 4 Propriétés anti-bactériennes

L'utilisation d'antibiotiques conventionnels pose le problème du développement de multi-résistances aux médicaments par les souches cibles, c'est pourquoi leur utilisation extensive en tant qu'inhibiteurs de croissance microbienne sur les surfaces a été limitée afin d'empêcher le développement de telles résistances.

D'autres méthodes d'inhibition de la croissance comprennent l'utilisation d'ions d'argent pour stériliser les équipements, en particulier dans le domaine médical (*Politano et al., 2013*). Bien que les ions Ag<sup>+</sup> soient des agents stérilisants très puissants, leur utilité est limitée en raison de la difficulté de garantir une libération continue des ions d'argent sous leur forme métallique, cette limitation peut être résolue par l'utilisation de nanoparticules d'argent AgNPs (*Kim et al., 2007*).

Une étude de *Kim et al. (2007)* a démontré l'efficacité des AgNPs contre les bactéries gram-positives, gram-négatives et les champignons représentés respectivement par *S.aureus*, *E.coli* et un isolat de levure provenant d'une mammité bovine.

- Contre les levures, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée entre 6,6 nM et 13,2 nM, avec un effet inhibiteur similaire à celui de l'itraconazole (un antifongique conventionnel) à 33 nM.
- Les résultats contre *E.coli* ont été les plus prometteurs, avec une CMI comprise entre 3,3 nM et 6,6 nM, et l'inhibition de la croissance dépendait de la concentration.
- Les AgNP sont légèrement efficaces contre *S.aureus* avec une CMI estimée à plus de 33 nM.

La différence d'efficacité contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif peut s'expliquer du fait que les bactéries à Gram négatif sont constituées d'une fine couche de peptidogly-

cane de 2-3 nm, et d'une couche externe supplémentaire contenant des lipopolysaccharides et des phospholipides, avec des pores mesurant près de 10 nm qui permettent la sécrétion de protéines et des porines fixes permettant la diffusion de petites molécules de 1 à 2 nm dans les deux sens. En dépit de la petite taille de ces pores, des nanoparticules mesurant jusqu'à 80 nm peuvent traverser ces deux couches. Les AgNPs sont capables d'ancrer et de pénétrer les parois cellulaires, et leur mécanisme antibactérien serait la formation de radicaux libres qui endommagent la membrane (*Li et al., 2018*).

#### 4.1 Mécanisme d'action

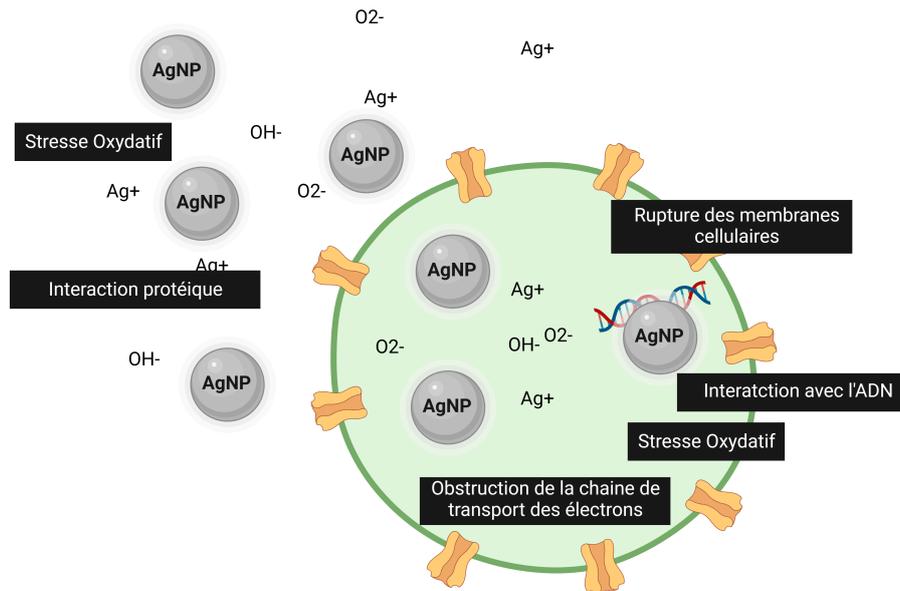
Les mécanismes d'action des nanoparticules d'argent ont été proposés **fig. 2**, même si leur activité antibactérienne n'est pas entièrement comprise. La libération continue d'ions d'argent par les AgNP est considérée comme le principal mécanisme :

Les ions d'argent peuvent adhérer aux protéines riches en soufre présentes sur la membrane cytoplasmique, la rendant perméable, ce qui entraîne la rupture de la membrane cellulaire (*Bapat et al., 2018*), la pénétration des ions d'argent dans les cellules peut inhiber ou désactiver les enzymes respiratoires, ce qui entraîne la formation d'espèces réactives de l'oxygène, interrompant ainsi la production d'ATP (*Ramkumar et al., 2017*) les ions d'argent interagissent également avec le soufre et le phosphore présents dans les molécules d'ADN, entraînant des perturbations dans la réplication de l'ADN (*Durán et al., 2016*).

Un autre mode d'action antibactérien est l'adhésion des nanoparticules à la surface des cellules, leur accumulation et leur pénétration ultérieure dans les parois cellulaires grâce à leur taille nanométrique, ce qui entraîne une dénaturation des membranes (*Liao et al., 2019*). Cela peut conduire à la rupture d'organites et à la lyse cellulaire. Les AgNPs peuvent également interférer avec la transduction du signal bactérien, entraînant la mort cellulaire (*Li et al., 2019*).

## 5 Méthodes de synthèse

Les méthodes de synthèse des nanoparticules sont réparties en deux catégories : des méthodes dites **méthodes conventionnelles** et **deméthodes nouvelles**. Les procédés conventionnels reposent sur l'utilisation de réactifs chimique potentiellement toxiques et dangereux pour la santé des opérateurs et pour l'environnement (*Anwar, 2018*). En plus d'être onéreux, les méthodes conventionnelles qui ne nécessitent pas de réactifs dangereux présentent l'inconvénient



**Figure 2** – Mécanismes d’action des nanoparticules

d’une forte consommation d’énergie

Les nouvelles méthodes dites ”vertes” et qualifiées d’écologiques, sont sans risque pour les manipulateurs, utilisent des substrats naturels tels que des extraits de plantes et consomment peu d’énergie. D’autres méthodes comprennent également la synthèse à médiation bactérienne et végétale, où les nanoparticules sont synthétisées à l’intérieur de l’organisme vivant au lieu d’utiliser ses extraits (*Anwar, 2018*).

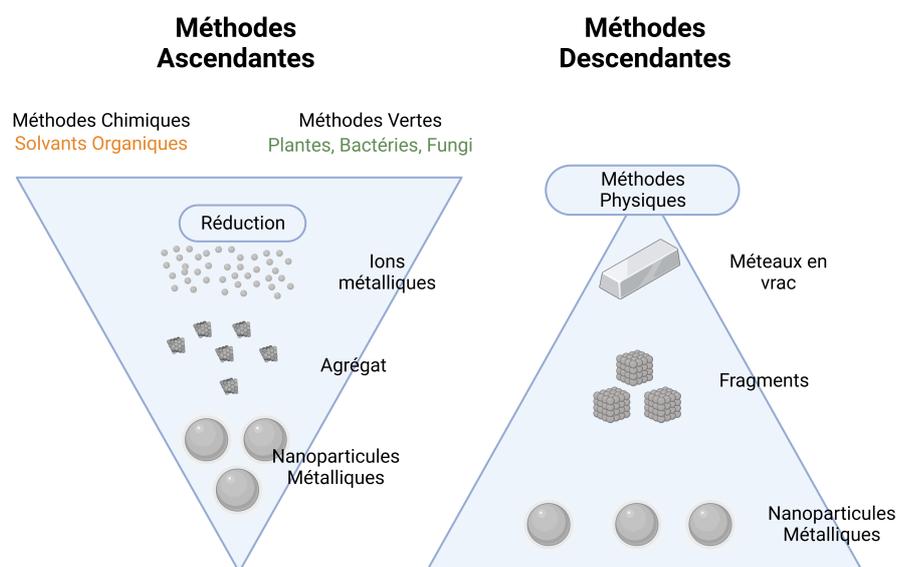
Les méthodes de synthèse sont également divisées en deux catégories : **descendante** et **ascendante** **fig. 3**. L’approche descendante consiste à désagréger des matériaux jusqu’à l’obtention d’une structure à l’échelle nanométrique. L’approche ascendante implique l’assemblage d’atomes par le biais d’interactions covalentes ou supramoléculaires (*Majumder et al., 2007*).

## 5.1 Synthèse physique

Une méthode descendante qui consiste à réduire un matériel source de grande taille en nanoparticules à l’aide de différentes approches telles que l’ablation par laser et la photolithographie. Les principaux inconvénients de cette méthode sont la nécessité d’un équipement très spécialisé à coût élevé et une consommation massive d’énergie (*Thakkar et al., 2010*).

## 5.2 Synthèse chimique

La synthèse chimique consiste à réduire  $Ag^+$  à l'aide de différents réactifs **fig. 4** tels que  $NaBH_4$ , l'hydrogène élémentaire et le procédé de polyol qui assure le meilleur contrôle des caractéristiques des nanoparticules. Les principaux inconvénients de cette méthode résident dans la toxicité des réactifs utilisés et le manque de biocompatibilité des nanoparticules obtenues (*Goia and Matijević, 1998*).



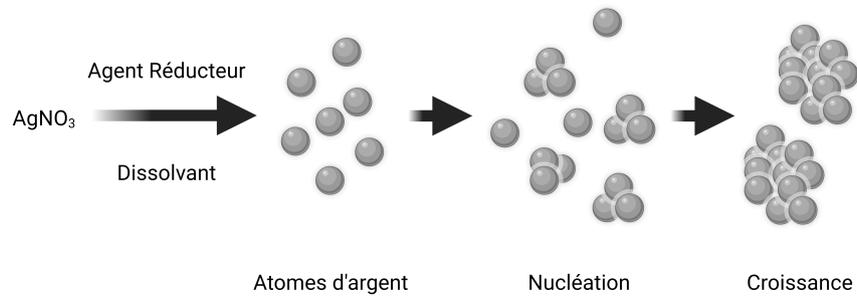
**Figure 3** – Méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques

## 5.3 Synthèse Verte

Les méthodes de synthèse vertes offrent une alternative aux principaux inconvénients des méthodes traditionnelles, en étant biocompatibles et respectueuses de l'environnement (*Ying et al., 2022*). Les synthèses à médiation végétale et microbienne reposent toutes deux sur la capacité de l'organisme utilisé, que ce soit une souche/espèce naturelle ou un organisme génétiquement modifié, à réduire les nitrates d'argent en nanoparticules d'argent ; malgré le potentiel de cette approche, elle n'en est encore qu'à ses débuts et se heurte à des difficultés techniques (*Grasso et al., 2019*).

L'utilisation d'extraits de plantes comme agent réducteur est l'approche la plus courante. Les métabolites naturels tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins agissent comme

agents réducteurs et régulateurs de pH (*Iravani et al., 2017*).



**Figure 4** – Réduction des ions métalliques

## II | *Thapsia garganica*

### 6 Historique

*Thapsia garganica*, également connue sous le nom de carotte mortelle, est une plante indigène aux régions méditerranéennes, utilisée dans la médecine traditionnelle depuis des milliers d'années. En Kabylie, elle est nommée **Aderyis** et figure depuis longtemps dans la tradition amazighe pour ses propriétés médicinales et son utilisation dans la préparation traditionnelle du couscous lors de la célébration du printemps amazigh.

La résine des racines et des tiges de *T.garganica* a été utilisée comme remède pour un certain nombre de maladies : stérilité féminine, maladies pulmonaires, catarrhe, fièvre, pneumonie et comme contre-irritant pour soulager les douleurs rhumatismales. En 1857, son utilisation a été recommandée en Europe pour le traitement des maladies pulmonaires, du catarrhe et des douleurs rhumatismales, par l'application d'un emplâtre médicamenteux contenant la résine de la racine.

#### 6.1 Description de l'espèce

*Thapsia garganica* L. (Apiaceae) **fig. 5** est une ombellifère originaire de la Méditerranée, que l'on trouve généralement dans les régions s'étendant des côtes atlantiques du Portugal, de l'Espagne, du Maroc et de l'Algérie à la Crète et à d'autres îles grecques.

C'est une plante vivace d'une hauteur pouvant aller de 0.5 mètres à 1.4 m. Elle possède une tige ainsi que des feuilles férulacées ; des fleurs disposées en ombelles ou en parasols, de couleur jaune ; chacune de ces fleurs est ordinairement à cinq pétales disposés en rosace vers l'extrémité du calice : Lorsque cette fleur est passée, ce calice devient un fruit composé de deux graines longues, grises, cannelées sur le dos, entourées d'une large bordure aplatie en feuille ; La racine est moyennement grande, longue, velue dans sa partie supérieure, d'une couleur gris-blanc, imbuée d'un suc laiteux très âcre, corrosif et amer.



**Figure 5** – *T.garganica*

### 6.1.1 Caractéristiques anatomiques

**Fruits :** 19-25 x 13-15 mm, elliptiques.

**Graines :** 13-18 x 2,2-3,5 mm, fusiformes, brunes.

**Ailes :** 4-6 mm de large, couleur paille ou argentée, apex aigu et falcate parfois triangulaire obtus, se chevauchant, de forme très variable même dans la même ombelle.

**Feuilles basales :** 20-35 cm Gaine large 25 mm Petiole glabre, contour obovale, pennatisèque a lobes ultime et marges révoltées.

**Face supérieure :** verte, glabre.

**Face inférieure :** rachis glabres, poils rigides sur la nervure médiane.

**Racine :** pivotante, épaisse à souche fibreuse.

## 6.2 Taxonomie

*Thapsia garganica* a été décrite pour la première fois par le botaniste suédois Carl Linné, père de la taxonomie moderne, en 1753 dans son ouvrage *Species Plantarum* (Von, 1753).

- (a) **Règne :** *Plantae*
- (b) **Classe :** *Equisetopsida*
- (c) **Sous Classe :** *Magnoliidae*
- (d) **Super ordre :** *Asteranae*
- (e) **Ordre :** *Apiales*
- (f) **Famille :** *Apiaceae*
- (g) **Sous famille :** *Apioideae*
- (h) **Genre :** *Thapsia*
- (i) **Espèce :** *Thapsia garganica*

## 6.3 Ecologie et conditions de croissance

*Thapsia garganica* est une plante pérenne adaptée au climat méditerranéen **fig. 6**. Elle prospère dans les régions où les hivers sont doux et les étés chauds et secs. On la retrouve dans les clairières des forêts, pâturages sablonneux et rocaillieux, steppes, dans la plaine et les basses montagnes. La plante démontre une tolérance à un large éventail de types de sols, y compris les sols sablonneux, limoneux et rocheux, à l'exception des sols gorgés d'eau, car la teneur élevée en eau peut entraîner le pourrissement des racines. Elle a notamment besoin du soleil pour

croître et prospérer (*Bammi and Douira, 2004*).



**Figure 6** – Distribution géographique de *Thapsia garganica*

## 6.4 Contenu métabolique

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe large et varié de composés organiques synthétisés en petites quantités (*Pagare et al., 2015*).

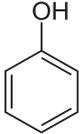
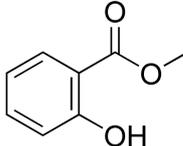
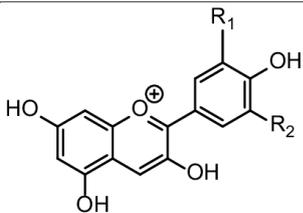
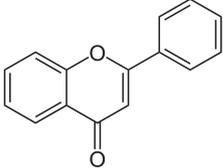
Ils ne jouent pas un rôle important dans les processus essentiels de l'organisme tels que la synthèse des protéines, la photosynthèse ou encore la reproduction mais des études ont montré leur importance dans la défense de la plante contre les prédateurs et les pathogènes. Ils sont également synthétisés en réponse à des stress biotiques ou abiotiques, aidant la plante à s'adapter à des changements soudains de température, d'humidité, d'intensité lumineuse et de sécheresse (*Akula and Ravishankar, 2011*).

### 6.4.1 Composants phénoliques

Les phénols sont une grande variété de produits secondaires qui contiennent un groupe hydroxyle directement attaché à un groupe hydrocarboné aromatique appelé phénol. Ils sont chimiquement diversifiés et sont généralement classés en fonction du nombre de carbones présents dans la molécule. Ils peuvent être divisés en phénols simples (C6), tels que les dérivés de l'acide hydrobenzoïque et les catéchols, ainsi qu'en polymères à longue chaîne et à poids moléculaire élevé, tels que les mélanines catécholiques (C6)<sub>6</sub>, les lignines (C6-C3)<sub>n</sub> et les tanins condensés (C6-C3-C6)<sub>n</sub> (*Agostini-Costa et al., 2012*). Les composés phénoliques sont synthétisés dans les cellules végétales par la voie de l'acide shikimique ou la voie du malonate/acétate. Par exemple,

la voie de l'acide shikimique permet la synthèse de la phénylalanine et des acides cinnamiques et de leurs dérivés (phénols simples, acides phénoliques, coumarines, lignanes et dérivés du phénylpropane). La voie des polyacétates fournit des quinones et des xanthones. Les voies mixtes combinent les précurseurs de la voie de l'acide shikimique et de la voie des polyacétates et produisent des flavonoïdes (*Pagare et al., 2015*).

**Table I** – Structure de quelques classes de composés phénoliques

Squel- lette	Classe	Caractéristique	Structure
C6	Phénol simple	Groupement phénol	
C6- C1	Acide phénolique	Groupement carboxyl attaché au phénol	
/	Antho- cyanine	L'hétérocycle est un ka- tion pyrilium	
/	Flavone	Groupement cétone et liaison C-C insaturée	

*Djeridane et al. (2006)*, dans leur étude visant à étudier l'activité antioxydante de certains extraits de plantes médicinales algériennes contenant des composés phénoliques, ont constaté que l'espèce *Thapsia garganica* contenait une moyenne de  $7,63 \pm 0,61$  ( $mgGAE/gdw$ ) et  $4,04 \pm 0,42$  ( $mgQE/gdw$ ) de contenu phénolique et de flavonoïdes respectivement .

Dans une étude ultérieure réalisée par le même groupe, une analyse HPLC des polyphénols a été effectuée et a déterminé que les flavonoïdes constituaient le principal sous-groupe phénolique avec environ 98%, la quercétine étant le principal composé phénolique trouvé. Les 2% restants étaient représentés par des dérivés hydroxy-cinamiques (*Djeridane et al., 2007*).

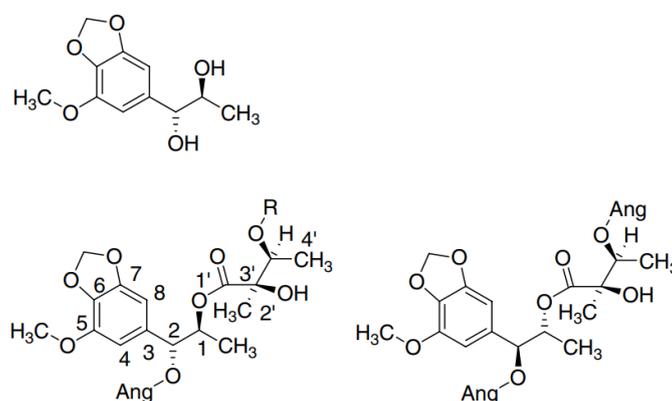
Il est à noter que dans une autre étude de *Nebeg et al. (2019)*, soulignant le rôle que *T. garganica* peut jouer en tant que source de nouveaux inhibiteurs puissants de lipases, des valeurs différentes ont été obtenues,  $2,90 \pm 0,02 mgGAE/gdw$  et  $1,53 \pm 0,05 mg QE/gdw$  pour les poly-

phénols et les flavonoïdes respectivement.

De telles variations peuvent être observées dans d'autres articles et peuvent être dues à différents facteurs : âge de la plante, conditions de croissance, méthode d'extraction.

#### 6.4.2 Phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont une classe de composés organiques biosynthétisés à partir de l'acide aminé phénylalanine textitfig. 7. Ils ont une grande variété de fonctions, notamment la défense contre les herbivores et les attaques microbiennes. Ils servent de composants structurels des parois cellulaires, assurent une protection contre les rayons ultraviolets et jouent le rôle de molécules de signalisation (*Agar and Cankaya, 2020*).

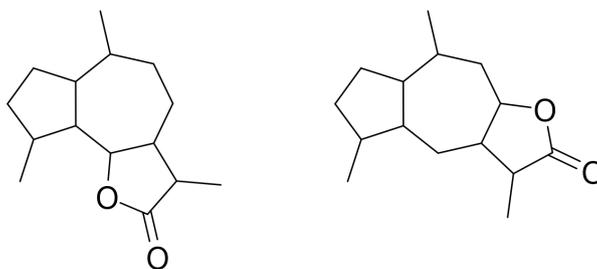


**Figure 7** – Structure des phénylpropanoïdes du genre *Thapsia*

Des esters de phénylpropanoïdes 1,2-dihydroxylés ont été trouvés dans des plantes appartenant aux Apiacées. En 2006, les configurations absolues de quatre phénylpropanoïdes isolés des fruits de *T.garganica* ont été déterminées par spectroscopie RMN (*Liu et al., 2006*).

#### 6.4.3 Sesquiterpènes lactone

Les sesquiterpènes forment une classe de molécules de la famille des terpènes, de formule moléculaire brute  $C_{15}H_{24}$ . Ils sont largement répandus dans le règne végétal et sont reconnus pour leurs propriétés pharmacologiques et leur valeur commerciale. Le genre *Thapsia* est connu pour contenir des lactones sesquiterpéniques qui appartiennent au sous-groupe des guaianolides ; ce groupe est caractérisé par un squelette guaine et un anneau lactone **fig. 8** (*Andersen et al., 1997*).

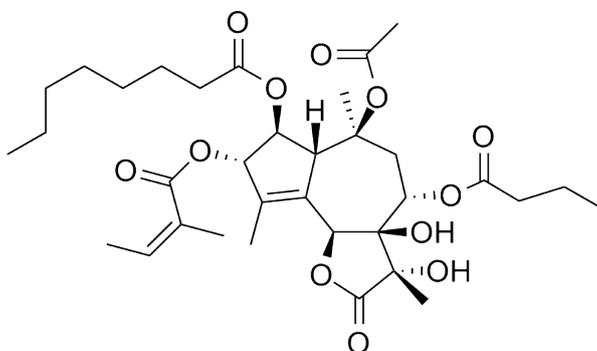


**Figure 8** – Structure squelettique des guaianolides

Le sesquiterpène le plus étudié du genre est le lactone sesquiterpénique thapsigargine **fig. 9**, qui est le lactone sesquiterpénique le plus prédominant dans *Thapsia garganica* L.

L'effet pharmacologique de la thapsigargine a été étudié de manière approfondie et il a été établi que la thapsigargin est un inhibiteur de la  $Ca_2^+$ -ATPase du réticulum sarco-endoplasmique (SERCA) qui conduit à l'apoptose des cellules (*Doan et al., 2015*).

La thapsigarginine est présente dans la plupart des parties de la plante *T.garganica*. La thapsigarginine représente 0,2%-1,2% du poids sec des racines et 0,7%-1,5% du poids sec des fruits mûrs, tandis que les tiges et les feuilles séchées contiennent une concentration totale de 0,1 % à 0,5 % et de 0,1 % respectivement (*Smitt et al., 1995*).



**Figure 9** – Structure du lactone sesquiterpénique : **Thapsigargin**

## 6.5 Importance médicinale

### 6.5.1 Activité anti-bactérienne

Les plantes occupent depuis longtemps une place centrale en médecine et dans le développement de médicaments, étant particulièrement riches en métabolites secondaires aux propriétés intrigantes en tant que biocides. Les métabolites secondaires impliquent généralement de nombreux sites d'action au niveau cellulaire. Le mécanisme exact par lequel ils induisent leur effet

bactéricide reste incertain, mais diverses études suggèrent qu'ils exercent leur activité par la modification de la perméabilité des membranes cellulaires, les changements de diverses fonctions intracellulaires induits par la liaison hydrogène des composés phénoliques aux enzymes ou par la modification de la rigidité de la paroi cellulaire avec des pertes d'intégrité dues à différentes interactions avec la membrane cellulaire (*Sikkema et al., 1995; Cushnie and Lamb, 2011*).

*T. garganica* a fait l'objet de diverses études explorant son potentiel en tant qu'agent antimicrobien (*Alghazeer et al., 2012; Casiglia et al., 2016; Djahida and Houcine, 2021*). L'étude de *Sidhoum Djaffer et al. (2012)* a testé l'activité antibactérienne des extraits acétoniques des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* et ont trouvé que l'extrait de feuilles présentait la meilleure activité antibactérienne avec des zones d'inhibition variant de 6 à 32 mm.

## 6.6 Activité antioxydante

La capacité d'un composé à agir en tant qu'antioxydant réside dans sa propension à chélater les ions et à piéger les radicaux libres, en particulier le superoxyde ( $O^{-2}$ ), le peroxyde et le radical hydroxyle (OH).

En raison de la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols et les sesquiterpénoïdes, qui ont depuis longtemps été reconnus comme antioxydants, diverses études sur le potentiel des extraits de *T. garganica* en tant qu'antioxydants ont été intensivement menées (*Djeridane et al., 2006, 2007*).

### 6.6.1 Activité antitoxique

Une étude menée pour évaluer l'activité antivenimeuse de *T. garganica* in vivo par le biais d'analyses histologiques et biochimiques a révélé que l'extrait méthanolique de feuilles de *T. garganica* (2 g/kg) prolongeait la durée de vie (> 18 h) chez des souris auxquelles il avait été injecté des doses létales de venin de *B. occitanus*, ainsi qu'un rétablissement notable des lésions histologiques. Les auteurs estiment que la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes et terpénoïdes pourrait expliquer cette activité. Toutefois, des études plus poussées sont requises afin d'identifier spécifiquement les composés responsables de cette bioactivité (*Bouimeja et al., 2018*).

### 6.6.2 Activité anticancereuse

La thapsigargine a démontré la capacité d'induire l'apoptose dans les phases prolifératives et quiescentes du cycle cellulaire (*Doan et al., 2015*) par l'inhibition de la pompe  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase du sarco/réticulum endoplasmique (SERCA), qui joue un rôle crucial dans la régulation de l'homéostasie calcique, laquelle est à son tour essentielle pour la régulation de diverses fonctions cellulaires telles que la prolifération, la contractilité, le repliement des protéines, la transcription et l'apoptose (*Denmeade and Isaacs, 2005*).

Cependant, la présence de la pompe SERCA dans presque tous les types de cellules et son rôle essentiel dans la survie cellulaire font de la Tg une toxine cellulaire non spécifique. Pour surmonter cette limitation et diriger la cytotoxicité de la Tg vers les cellules cancéreuses, tout en épargnant les tissus normaux, plusieurs stratégies ont été développées ; Des chercheurs ont développé une prodrogue, G202, comprenant un peptide qui cible la carboxypeptidase de l'antigène membranaire spécifique de la prostate (PSMA), couplé à un analogue de la thapsigargin. Le G202 a produit une régression tumorale substantielle contre un panel de xénogreffes cancéreuses humaines in vivo à des doses faiblement toxiques pour l'hôte (*Denmeade et al., 2012*).

### 6.6.3 Activité antivirale

Dans une étude visant à identifier les points communs et les différences entre les mécanismes impliqués dans le stress ER canonique et la réponse au stress ER médiée par le CoV, les chercheurs ont révélé que la thapsigargin inhibe fortement la réplication du CoV 229E humain (HCoV-229E), du MERS-CoV, du SARS-CoV-2 et du virus de la grippe A (IAV, souche KAN-1) en culture cellulaire (*Shaban et al., 2021*). En outre, dans une autre étude, il a été rapporté que la thapsigargin a des effets inhibiteurs similaires sur le HCoV-OC43, le virus respiratoire syncytial (RSV), le SARS-CoV-2 et diverses souches de l'IAV H1N1 (*Al-Beltagi et al., 2021*).

# **Partie Expérimentale**

# III | Matériel et méthode

## 1 Matériel biologique

Les racines et les feuilles de *Thapsia garganica* ont été récoltées au niveau la wilaya de Béjaïa et Sétif en mois de Mars 2023 avec les coordonnées suivantes :  $36^{\circ}32'N$   $5^{\circ}03'E$  &  $36.6933^{\circ}N$   $4.6709^{\circ}E$  **fig. 10**. Les échantillons ont été lavés à l'eau distillée, coupés en lamelles de 1mm et ont été mis à sécher dans une étuve ventilée et réglée à une température de  $40^{\circ}C$  jusqu'à poids constant. Après séchage, les feuilles et racines ont été broyées avec un broyeur mécanique en poudre très fine et passée dans un tamis de  $125\ \mu m$ .



**Figure 10** – Localisation géographique des échantillons étudiés

## 2 Matériel utilisé

Les matériaux, produits chimiques et logiciels employés lors de ce travail figurent dans l'**annexe I**

### 3 Extraction des composés phénoliques

Deux procédés d'extraction ont été suivis pour les feuilles et racines respectivement.

#### 3.1 Mode opératoire

La poudre de feuilles a été mise dans un solvant organique protique et polaire, qui est l'éthanol à 70% dans les proportions 10:100 (w/v), sous agitation, à température ambiante pendant 24 heures. Le choix du solvant a été effectué en se référant aux résultats de *ATHMOUNI et al. (2015)* qui ont évalué l'efficacité de différents solvants dans l'extraction à partir de *Thapsia garganica*. Après extraction, la solution a été centrifugée à 6000 rpm pendant 15 min puis filtrée. Enfin, le surnageant a été séché dans une étuve ventilée à 40°C pendant jusqu'à évaporation de l'éthanol. L'extrait est ensuite resuspendu dans de l'eau distillée.

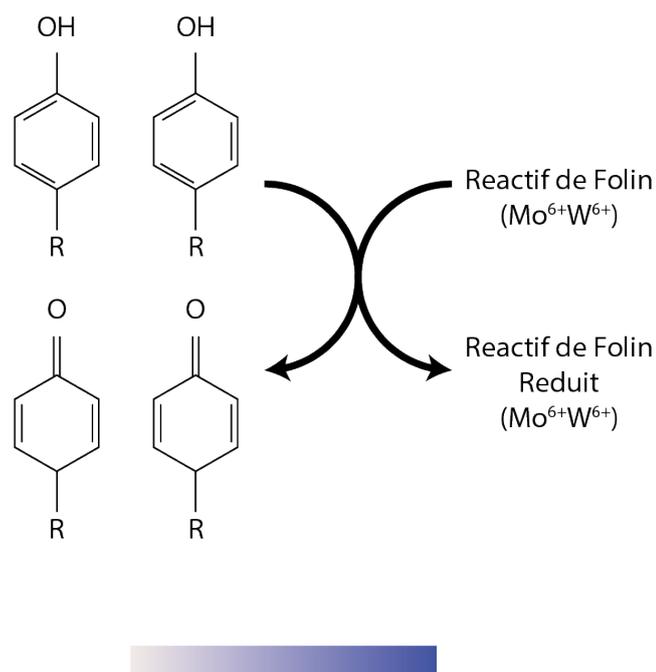
La poudre de racines a été bouillie dans de l'eau distillée dans les proportions 1:20 (w/v) pendant 5 min, puis a été laissée sous agitation pendant 10 min. La solution d'extraction a été centrifugée à 6000 rpm pendant 30 min puis filtrée. Dans plusieurs études d'optimisation de synthèse sur les racines de plantes comme celle de *Khanal et al. (2022)*, une décoction est couramment utilisée.

### 4 Analyse phyto-chimique

#### 4.1 Phénols totaux

##### 4.1.1 Principe

Le procédé, tel que décrit par *Singleton and Rossi (1965)*, est basé sur la réduction en milieu alcalin du réactif de Folin-Ciocalteu, complexe d'acide phosphomolybdique et phosphotungstique, en présence de substances phénoliques. La réaction des deux entraîne la formation de bleu de molybdène-tungstène qui est mesuré par spectrophotométrie à 760 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de substances phénoliques dans le milieu réactionnel (**fig. 11**).



**Figure 11** – Réaction de réduction du réactif de Folin

#### 4.1.2 Mode opératoire

Les concentrations des composés phénoliques totaux des extraits de racine et feuilles de *Thapsia garganica* ont été déterminées avec le réactif de folin-ciocalteu. Brièvement, 0.3 mL de chaque extrait dilué à une concentration de 1mg/mL est mélangé avec 1.5 mL de folin à 10% puis après 2 min, 0.2 mL de carbonate de sodium de 1% ont été ajoutées. L'absorbance a été mesurée à 760 nm au spectrophotomètre après 30 minutes d'incubation.

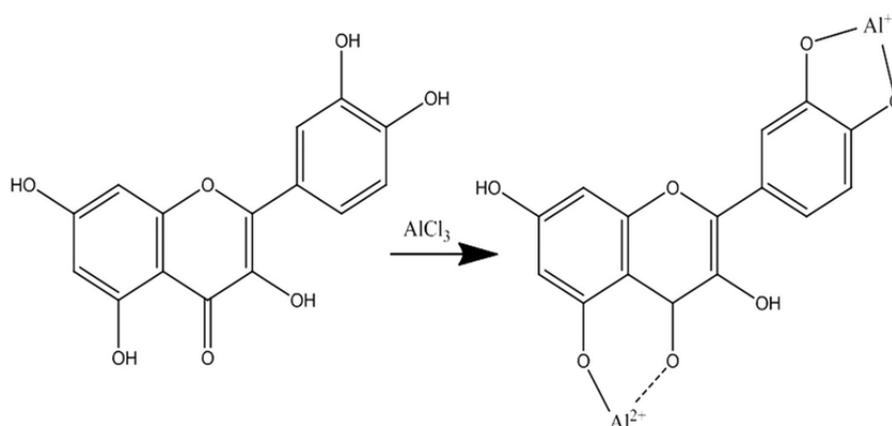
La courbe d'étalonnage a été établie avec comme standard l'acide gallique à différentes concentrations et dans les mêmes conditions.

Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique (mg Acide gallique/g poids sec).

## 4.2 Flavonoïdes

### 4.2.1 Principe

Le principe de la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) réside dans sa capacité à former des complexes acides stables avec les groupes céto en C-4 et les groupes hydroxyle en C-3 ou en C-5 des flavones et des flavonols **fig. 12**. En outre, il forme également des complexes labiles avec les groupes ortho-dihydroxyle dans l'anneau A ou B des flavonoïdes (*Mabry et al., 2012*).



**Figure 12** – Réaction de réduction par chlorure d'aluminium

### 4.2.2 Mode opératoire

La méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium décrite par *Zhishen et al. (1999)* a été utilisée pour estimer la teneur en flavonoïdes totaux des extraits de racine et de feuilles. 1.5 mL d'extraits de feuilles et racines dilués à des concentrations de 0.5 mg/mL et 10 mg/mL respectivement ont été mélangés avec 0.5 mL de chlorure d'aluminium à 2%. Les solutions ont ensuite été incubées pendant 15 min à l'abri de la lumière et l'absorbance a été mesurée à 410 nm avec un spectrophotomètre.

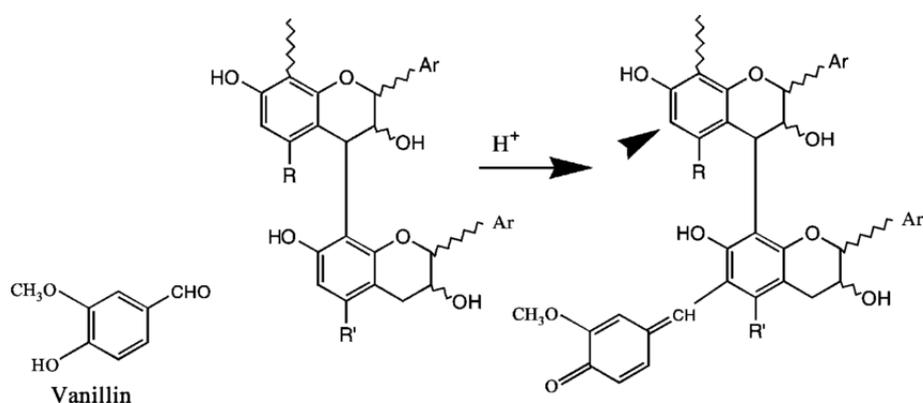
La courbe d'étalonnage a été établie avec comme standard la Quercétine à différentes concentrations et dans les mêmes conditions.

Les résultats sont exprimés en équivalent Quercétine (mg Quercétine/g poids sec).

## 4.3 Tanins condensés

### 4.3.1 Principe

Le principe repose sur la réaction entre la vanilline (4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde) et les groupes hydroxyles présents dans la structure monomérique flavan-3-ol des tanins condensés **fig. 13**. Lorsqu'ils sont exposés à la vanilline et à l'acide chlorhydrique (HCl) les groupes hydroxyles réagissent avec la vanilline, ce qui entraîne la formation d'un complexe coloré (*Price et al., 1978*).



**Figure 13** – Réaction chimique du test vanilline-HCL

### 4.3.2 Mode opératoire

La méthode Vanilline-HCL de *Oyedemi and Afolayan (2011)* a été utilisée afin de déterminer la teneur en proanthocyanidines des extraits de *Thapsia garganica*. Brièvement, 0.5 mL d'extraits de feuilles et racine de concentrations 1 mg/mL et 10 mg/mL respectivement sont mélangés avec 3 mL de vanilline à 4% et 1.5 mL d'HCl. Leur absorbance a ensuite été mesurée à 500 nm au spectrophotomètre après 15 minutes d'incubation.

La courbe d'étalonnage a été établie avec comme standard la Catechine à différentes concentrations et dans les mêmes conditions.

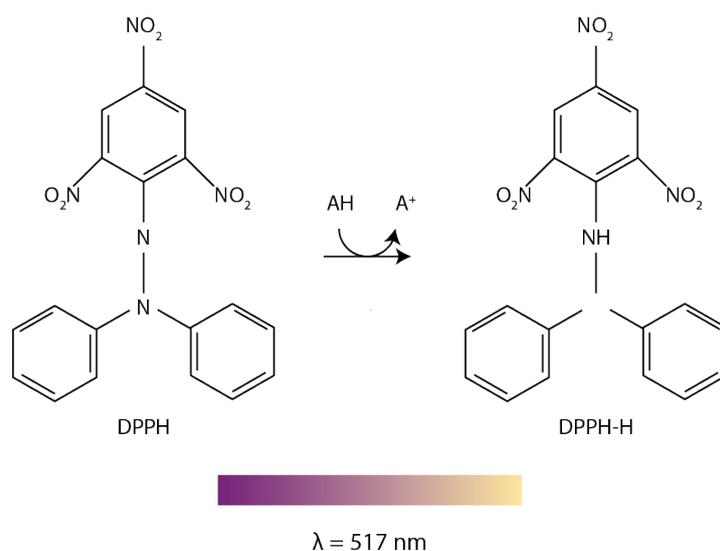
Les résultats sont exprimés en équivalent catechine (mg Catechine/g poids sec).

## 5 Tests d'activités

### 5.1 Test de piégeage du radical DPPH

#### 5.1.1 Principe

Le réactif diphényl 1-1-hydrasyle (DPPH) est un cation radicalaire stable de couleur pourpre qui, lorsqu'il réagit avec un composé antioxydant, tel un composé phénolique, cède un atome d'hydrogène ou un électron au radical DPPH, le réduisant ainsi à l'hydrazine jaune 2,2-Diphényl-1-picryl (**fig. 14**). Cette réaction peut être suivie par spectrométrie UV-Vis, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (*Blois, 1958*).



**Figure 14** – Réaction de réduction du radical DPPH

#### 5.1.2 Mode opératoire

Le protocole standard tel que énoncé par *Öztürk et al. (2011)* a été suivi. Afin de déterminer l'IC<sub>50</sub>, 0.5 mL d'extrait de feuilles resuspendu dans de l'eau distillée et 0.5 mL d'extrait de

racines de différentes concentrations ont été mélangées avec 2 mL de 0.2 mM de DPPH dilué à une absorbance de 0.8 nm. La mesure a été effectuée au spectrophotomètre à 517 nm après 30 minutes d'incubation.

La courbe d'étalonnage a été établie avec comme standard l'acide ascorbique à différentes concentrations et dans les mêmes conditions.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la loi :

$$I_{\%} = (Ac - At/Ac) * 100$$

Où : Ac = Absorbance du contrôle | At = absorbance du test |

## 6 Synthèse de nanoparticules d'argent

### 6.1 Principe

La synthèse verte de nanoparticules d'argent repose sur la capacité des métabolites secondaires des plantes à réduire les sels d'argent ( $AgNO_3$ ) en leur structure nanométrique. Certains composés flavonoïdes sont réputés pour la présence de groupements hydroxyles ( $-OH$ ). Ces groupes portent une charge négative, ce qui les rend aptes à se fixer à la surface des ions  $Ag^+$  et à induire leur réduction (*Pirtarighat et al., 2019*). Les composés phénoliques, en général, exercent une activité antioxydante, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des agents réducteurs en neutralisant les radicaux libres et en réduisant les ions métalliques (*Firoozi et al., 2016*). Les tanins et terpénoïdes sont également capables de fournir des électrons pour la réduction des ions  $Ag^+$  en  $Ag_0$  (*Ahmed and Mustafa, 2020*).

La capacité de la plante *Thapsia garganica* à réduire les nitrates d'argent ( $AgNO_3$ ) a été déterminée selon un plan de 2 expériences évaluant les paramètres de pH et de Température.

Deux expériences ont été réalisées en faisant varier la température (Température ambiante et  $45^{\circ}C + 5^{\circ}C$ ), le pH (10-11). En effet, de nombreuses publications concernant la synthèse verte de nanoparticules métalliques ont montré que ces facteurs modulaient principalement le processus de synthèse.

## 6.2 Mode opératoire

### 1. Première Expérience : Variation de température, pH neutre

- (a) Dans un premier temps, une solution de nitrates d'argent ( $\text{AgNO}_3$ ) de concentration 1 mM a été mélangée aux extraits de racine et de feuille (à des concentrations de 100mg/mL et 1mg/mL respectivement) dans un rapport de 1:10. Le mélange a été mis sous agitation constante et à température ambiante (25°C).
- (b) La température du mélange réactionnel a été ajustée à une valeur comprise entre 40°C et 50°C. Les mêmes proportions ont été maintenues à 1:10, et la concentration d'extrait de racines demeure à 100mg/mL, tandis-que celle de l'extrait de feuilles est de 1mg/mL.

### 2. Deuxième expérience : Variation du pH

Un pH basique, en théorie, accélérerait la réaction de réduction en augmentant le taux de précipitation des nanoparticules.

Un agent alcalin (NaOH) a été ajouté à la solution d' $\text{AgNO}_3$  + Extrait racinaire afin d'obtenir un pH basique de  $10 \pm 1$ .

#### Expression des résultats :

Le contrôle est effectué d'abord visuellement en notant tout brunissement en raison de la résonance plasmonique de surface (SPR) des AgNPs, puis une confirmation en effectuant un balayage au spectrophotomètre, couvrant l'UV-Visible (300nm-700nm) à des intervalles de temps de : 0h, 30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 24h.

## 6.3 Isolation des nanoparticules

Une fois la réaction terminée, la solution est centrifugée à 8000 tours/minute pendant 40 minutes à température ambiante et lavée trois fois avec de l'eau distillée. Elle est ensuite recueillie et centrifugée à 14 000 tours/minute avec de l'éthanol absolu à température ambiante. Le culot obtenu est finalement séché dans un étuve à 40°C pendant 24h. Les nanoparticules séchées sont conservées à 4°C pour toute analyse ultérieure.

## 7 Activités anti-bactérienne

Une activité anti-bactérienne est définie comme un effet inhibiteur ou mortifère exercé par un agent sur la croissance microbienne. Cet effet peut être soit microbistatique, c'est-à-dire qu'il arrête la croissance, soit microbicide, ce qui signifie qu'il provoque la mort de la population bactérienne.

### 7.1 Souches utilisées

Les souches bactériennes étudiées sont les suivantes : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 610), *Salmonella sp.*(souche non référencée), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (ATCC 43300), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) (*S. aureus* d'origine alimentaire).

### 7.2 Test d'activité

L'activité anti-bactérienne des extraits éthanoliques des feuilles de la plante et des nanoparticules synthétisées a été déterminée par la technique standard de diffusion sur agar.

#### 7.2.1 Revivification des souches bactériennes et standardisation des inocula bactériens

Les souches bactériennes ont été inoculées dans un bouillon nutritif et incubées à 37° C pendant 18 heures. Les cultures de chaque micro-organisme ont ensuite été mises en suspension dans une solution saline stérile à 0,9 % jusqu'à ce que la turbidité corresponde à 0,5 McFarlande.

#### 7.2.2 Méthode de diffusion sur disque

Méthode de diffusion sur gélose basée sur le principe de l'imprégnation d'un disque de papier Whatman de 6 mm de diamètre avec une substance potentiellement antimicrobienne. Le contenu du disque se diffuse sur une géloseensemencée avec des souches cibles et toute activité est révélée par une zone d'inhibition après incubation dans des conditions de croissance optimales pour la souche testée (*Horváth et al., 2016*).

Chaque culture bactérienne a été inoculée sur une gélose Muller-Hinton, puis des disques de papier stériles imprégnés de 15uL-20uL de la solution d'extrait et la suspension de nanoparticules ont été placés au dessus. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C.

Chaque échantillon a été testé en double et l'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant et en enregistrant les zones d'inhibition en mm. Parallèlement des agents antibiotiques commerciaux, y compris la clindamycine et Cefalotine ont été utilisés comme contrôles positifs, et une solution d'eau saline stérile de concentration de 0.9% a également été utilisée comme contrôle négatif.

Les expériences réalisées dans cet thèse ont été effectuées en triplicata, et les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel Excel.

## IV | Résultats et discussion

### 1 Analyse phyto-chimique de la plante

L'analyse du contenu métabolique des parties aériennes et racinaires de *Thapsia garganica* a donné les résultats figurant dans la **table I**.

**Table I** – Contenu métabolique de *Thapsia garganica*

Métabolites	Compartiment	Contenu
TPC	Feuilles	5.22 ± 1.8
	Racines	3.02 ± 0.7
Flavonoïdes	Feuilles	5.297 ± 0.26
	Racines	3.28 ± 0.2
Tanins condensés	Feuilles	0.182 ± 0.0033
	Racines	0.187 ± 0.0037

Le dosage des composés phyto-chimiques de *Thapsia garganica* a été effectué en se référant à des courbes de regression linéaires usant de l'acide gallique pour les phénols totaux, quercétine pour les flavonoïdes et catéchine pour les tanins comme étalons. Les valeurs ainsi retrouvées sont exprimées en milligrammes équivalent de chaque standard par grammes d'extrait (**mg EAG/g d'extrait; mg QE/g d'extrait; mg CE/g d'extrait**).

La teneur en phénols de l'extrait éthanolique des feuilles est de  $5,22 \pm 1,8$  mg EAG/g d'extrait, tandis que celle de l'extrait de racines obtenu par décoction est de  $3,02 \pm 0,7$  mg EAG/g d'extrait. Quant aux flavonoïdes, leur valeur est estimée à  $5.297 \pm 0.26$  mg EQ/g d'extrait,  $3.28 \pm 0.2$  mg EQ/g d'extrait pour les feuilles et racines respectivement. Enfin, le taux de tanins condensés est de  $0.182 \pm 0.0033$  mg CE/g d'extrait pour les feuilles et de  $0.187 \pm 0.0037$  mg CE/g d'extrait pour les racines.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de plusieurs études utilisant cette plante comme matrice. Par exemple, *Djeridane et al. (2006)* ont trouvé des taux de phénols et flavonoïdes de  $7,63 \pm 0,61$  mg EAG/g d'extrait et  $4.04 \pm 0.42$  mg QE/g d'extrait respectivement, en utilisant une méthode d'extraction en deux phases combinant l'éthanol et l'acétate d'éthyle. Cette étude suggère que la solubilité du solvant n'a pas d'effet sur la teneur en composés phénoliques. Cependant l'étude menée par *ATHMOUNI et al. (2015)*, dans laquelle ils ont évalué l'effet de la polarité

de différents solvants sur la teneur en biomolécules et l'activité antioxydante de *Thapsia garganica* semble contredire cette observation. Or ils ont déterminé que l'extrait d'acétate d'éthyle, un solvant protique polaire présentait les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes les plus élevées ( $11,72 \pm 1,8 \text{ mg EAG/g d'extrait}$ ;  $3,45 \pm 0,06 \text{ mg QE/g d'extrait}$ ), en contraste avec les valeurs trouvées dans cette étude.

Ces disparités pourraient s'expliquer par la différence dans les origines ethno-botaniques et géographiques de la plante. L'échantillon de *Djeridane et al. (2006)* provenait en Algérie, tandis que celui de *ATHMOUNI et al. (2015)* fut collecté en Tunisie. Dans cette optique, nos résultats obtenus pour *Thapsia garganica* appartenant à la même niche écologique concordent avec *Djeridane et al. (2006)*. Les concentrations de divers composés secondaires dépendent fortement des conditions de croissance qui ont un impact sur les voies métaboliques responsables de l'accumulation des produits naturels correspondants (*Chalker-Scott and Fuchigami, 2018*).

Il convient de noter que *Thapsia garganica* n'est pas tant connue pour son contenu phénolique que pour la présence de terpènes. Par conséquent, un dosage spécifique est nécessaire, toutefois, un protocole standardisé pour les terpénoïdes n'a pas encore été mis au point, ce qui rend leur quantification ardue (*Lukowski et al., 2022*).

## 2 Activité anti-oxydante

La capacité anti-oxydante d'un extrait végétal dépend fortement de sa composition chimique et du type de test utilisé. De nombreux facteurs peuvent influencer cette activité. Par conséquent, un seul test est généralement insuffisant pour déterminer sa valeur réelle.

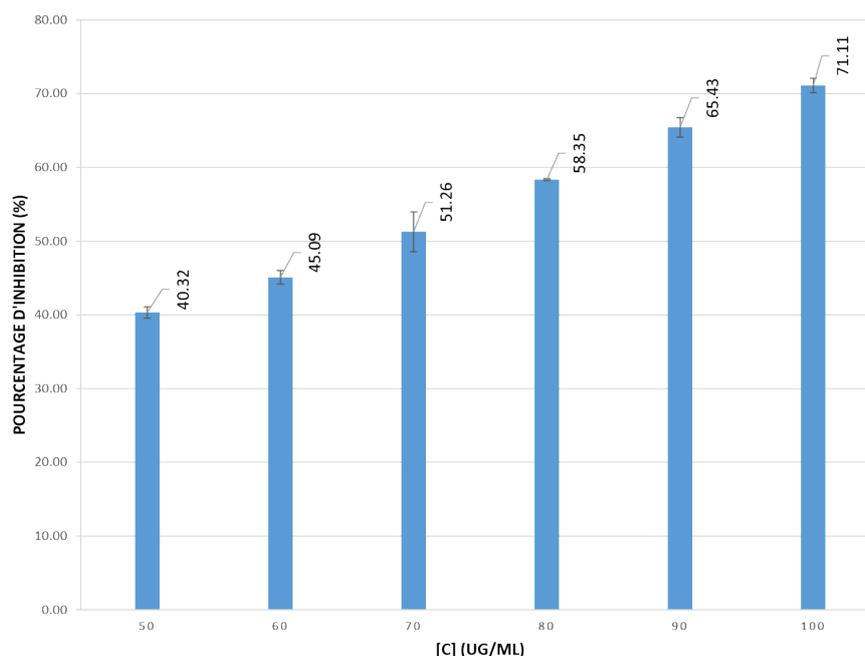
### 2.1 Activité scavenger DPPH

Les résultats du test DPPH nous ont permis de tracer une courbe de régression présentée dans l'**annexe 1**.

La courbe de régression indique que le pourcentage d'inhibition est positivement corrélé à la concentration de l'extrait; plus la concentration est élevée, plus l'inhibition est importante.

On constate notamment, que l'extrait de feuilles présente des pourcentages d'inhibition élevés allant jusqu'à 70%. **fig. 15**.

À partir des données recueillies, nous pouvons déterminer la IC<sub>50</sub> de l'échantillon, qui est définie comme la concentration d'une substance nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition.



**Figure 15** – Pourcentage d’inhibition en fonction de la concentration de l’extrait de feuilles

Notre extrait de feuilles présente une IC<sub>50</sub> de  $66,71 \pm 0,37$  ug/mL, Tandis que l’extrait de racine a démontré une valeur IC<sub>50</sub> supérieure à 1mg/mL. Si l’on compare cette valeur à celle de l’acide ascorbique, un antioxydant commun puissant qui présente une IC<sub>50</sub> de 10,66 ug, on constate que notre extrait de feuilles a une puissance 6 fois plus inférieure que celle de l’étalon **table II**.

**Table II** – Valeur des IC<sub>50</sub>

Extrait	IC <sub>50</sub> (ug/mL)
Extrait de feuilles	66,71
Extrait de racines	> 1000
Acide ascorbique	10,66

L’étude de *Bouimeja et al. (2018)*, explorant l’activité anti-vénome de *Thapsia garganica*, a présenté une activité anti-oxydante des extraits méthanoliques de  $134.79 \pm 0.003$  ug/mL. Une valeur largement plus significative que la notre. *ATHMOUNI et al. (2015)* quant à eux, ils ont évalué la capacité scavenging de différents extraits et ont déterminé que L’activité de piégeage la plus forte fût dans la fraction d’acétate d’éthyle, suivie par l’extrait méthanolique, avec des valeurs IC<sub>50</sub> de  $0,16 \pm 0,02$  et  $0,24 \pm 0,04$  mg/ml d’extrait respectivement.

Cela s’explique en grande partie par la présence de phénols et de flavonoïdes ; L’activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés d’oxydo-

réduction qui font d'eux des agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et angets d'extinction d'oxygènes singulets. Cependant, en raison de leur faible présence dans la plante, cette activité n'est pas très importante.

(*Schofield and Braganza, 1996*).

### 3 Synthèse de nanoparticules d'argent

La synthèse verte est basée sur la capacité des substances bioactives des plantes à réduire le nitrate d'argent à sa forme nanométrique. L'analyse phyto-chimique révèle une certaine quantité de phénols, de flavonoïdes et de tanins, suggérant la possibilité de réduction (*Amini and Akbari, 2019*).

#### 3.1 Analyse des spectres de synthèse

##### 1ere expérience : Variation de latempérature, pH neutre

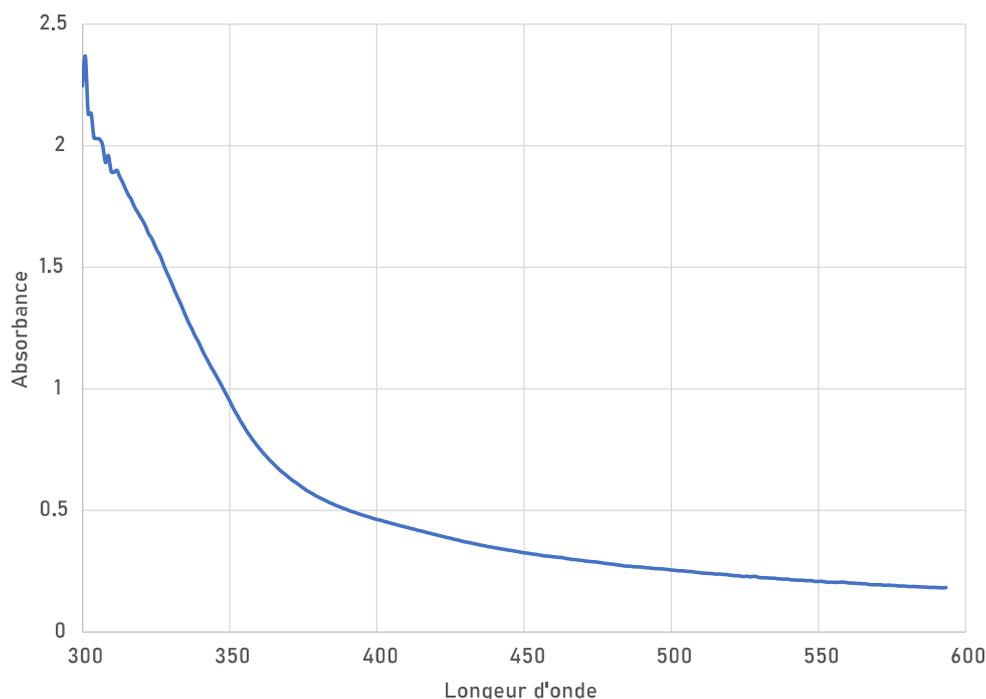
(a) **Température ambiante** : Afin d'évaluer la capacité des extraits de *Thapsia garganica*, sans aucune modification, à synthétiser des nanoparticules. Il est essentiel d'établir les conditions initiales afin d'apporter les modifications appropriées.

Les résultats de cette première expérience montrent qu'aucun changement de couleur n'est observé et qu'aucun pic de synthèse n'est noté sur le spectrophotomètre dans les premières heures après le début de la synthèse **fig. 16**.

L'extrait de racine n'a donc pas réduit les sels d'argent. Ceci s'explique par le fait que la faible teneur en métabolites secondaires nécessite un laps de temps important pour observer une réduction, aussi minime soit-elle. En effet, le changement de couleur n'est observé qu'après 24 heures de réaction.

(b) **Temperature 45°C ± 5°C** : La température agit comme un accélérateur dans une réaction. Une augmentation de la température accroît l'énergie cinétique moyenne des molécules. Par conséquent, une plus grande proportion de molécules disposera de l'énergie minimale nécessaire à une collision efficace.

Plusieurs études d'optimisation de la synthèse utilisant des extraits de différentes plantes ont évalué une température comprise entre 40 et 50°C comme étant la température idéale pour une synthèse optimale. Etant donné qu'aucune recherche n'avait été



**Figure 16** – Suivi temporel de la synthèse à température ambiante

effectuée avec *Thapsia garganica*, sans aucun précédent, nous avons décidé de nous baser sur les résultats de ces recherches antérieures, même si les matrices étaient différentes (Joshi et al., 2019; Khanal et al., 2022).

Un suivi minutieux a été effectué à différents intervalles.

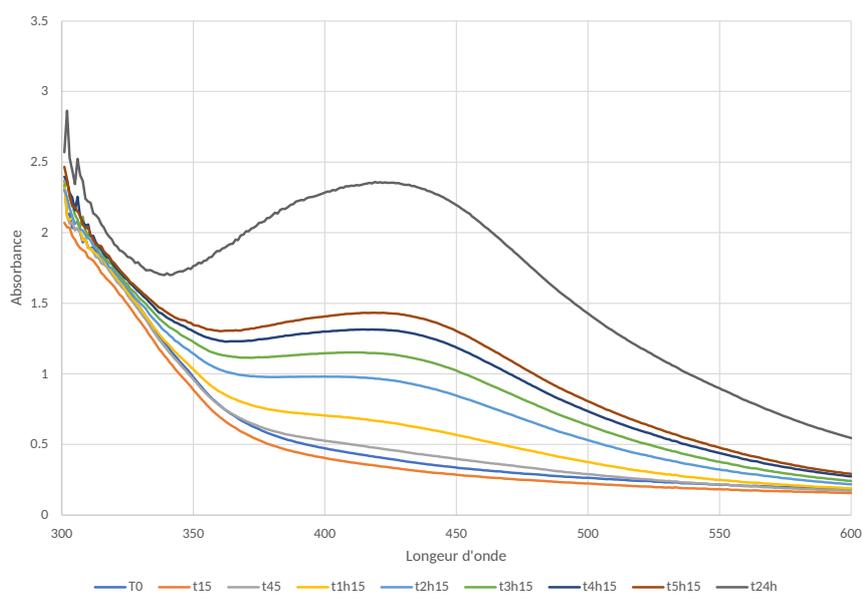
**(a) Synthèse médiée par l'extrait de racines :**

Le mélange réactionnel de l'extrait de racine de concentration 100 mg/mL et 1 mM  $\text{AgNO}_3$  a initialement présenté aucun pic. Après 30 minutes, une légère inflation a été observée à environ 400-450 nanomètres, accompagnée d'un changement de couleur **section 3.1**. L'apparition d'un pic d'absorption à une longueur d'onde de 400-500 nm indique que des AgNPs se sont formées (Umadevi et al., 2012). Au fil des heures, l'intensité de l'absorption a progressivement augmenté, la couleur du mélange devenant de plus en plus foncée. On peut donc déduire que la quantité de nanoparticules a augmenté. La réaction s'est prolongée jusqu'à 24 heures **fig. 17**.

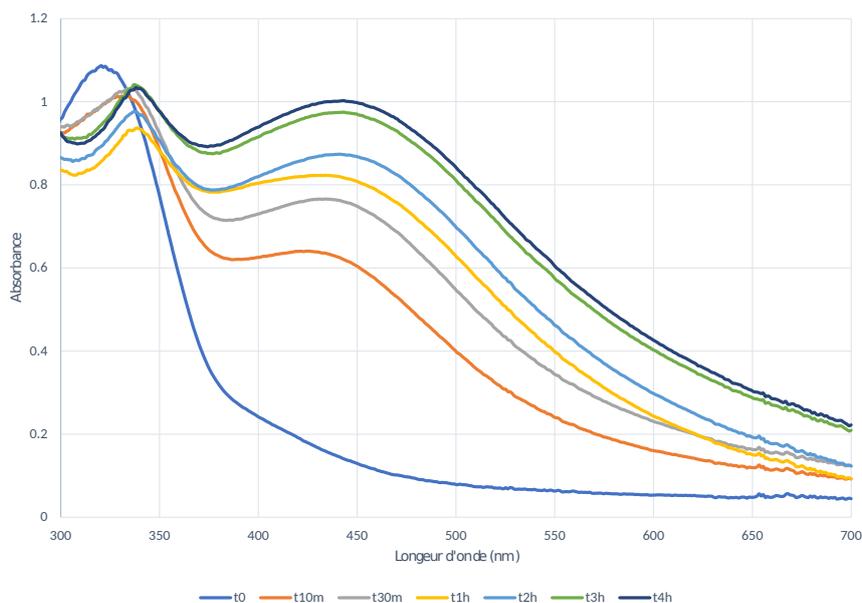
**(b) Synthèse médiée par l'extrait de feuilles :**

La synthèse avec l'extrait de feuilles de concentration de 1 mg/mL et 1 mM d' $\text{AgNO}_3$  n'a pas montré de pic immédiat. Après 30 minutes, une faible inflation a été observée à environ 400-450 nanomètres, accompagnée d'un changement de couleur, passant du vert clair à l'orange. Cela montre que les nitrates d'argent ont été

réduits et ont produit des nanoparticules d'argent. Au fil des heures, l'intensité de l'absorption a progressivement augmenté, la couleur du mélange devenant de plus en plus foncée. On peut donc en déduire que la quantité de nanoparticules a augmenté. Contrairement à la synthèse médiée par les extraits de racine, nous pouvons constater que la synthèse avec les feuilles est beaucoup plus rapide. Or, en l'espace de 5 heures, on constate une stagnation du pic de synthèse au spectrophotomètre indiquant la fin de la réaction **fig. 18**.



**Figure 17** – Suivi temporel de la synthèse médiée par l'extrait de racine



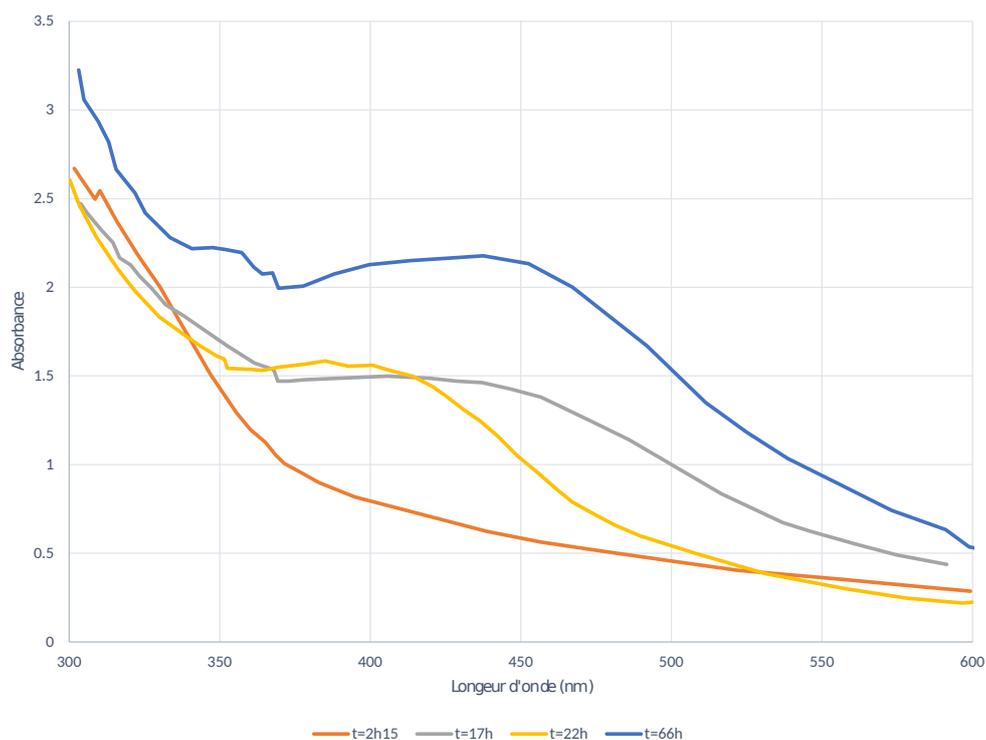
**Figure 18** – Suivi temporel de la synthèse médiée par l'extrait de de feuilles

Les résultats de ces tests démontrent clairement qu'une synthèse sans modification du pH et une température se situant dans un intervalle de 40-50°C est adéquate pour une production de nanoparticules d'argent. Ces conditions (Température et ratio des réactifs) ont donc servi pour produire un grand volume pour les analyses ultérieures.

### 2eme Experience : Variation du pH

Dans le but d'accélérer la vitesse de réduction, il est envisageable d'ajuster le pH de la solution réactionnelle. En augmentant le pH, on augmente le taux de précipitation des molécules.

Le pH est ajusté à 10 avec une solution de NaOH. Le changement de couleur est presque instantané, ce qui indique que les sels d'argent ont été réduits. L'analyse spectrophotométrique montre un pic autour de 300-500 nm, spectre d'absorption caractéristique des nanoparticules d'argent après 17 heures de réaction. **fig. 19.**



**Figure 19** – Spectre de synthèse avec modification du pH

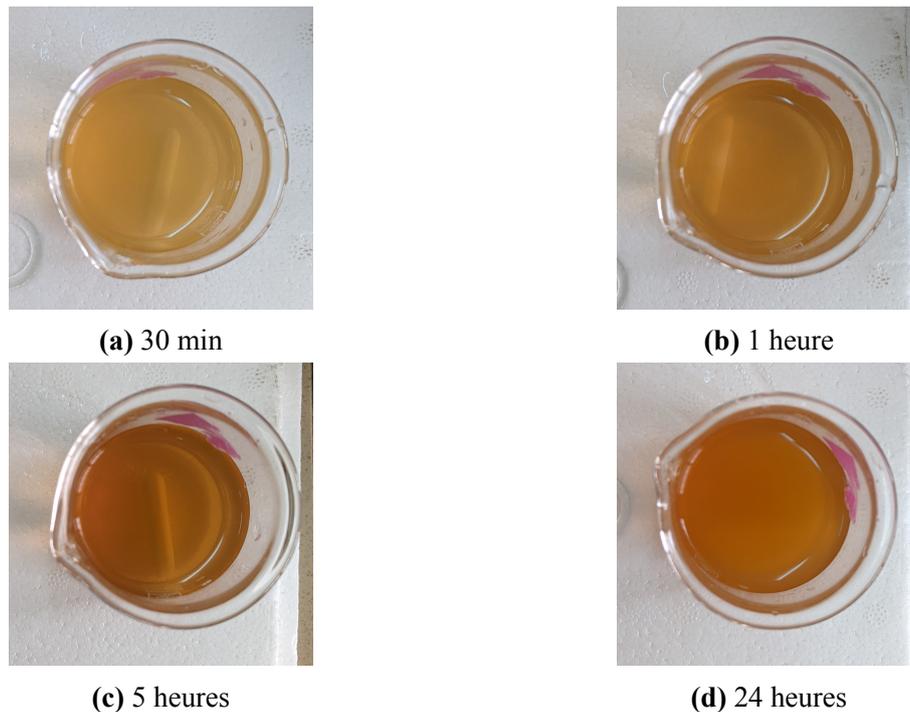
Des longueurs d'onde spécifiques ont la capacité d'induire l'oscillation des électrons de conduction à l'intérieur des métaux, un phénomène bien établi sous le nom de résonance plasmonique de surface. La nature de ces vibrations est intrinsèquement liée à la taille et à la forme des particules d'argent. Par conséquent, la spectroscopie UV-VIS se révèle être une technique permettant de caractériser les particules d'argent en fonction de leurs dimensions et de leur morphologie. De manière plus précise, les petites nanoparticules d'argent de forme sphérique (dans

la plage de 10 à 50 nanomètres) présentent généralement un pic d'absorbance de faible amplitude, situé à proximité d'une longueur d'onde maximale ( $\lambda_{\text{max}}$ ) d'environ 400 nanomètres, tandis que les sphères d'argent de plus grande taille (dans la plage de 100 à 220 nanomètres) exhibent un pic plus large, avec une  $\lambda_{\text{max}}$  se déplaçant vers des longueurs d'onde plus élevées, approchant les 500 nanomètres (*Desai et al., 2012*).

On constate que le pic de synthèse s'étend sur un large intervalle de longueurs d'onde (> 100 nm) ce qui indique que les nanoparticules possèdent une grande taille ce qui augmente la probabilité de formation d'agrégats.

Le pH peut influencer le taux de réduction en augmentant la disponibilité des ions hydroxyde ou hydrogène : Les ions hydroxyde et hydrogène peuvent agir comme des donneurs d'électrons. Le principal impact du pH est sa capacité à modifier les charges électriques des biomolécules, ce qui peut modifier leur capacité de réduction et d'enrobage (capping) et par conséquent modifier la croissance des nanoparticules (*Khalil et al., 2014*). En modifiant le pH, les nanoparticules précipitent lorsque leur point isoélectrique est atteint. Les noyaux se regroupent pour former une nanoparticule.

Il est à noter que le pH exerce une influence déterminante sur les caractéristiques intrinsèques des nanoparticules métalliques. À un pH élevé, des nanoparticules d'argent de plus petite taille ont été obtenues par rapport et inversement pour des valeurs de pH faibles. Cette différence peut être attribuée à la différence de taux de réduction du précurseur (*Alqadi et al., 2014*).



**Figure 20** – Variation chromatique de la solution de synthèse

### 3.2 Isolation des nanoparticules

Après fin de la synthèse, les solutions de nanoparticules ont été lavées 3 fois à l'eau distillée afin de débarrasser tout résidus pouvant potentiellement interférer avec la suite des analyses. Après chaque lavage, une centrifugation à 8000 rpm et à température ambiante a été effectuée (*Khanal et al., 2022*).

Le culot de nanoparticules obtenu est lavé une dernière fois avec de l'éthanol à 96% puis centrifugé à 14000 rpm et enfin mis à sécher dans une étuve à 40°C.

Après séchage, les nanoparticules ont été resuspendues dans une solution saline de 0.9% puis mis dans un sonicateur pendant 1h pour obtenir une solution colloïdale (nanoparticules dispersées).

Cependant, on remarque qu'après sonication, les nanoparticules ne s'étaient pas dispersées et après un certain temps, ces dernières se sont sédimentées. On stipule que le solvant de dispersion utilisé, l'eau saline, n'est pas un milieu approprié pour disperser les nanoparticules. La dispersion des nanoparticules d'argent peut être obtenue lorsque les nanoparticules d'argent s'associent à des molécules de solvant, les molécules produisent une seconde couche à la surface des particules en générant des ions d'argent, ce qui permet de stabiliser et de maintenir les particules non agrégées (*Galatage et al., 2021*).

La mauvaise dispersion des nanoparticules pourrait potentiellement affecter ses propriétés et ses activités biologiques.

## 4 Activité anti-bactérienne

L'activité anti-bactérienne des extraits de feuilles de *Thapsia garganica* et des nanoparticules d'argent synthétisées contre les micro-organismes examinés dans la présente étude et leur efficacité ont été évaluées qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence de zone d'inhibition.

Les résultats, présentés dans la **table III**, indiquent une activité anti-bactérienne extrêmement faible contre les souches testées. On constate que seules les souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont montré une sensibilité contre les nanoparticules d'argent avec des diamètres moyens de 13 mm et 12 mm respectivement. On constate que l'effet inhibiteur de l'extrait est inférieure à celui des nanoparticules ce qui indique que les nanoparticules couplées à un coating des extraits accentuent leur effet anti-bactérien par l'entremise d'un effet synergique. Il convient de noter que l'activité anti-bactérienne des nanoparticules a excédé celle des antibiotiques de référence, Céfalotine et clindamycine, contre *Staphylococcus aureus*; CLI n'a montré aucune activité, alors que le premier a présenté une zone d'inhibition de 13 mm.

**Table III** – Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait et nanoparticules

Souches bactérienne	Gram	Diamètre des zones d'inhibition(mm)	
		Extrait	AgNps
<i>Salmonella</i>	Négatif	0	0
<i>E.coli</i>	Négatif	8	12
<i>Actinobacter</i>	Négatif	0	0
<i>B.subtilis</i>	Négatif	0	0
<i>Streptococcus</i>	Positif	0	0
<i>S.aureus</i>	Positif	0	13

L'efficacité d'un agent antimicrobien est souvent proportionnelle à sa concentration. Une étude de **Sidhoum Djaffer et al. (2012)** sur l'activité antibactérienne de *Thapsia garganica* a démontré des variations de diamètres d'inhibition de 6 à 32 mm avec des extraits acétoniques de feuilles de concentration de 100 mg/mL révélant une meilleure activité. Il est envisageable

que les résultats négatifs sont dues aux concentrations d'extrait utilisées (1 mg/mL) et de nanoparticules trop faibles pour exercer une quelconque activité.

Toutes fois ces résultats semblent contredire plusieurs études sur l'effet anti-bactériens des nanoparticules d'argent. En effet, Des études sur l'activité antibactérienne des AgNPs contre *S.aureus* à Gram positif et *E. coli* à Gram négatif ont montré que l'inhibition de la croissance dans le cas de *S.aureus* est moins remarquable, tandis que *E. coli* est inhibée à de faibles concentrations d'AgNPs (*Gurunathan et al., 2014*). Ceci est en raison de la présence d'un peptidoglycane plus épais chez les Grams positifs, réduisant la pénétration des nanoparticules, ainsi les rendant plus résistantes à ces dernières (*Rai et al., 2012*).

Plusieurs facteurs influencent la capacité bactéricide et bacteriostatique des nanoparticules. La forme des nanoparticules est l'une des propriétés qui affecte les autres propriétés physico-chimiques des nanoparticules (*Hong et al., 2016*). Des images MET à filtrage d'énergie ont révélé des altérations de la membrane cellulaire de la bactérie *E. coli* à Gram négatif lors du traitement avec des AgNP de formes différentes, à la fois dans un milieu agar liquide et semi-solide (*Pal et al., 2007*). Les configurations géométriques distinctes des nanoparticules d'argent impactent significativement leur activité anti-bactérienne, en influençant notamment leur rapport surface/volume, et par extension, leur capacité à libérer des ions argent dans leur environnement. Cette libération d'ions argent est connue pour ses propriétés antimicrobiennes, étant capable de perturber les membranes cellulaires bactériennes et d'interférer avec les processus cellulaires essentiels. Ainsi, les nanoparticules avec une plus grande surface spécifique, telles que les nanofils, les nanorods, et les nanofeuilles, tendent à manifester une activité antibactérienne accrue.

Par ailleurs, la morphologie des nanoparticules d'argent influence leur interaction avec les cellules bactériennes. En effet, certaines formes de nanoparticules peuvent manifester une affinité plus prononcée pour les membranes cellulaires bactériennes, facilitant ainsi leur adhérence ou leur pénétration, ce qui renforce leur action anti-bactérienne. À titre d'exemple, les nanorobots possédant des extrémités pointues peuvent présenter une efficacité accrue dans la perforation des membranes cellulaires bactériennes.

Parallèlement, la forme des AgNPs joue un rôle dans la propension des nanoparticules à s'agréger. L'agrégation des nanoparticules peut compromettre leur efficacité en réduisant la surface disponible pour la libération d'ions argent. En l'occurrence, les nanoparticules sphériques sont plus susceptibles de s'agréger par rapport à leurs homologues en forme de bâtonnets ou de structure ramifiée, ce qui peut affecter leur performance antibactérienne globale (*Menichetti*

*et al., 2023*).

Une autre propriété physico-chimique importante des AgNPs est leur taille. En général, pour que les nanoparticules soient efficaces, leur taille ne doit pas dépasser 50 nm. Plus précisément, les nanoparticules d'argent dont la taille est comprise entre 10 et 15 nm présentent une stabilité et une biocompatibilité accrues, ainsi qu'une activité anti-bactérienne renforcée (*Kalwar and Shan, 2018*).

L'effet antibactérien des AgNP tel qu'il est proposé est dû à la taille plus petite des particules qui a apparemment une capacité de pénétration supérieure dans les bactéries, en particulier dans les Gram-négatives (*Morones et al., 2005*).

L'état colloïdal des AgNP est un attribut essentiel pour leur activité anti-bactérienne. Au contraire, les AgNP dans un système liquide n'ont montré que des applications limitées en tant qu'agents bactéricides en raison de leur faible stabilité colloïdale (*Bélteky et al., 2019*).

Par conséquent, à cause de la non dispersion des nanoparticules observé lors de la préparation de la solution colloïdale, l'agrégation probable des nanoparticules ainsi que leur forme et taille méconnues, tous ces facteurs pourraient avoir affectés les propriétés anti-bactériennes de ces dernières.

## Conclusion et perspectives

La nanotechnologie connaît des progrès rapides, avec l'émergence continue de diverses méthodologies pour la fabrication de particules à l'échelle nanométrique. La recherche d'approches respectueuses de l'environnement pour la synthèse de nanoparticules a suscité une grande attention, principalement en raison des sous-produits nocifs générés par les procédures chimiques conventionnelles. Dans ce contexte, l'utilisation de divers organismes, allant de bactéries simples à des eucaryotes complexes, ainsi qu'une multitude d'extraits de plantes, a gagné en importance dans le domaine de la biosynthèse de nanoparticules d'argent, chacune démontrant des tailles et des configurations distinctes.

La présente étude marque une phase initiale cruciale dans la recherche dédiée à la synthèse de nanoparticules d'argent. Elle se distingue par l'utilisation pionnière de la plante locale *Thapsia garganica*, constituant ainsi une avancée significative dans ce domaine. Cette approche de biofabrication, s'inscrivant dans la catégorie des stratégies ascendantes, se distingue par sa focalisation sur le processus de réduction en tant que réaction opérationnelle prédominante. La réduction des ions d'argent engendre la formation de nanoparticules d'argent stables. L'objectif principal de cette recherche réside non seulement dans la démonstration de la faisabilité de la synthèse des nanoparticules, mais également dans l'évaluation de leur activité antimicrobienne potentielle. Cette étude représente un jalon majeur dans la quête de nouvelles solutions bénéfiques pour notre société, soulignant ainsi l'importance cruciale de l'étude en tant que première étape incontournable.

Tout d'abord, une analyse phytochimique exhaustive des extraits a été entreprise dans le but de déterminer la teneur en métabolites secondaires, notamment les polyphénols totaux (TPC), les flavonoïdes (FC), et les tanins condensés (TC), réputés pour leur capacité à servir de réducteurs dans la conversion des sels d'argent. Parallèlement, une évaluation des activités antioxydantes a été réalisée en utilisant la méthodologie de piégeage des radicaux libres DPPH.

La synthèse des nanoparticules d'argent (NPs) a été conduite en variant plusieurs paramètres, notamment la température (20°C et 40°C) et le pH (neutre et basique). Les résultats de cette investigation ont révélé que les extraits provenant des racines et des feuilles manifestaient la capacité de réduire les nitrates d'argent à l'échelle nanométrique, avec une réduction plus marquée à une température de 40°C.

La caractérisation des NPs d'argent a été effectuée par le biais de la technique optique UV-Vis, laquelle a confirmé la formation de ces NPs. Cela a été corroboré par l'observation des bandes d'absorption caractéristiques se situant aux alentours de 400-500 nm dans le spectre UV-Vis. La qualité des NPs a été vérifiée par l'absence d'apparition de pics avant ou après ceux générés durant la synthèse, renforçant ainsi la fiabilité des résultats.

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, elle a été rigoureusement évaluée au moyen du test de diffusion sur disque. Les données recueillies ont révélé une quasi-absence d'inhibition, une observation susceptible d'être expliquée par l'état d'agrégation et de dispersion des NPs, ainsi que par leur faible concentration au sein de la solution colloïdale utilisée dans les essais. Ces résultats suggèrent que des investigations ultérieures pourraient être nécessaires pour optimiser l'efficacité antimicrobienne de ces NPs d'argent synthétisées par le biais de la méthode de "synthèse verte".

Dans le cadre de la poursuite de cette étude, une recherche complexe nécessite un examen méticuleux d'un ensemble de paramètres physico-chimiques. Ces paramètres, qui englobent, sans s'y limiter, la température, les durées de réaction, les concentrations des réactifs et des extraits, ainsi que les variations du pH, sont d'une importance capitale. L'objectif de cette enquête est de discerner les conditions optimales pour la synthèse des nanoparticules et de vérifier leurs effets conséquents sur les attributs des nanoparticules qui en résultent.

La recherche d'une caractérisation complète est primordiale, impliquant des méthodologies analytiques pour vérifier les dimensions et les géométries des nanoparticules. Des techniques telles que la diffraction des rayons X (XRD) et la microscopie électronique à balayage (SEM) s'avèrent être des outils indispensables à cet égard.

En outre, une exploration complète s'impose, impliquant une enquête méticuleuse sur les activités antioxydantes et antimicrobiennes des nanoparticules synthétisées contre un spectre de souches microbiennes. Parallèlement, il est impératif de procéder à une évaluation rigoureuse de leurs capacités anti-biofilm potentielles à des concentrations variées, ainsi qu'à la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

La proposition d'étendre les horizons de cette trajectoire de recherche à d'autres nanoparticules métalliques, dont l'or et le cuivre, est particulièrement intéressante. L'exploration de ces différentes molécules métalliques devrait permettre d'enrichir le discours scientifique et d'ouvrir de nouvelles perspectives de compréhension et d'applications potentielles.

## **Références bibliographiques**

# Bibliographie

Agar, O. T. and Cankaya, I. I. T. (2020). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128164556000056>Analysis of phenylethanoids and their glycosidic derivatives. *Recent advances in natural products analysis*, pages 221–254.

Agostini-Costa, T. d. S., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., and Gimenes, M. A. (2012). Secondary metabolites. *Chromatography and its applications*, 1:131–164.

Ahmed, R. H. and Mustafa, D. E. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles mediated by traditionally used medicinal plants in sudan. *International Nano Letters*, 10(1):1–14.

Akula, R. and Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11):1720–1731.

Al-Beltagi, S., Preda, C. A., Goulding, L. V., James, J., Pu, J., Skinner, P., Jiang, Z., Wang, B. L., Yang, J., Banyard, A. C., et al. (2021). <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/2/234>Thapsigargin is a broad-spectrum inhibitor of major human respiratory viruses : coronavirus, respiratory syncytial virus and influenza A virus. *Viruses*, 13(2):234.

Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A., and Hebail, F. (2012). <https://cyberleninka.org/article/n/1066457.pdf>Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural science*, 4(5):324–335.

Alqadi, M., Abo Noqtah, O., Alzoubi, F., Alzoubi, J., and Aljarrah, K. (2014). pH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction. *Materials Science-Poland*, 32:107–111.

Amini, S. M. and Akbari, A. (2019). Metal nanoparticles synthesis through natural phenolic acids. *IET nanobiotechnology*, 13(8):771–777.

Andersen, A., Christensen, S., Deepak, D., Gäde, G., Khare, A., Smitt, U., Srivastav, S., Christensen, S., Andersen, A., and Smitt, U. (1997). [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7091-6529-4\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7091-6529-4_2)*Sesquiterpenoids from Thapsia species and medicinal chemistry of the thapsigargin. Fortschritt der* –167.

- Anwar, S. H. (2018). A brief review on nanoparticles : types of platforms, biological synthesis and applications. *Res. Rev. J. Mater. Sci*, 6:109–116.
- ATHMOUNI, K., BELGHITH, T., BELLASSOUAD, K., El Feki, A., and Ayadi, H. (2015). Effect of solvent polarity on the content of biomolecules and antioxidant activity of thapsia garganica (apiaceae). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3):194–208.
- Bammi, J. and Douira, A. (2004). Contribution à la connaissance de la flore vasculaire de la forêt de l'achach, plateau central (maroc). *Acta botánica malacitana*, 29:23–41.
- Bapat, R. A., Chaubal, T. V., Joshi, C. P., Bapat, P. R., Choudhury, H., Pandey, M., Gorain, B., and Kesharwani, P. (2018). An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Materials Science and Engineering : C*, 91:881–898.
- Bélteky, P., Rónavári, A., Igaz, N., Szerencsés, B., Tóth, I. Y., Pfeiffer, I., Kiricsi, M., and Kónya, Z. (2019). Silver nanoparticles : Aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity. *International journal of nanomedicine*, pages 667–687.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199–1200.
- Bouimeja, B., El Hidan, M. A., Touloun, O., Laaradia, M. A., Dra, L. A., El Khoudri, N., Chait, A., and Boumezzough, A. (2018). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874117321736>Anti-scorpion venom activity of Thapsia garganica methanolic extract : Histopathological and biochemical evidences. *Journal of ethnopharmacology*, 211:340–347.
- Casiglia, S., Riccobono, L., Bruno, M., Rosselli, S., Senatore, F., and Senatore, F. (2016). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2015.1104676>Chemical composition of the essential oil from Thapsia garganica L.(Apiaceae) grown wild in Sicily and its antimicrobial activity. *Natural product research*, 30(9):1042–1052.
- Chalker-Scott, L. and Fuchigami, L. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In *Low temperature stress physiology in crops*, pages 67–80. CRC press.
- Cushnie, T. T. and Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 38(2):99–107.

- Denmeade, S. R. and Isaacs, J. T. (2005). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.4.1.1505>The SERCA pump as a therapeutic target : making a “smith1995art bomb” for prostate cancer. *Cancer biology & therapy*, 4(1):21–29.
- Denmeade, S. R., Mhaka, A. M., Rosen, D. M., Brennen, W. N., Dalrymple, S., Dach, I., Olesen, C., Gurel, B., DeMarzo, A. M., Wilding, G., et al. (2012). <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scitranslmed.3003886>Engineering a prostate-specific membrane antigen-activated tumor endothelial cell prodrug for cancer therapy. *Science translational medicine*, 4(140):140ra86–140ra86.
- Desai, R., Mankad, V., Gupta, S. K., and Jha, P. K. (2012). Size distribution of silver nanoparticles : Uv-visible spectroscopic assessment. *Nanoscience and nanotechnology letters*, 4(1):30–34.
- Djahida, A. and Houcine, B. (2021). <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijar2volume=55issue=5article=002>Phytochemical content, antioxidant and antimicrobial effects of *Thapsia garganica* L. leaves and roots grown wild in northwest Algeria. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(5):519–526.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N. (2006). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460500422X>Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4):654–660.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J., and Stocker, P. (2007). <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-006-0361-6>Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 224:801–809.
- Doan, N. T. Q., Paulsen, E. S., Sehgal, P., Møller, J. V., Nissen, P., Denmeade, S. R., Isaacs, J. T., Dionne, C. A., and Christensen, S. B. (2015). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039128X14001792>Targeting thapsigargin towards tumors. *Steroids*, 97:2–7.
- Dobson, P., Jarvie, H., and King, S. (2019). Nanoparticle. *Encyclopedia Britannica*, 14.
- Durán, N., Nakazato, G., and Seabra, A. B. (2016). Antimicrobial activity of biogenic silver

- nanoparticles, and silver chloride nanoparticles : an overview and comments. *Applied microbiology and biotechnology*, 100:6555–6570.
- Firoozi, S., Jamzad, M., and Yari, M. (2016). Biologically synthesized silver nanoparticles by aqueous extract of *Satureja intermedia* and the evaluation of total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6:357–364.
- Galatage, S. T., Hebalkar, A. S., Dhobale, S. V., Mali, O. R., Kumbhar, P. S., Nikade, S. V., and Killedar, S. G. (2021). Silver nanoparticles : properties, synthesis, characterization, applications and future trends. *Silver Micro-Nanoparticles Prop. Synth. Charact. Appl.*
- Goia, D. V. and Matijević, E. (1998). Preparation of monodispersed metal particles. *New Journal of Chemistry*, 22(11):1203–1215.
- Grasso, G., Zane, D., and Dragone, R. (2019). Microbial nanotechnology : challenges and prospects for green biocatalytic synthesis of nanoscale materials for sensoristic and biomedical applications. *Nanomaterials*, 10(1):11.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kwon, D.-N., and Kim, J.-H. (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against gram-negative and gram-positive bacteria. *Nanoscale research letters*, 9:1–17.
- Hong, X., Wen, J., Xiong, X., and Hu, Y. (2016). Shape effect on the antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized via a microwave-assisted method. *Environmental science and pollution research*, 23:4489–4497.
- Horváth, G., Bencsik, T., Ács, K., and Kocsis, B. (2016). Sensitivity of esbl-producing gram-negative bacteria to essential oils, plant extracts, and their isolated compounds. *Antibiotic resistance*, 1:239–269.
- Hwang, A. Y. and Gums, J. G. (2016). The emergence and evolution of antimicrobial resistance : Impact on a global scale. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 24(24):6440–6445.
- Iravani, S., Thota, S., and Crans, D. (2017). *Methods for preparation of metal nanoparticles*, volume 63. Wiley : Weinheim, Germany.
- Joshi, K., Ghosh, S., and Dhepe, A. (2019). Green synthesis of antimicrobial nanosilver using in-vitro cultured *Dioscorea bulbifera*. *Asian J Org Med Chem*, 4(4):222–227.

- Kalwar, K. and Shan, D. (2018). Antimicrobial effect of silver nanoparticles (agnps) and their mechanism—a mini review. *Micro & Nano Letters*, 13(3):277–280.
- Khalil, M. M., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z., and Mohamed, D. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6):1131–1139.
- Khanal, L. N., Sharma, K. R., Paudyal, H., Parajuli, K., Dahal, B., Ganga, G., Pokharel, Y. R., and Kalauni, S. K. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles from root extracts of *Rubus ellipticus* sm. and comparison of antioxidant and antibacterial activity. *Journal of Nanomaterials*, 2022:1–11.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C.-Y., et al. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine : Nanotechnology, biology and medicine*, 3(1):95–101.
- Li, L., Li, L., Zhou, X., Yu, Y., Li, Z., Zuo, D., and Wu, Y. (2019). Silver nanoparticles induce protective autophagy via  $Ca^{2+}/Camk\beta/AMPK/mTOR$  pathway in SH-SY5Y cells and rat brains. *Nanotoxicology*, 13(3):369–391.
- Li, W., Calle, L., Hanford, A., Stambaugh, I., and Callahan, M. (2018). Investigation of silver biocide as a disinfection technology for spacecraft—an early literature review. 48th International Conference on Environmental Systems.
- Liao, C., Li, Y., and Tjong, S. C. (2019). Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 20(2):449.
- Liu, H., Jensen, K. G., Tran, L. M., Chen, M., Zhai, L., Olsen, C. E., Søhoel, H., Denmeade, S. R., Isaacs, J. T., and Christensen, S. B. (2006). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942206006376> Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica*. *Phytochemistry*, 67(24):2651–2658.
- Łukowski, A., Jagiełło, R., Robakowski, P., Adamczyk, D., and Karolewski, P. (2022). Adaptation of a simple method to determine the total terpenoid content in needles of coniferous trees. *Plant Science*, 314:111090.
- Mabry, T., Markham, K. R., and Thomas, M. B. (2012). *The systematic identification of flavonoids*. Springer Science & Business Media.

- Majumder, D. D., Banerjee, R., Ulrichs, C., Mewis, I., and Goswami, A. (2007). Nanomaterials : Science of bottom-up and top-down. *IETE technical review*, 24(1):9–25.
- Menichetti, A., Mavridi-Printezi, A., Mordini, D., and Montalti, M. (2023). Effect of size, shape and surface functionalization on the antibacterial activity of silver nanoparticles. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(5):244.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., and Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10):2346.
- Nebeg, H., Benarous, K., Serseg, T., Lazreg, A., Hasani, H., and Yousfi, M. (2019). <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/emiddt/2019/00000019/00000005/art00013>Seeds, leaves and roots of *Thapsia garganica* as a source of new potent lipases inhibitors : in vitro and in silico studies. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 19(5):683–696.
- Oyedemi, S. and Afolayan, A. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous leaves extract of *leonotis leonurus* (l.) r. br. *International Journal of Pharmacology*, 7(2):248–256.
- Öztürk, H., Kolak, U., and Meric, C. (2011). Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *jurinea consanguinea* dc. *Records of Natural Products*, 5(1):43.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., and Bansal, Y. (2015). Secondary metabolites of plants and their role : Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3):293–304.
- Pal, S., Tak, Y. K., and Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? a study of the gram-negative bacterium *escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6):1712–1720.
- Pirtarighat, S., Ghannadnia, M., and Baghshahi, S. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 9:1–9.
- Politano, A. D., Campbell, K. T., Rosenberger, L. H., and Sawyer, R. G. (2013). Use of silver in the prevention and treatment of infections : silver review. *Surgical infections*, 14(1):8–20.

- Price, M. L., Van Scoyoc, S., and Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(5):1214–1218.
- Rai, M. K., Deshmukh, S., Ingle, A., and Gade, A. (2012). Silver nanoparticles : the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of applied microbiology*, 112(5):841–852.
- Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Gopalakrishnan, K., Sivagurunathan, P., Saratale, G. D., Dung, T. N. B., and Kannapiran, E. (2017). Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnology reports*, 14:1–7.
- Schofield, D. and Braganza, J. (1996). Shortcomings of an automated assay for total antioxidant status in biological fluids. *Clinical Chemistry*, 42(10):1712–1714.
- Seil, J. T. and Webster, T. J. (2012). Antimicrobial applications of nanotechnology : methods and literature. *International journal of nanomedicine*, pages 2767–2781.
- Shaban, M. S., Müller, C., Mayr-Buro, C., Weiser, H., Meier-Soelch, J., Albert, B. V., Weber, A., Linne, U., Hain, T., Babayev, I., et al. (2021). <https://www.nature.com/articles/s41467-021-25551-1>Multi-level inhibition of coronavirus replication by chemical ER stress. *Nature communications*, 12(1):5536.
- Shahcheraghi, N., Golchin, H., Sadri, Z., Tabari, Y., Borhanifar, F., and Makani, S. (2022). Nano-biotechnology, an applicable approach for sustainable future. *3 Biotech*, 12(3):65.
- Sidhoum Djaffer, A., Yasmina, H., Malia, T., Karima, S., and Fatiha, B. (2012). Study of the antibacterial activity of acetone extracts of *thapsia garganica* l. growing wild in algeria. In *Microbes In Applied Research : Current Advances and Challenges*, pages 575–577. World Scientific.
- Sikkema, J., de Bont, J. A., and Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological reviews*, 59(2):201–222.
- Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P. M., Shivalkar, S., Sahoo, A. K., and Samanta, S. K. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections : A review. *Biotechnology Reports*, 25:e00427.

- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3):144–158.
- Smitt, U. W., Jäger, A. K., Adsersen, A., and Gudiksen, L. (1995). <https://academic.oup.com/botlinnean/article-abstract/117/4/281/2596107>Comparative studies in phytochemistry and fruit anatomy of *Thapsia garganica* and *T. transtagana*, Apiaceae (Umbelliferae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 117(4):281–292.
- Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., and Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine : nanotechnology, biology and medicine*, 6(2):257–262.
- Tolochko, N. (2009). History of nanotechnology. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*.
- Umadevi, M., Shalini, S., and Bindhu, M. (2012). Synthesis of silver nanoparticle using d. carota extract. *Advances in Natural Sciences : Nanoscience and Nanotechnology*, 3(2):025008.
- Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., and Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (iupac recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2):377–410.
- Von, L. C. (1753). <https://www.biodiversitylibrary.org/item/84235page/1/mode/1upSpeciesplantarum> : *exhibentes plantas rite cognitatas ad genera relatas, cum diferentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas*. NCSU Libraries.
- Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., and Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles : Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26:102336.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4):555–559.

# **Annexe**

# I | Matériel utilisé

## 1 Appareillage

Appareil	Marque
Bain à ultra-sons	BRASONIC-UI Trasonic cleaner, Mexique
Bain-Marie	Memmert, Allemagne
Balance analytique	RADWG, Pologne
Centrifugeuse	DIGICEN 21R, Spain
Etuve	MMM Medcenter Ecocell, Allemagne
Réfrigérateur	ENIEM, Algérie
Spectrophotometre UV-Vis	SHIMADZU CO, Japon

## 2 Produits chimiques

1. Eau distillée.
2. Éthanol %96.
3. Réactif de Folin.
4. Carbonates de sodium.
5. Chlorure d'aluminium.
6. Vanilline.
7. Acide trichloracétique.
8. Réactif diphényl 1-1-hydrazyle (DPPH).
9. Acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS).
10. Méthanol.
11. NaOH.
12. Nitrates d'argent.
13. Eau saline 0.9%.

### 3 Logiciels utilisés

1. L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X.
2. Peak spectroscopy software.
3. Excel.

## 4 Préparation des réactifs

### 4.1 Réactif de Folin

Pour préparer une solution de réactif de folin à 10%, on ajoute un volume  $V = 50$  mL d'eau distillée à un volume  $V = 5$  mL de folin.

Pour préparer une solution de carbonate de sodium 7.5%, on ajoute un volume  $V = 50$  mL d'eau distillée à une masse  $m = 3.75$  g de carbonate de sodium.

### 4.2 Chlorure d'aluminium

Pour préparer une solution de  $\text{AlCl}_3$  de 2%, on mélange 1 g de chlorure d'aluminium dans 50 mL d'eau distillée.

### 4.3 Vanilline

Pour préparer une solution de vanilline 4%, on ajoute un volume  $V = 30$  mL de méthanol à une masse  $m = 1.2$  g de vanilline.

### 4.4 DPPH

Préparer une solution de concentration  $C = 0.1$  mM de DPPH. > Dissoudre une masse  $m = 1.97$  mg de DPPH dans un volume  $V = 50$  mL de méthanol.

### 4.5 Nitrates d'argent

Pour préparer une solution de nitrates d'argent de concentration 1 mM, 0.16 g de nitrates d'argent ont été rajoutés à 1 L d'eau distillée.

## **5 Composition des milieux de cultures**

### **5.1 Gélose Muller Hinton**

Infusion de viande bovine (2g)

Hydrolysate acide de caséine (17,0g)

Amidon soluble (1,5g)

Agar (17g)

pH = 7,4 ± 0,2 à 25°C

### **5.2 Bouillon nutritif**

Peptone de Gélatine (5,0 g)

Extrait de betterave (3,0g)

pH = 6,8 ± 0.2 à 25°C

## II | Courbes d'étalonnage

### 1 Acide gallique : TPC

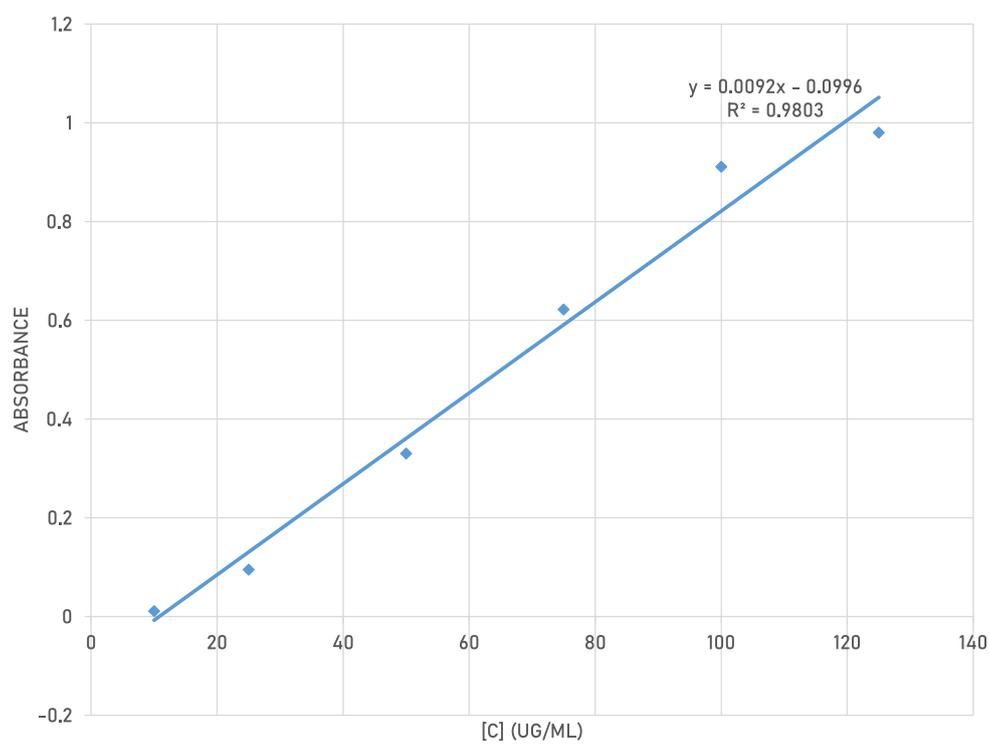
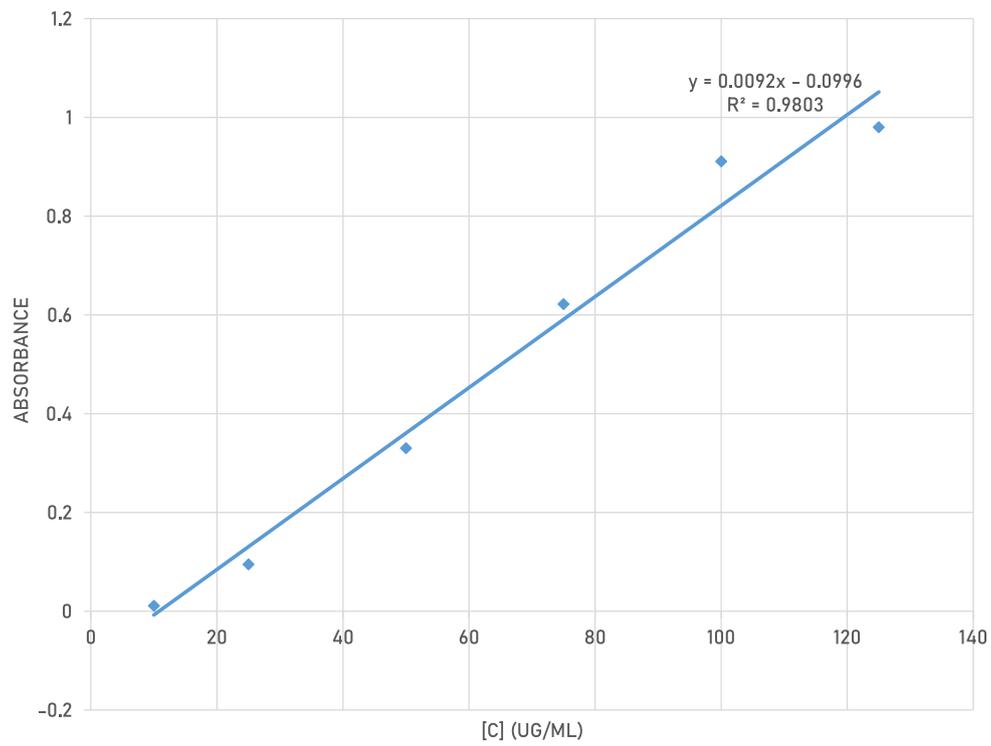


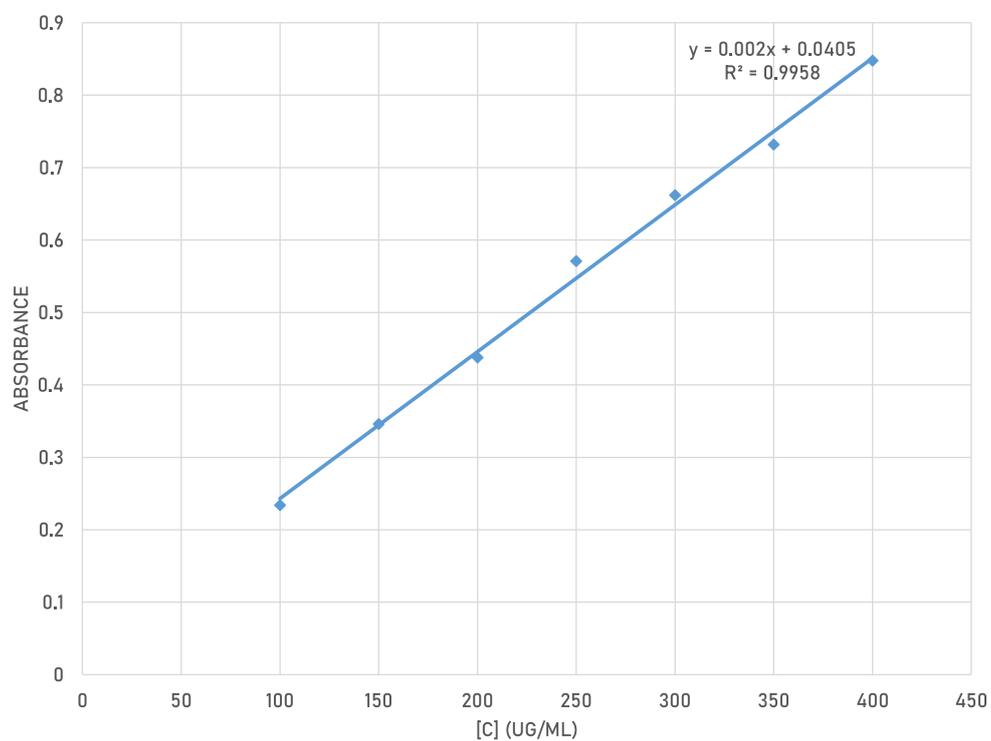
Figure 21 – Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

## 2 Quercetine : Flavonoides



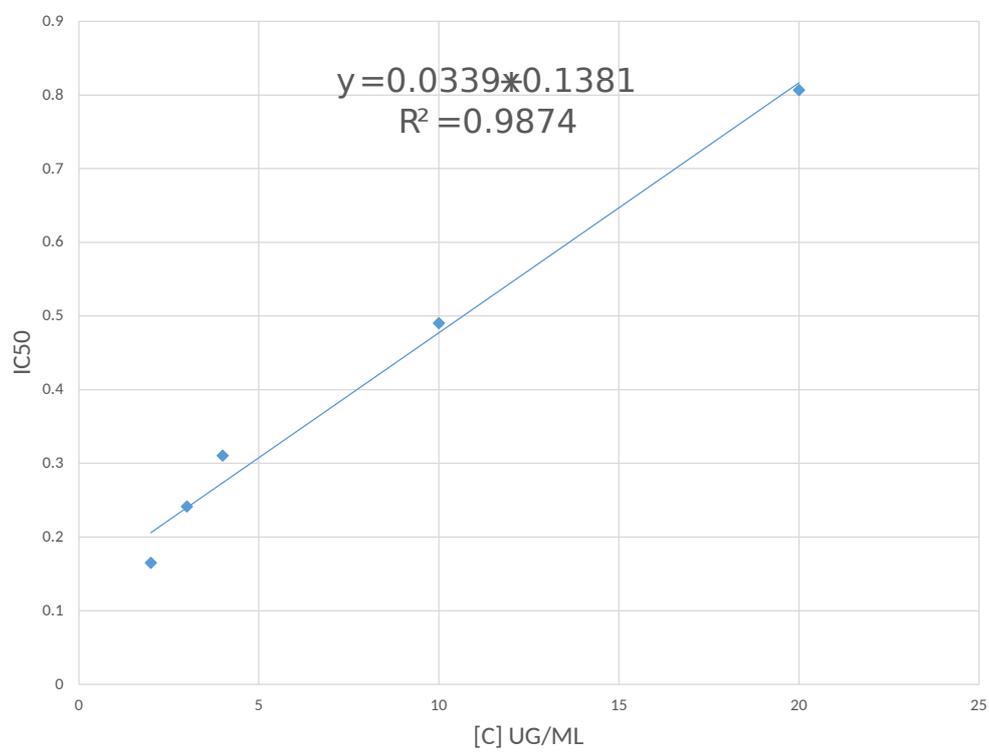
**Figure 22** – Courbe d'étalonnage de la Quercetine

### 3 Catechine : Tanins condensés



**Figure 23** – Courbe d'étalonnage de la Catechine

## 4 Acide ascorbique : DPPH



**Figure 24** – Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

---

## Résumé

---

La synthèse verte de nanoparticules métalliques comme l'argent émerge comme un axe de recherche prometteur pour une production rapide, écologique et peu coûteuse de molécules à grand potentiel pour lutter contre les résistances aux antibiotiques. Les analyses phytochimiques et la capacité antioxydante des extraits de *Thapsia garganica* ont d'abord été étudiées. Les extraits de feuilles et racines ont respectivement présenté une teneur totale en phénols de  $5.22 \pm 1.8$ ,  $3.02 \pm 0.7$  mg AGE/g DW, une concentration en flavonoïdes de  $5.297 \pm 0.26$ ,  $3.28 \pm 0.2$  mg QE/g DW et de tanins de  $0.182 \pm 0.0033$ ,  $0.187 \pm 0.0037$  mg CE/g DW. Les extraits de feuilles ont montré une activité de piégeage relativement forte avec une valeur IC50 de  $66,71 \pm 0.37$  ug/mL en contraste celle des racines étant supérieure à 1mg/mL. Ensuite, la synthèse de nanoparticules d'argent a été réalisée pour la première fois en utilisant des extraits de *Thapsia garganica* avec une solution d'AgNO<sub>3</sub> (1mM) à une température de 40-45 °C. Le virage coloré du vert clair et du brun pâle vers une teinte rougeâtre et orange, accompagné de pics d'absorption (400-500), a indiqué la formation de nanoparticules. L'activité antimicrobienne des nanoparticules synthétisées a été déterminée à l'aide d'un test de diffusion sur disque contre 6 souches bactériennes et a montré une activité extrêmement faible. Les résultats ont prouvé que la plante étudiée pourrait effectivement constituer un potentiel pour la synthèse verte de nanoparticules d'argent. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer leur potentiel en tant qu'agents anti-microbiens.

---

**Mots-clés :** Nanoparticules, Nitrates d'argent, *Thapsia garganica*, synthèse verte, anti-microbien

---

## Abstract

---

Green synthesis of metallic nanoparticles such as silver is emerging as a promising line of research for the rapid, ecological and inexpensive production of molecules with great potential for combating antibiotic resistance. Phytochemical analyses and the antioxidant capacity of *Thapsia garganica* extracts were studied firstly. The leaf and root extracts had a total phenol content of  $5.22 \pm 1.8$ ,  $3.02 \pm 0.7$  mg AGE/g DW, a flavonoid concentration of  $5.297 \pm 0.26$ ,  $3.28 \pm 0.2$  mg QE/g DW and tannins of  $0.182 \pm 0.0033$ ,  $0.187 \pm 0.0037$  mg CE/g DW. The extracts showed relatively high scavenging activity with an IC50 value of  $66.71 \pm 0.37$  ug/mL in contrast to the roots with a value surpassing 1mg/mL. Subsequently, the synthesis of silver nanoparticles was carried out for the first time using extracts of *Thapsia garganica* with a solution of AgNO<sub>3</sub> (1mM) at a temperature of 40-45°C. The colour change from light green and pale brown to reddish and orange, accompanied by absorption peaks (400-500), indicated the formation of nanoparticles. The antimicrobial activity of the synthesised nanoparticles was determined using a disk diffusion test against 6 bacterial strains and showed extremely low activity. The results proved that the plant studied could indeed be a potential candidate for the green synthesis of silver nanoparticles. However, further research is needed to determine their potential as anti-microbial agents.

---

**Mots-clés :** Nanoparticles, Silver nitrates, *Thapsia garganica*, green synthesis, antimicrobial