RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ DE
MÉDÉA FACULTÉ DES SCIENCES

MÉMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II

Département : Science de la nature et de la vie
Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie et Microbiologie appliquée

Évaluation des activités biologiques et phytochimiques, et étude comparative des effets synergiques des extraits des plantes et des nanoparticules d'argent synthétisés en vue des formulations pharmaceutique.

Présenté par :

BABAALI YASMINE ***HARZELI SARAH*** ***KHALFAOUI INSAF***

Devant les jurys

Mr. OTMANINE Khaled	**MAA**	**Université de Chlef**	**Examinateur**
Dr. AINAS Mahfoud	**MCB**	**Université de Médéa**	**président**
M.m HOUCEINI Amina	**MCB**	**Université de Médéa**	**promotrice**
M.m CHAOUATI Karima	**MAA**	**Université de Médéa**	**Co-promotrice**
Mr Zouambia Fouad	**Ingénieur Gpp**	**Saidal Médea**	**invité**

Année universitaire: 2021/2022



Remerciment

Avanttout, on remercieAllah d'avoirnousdonnéla volonté afin d'arriver à lafinalité.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à colonelle ***Ahmed Ghai*** *et le responsable de* ***l'institut national de criminalistique et de criminologie de la gendarmerie*** *et notre promotrice* ***Hoceini amina****pourson exigence et ses encouragements, à travers le partager son expérience et ses connaissances scientifiques, durant la réalisation de ce mémoire. Et notre copromotrice* ***Chaaouati karima****pour son exigence et ses encouragement, et* ***Monsieur khaled Outmanine****pour sesprécieux conseil et son aide durant toute la période du travail. Pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon part,nous adressons aussi nos vifs et sincères remerciements aux membres de jury qui nous fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail jury de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail :****Aines Mahfoude*** *et* ***Chami Bouaaza.***

Nous tenons à exprimer nos respectueuses gratitudes et nos reconnaissances àMr ***Zouambia fouad****chef service du laboratoire physiquo- chimique de groupe saidal et Mr* ***Benderga khaled*** *chef service du laboratoire microbiologique de groupe saidal .*

Enfin, nous remercions à tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin, qu'ils trouvent ici toute notre sympathie et notre profonde gratitude.

Dédicace

A mon Père, mon idole dans la vie. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pourmon éducation.

A ma Mère, pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien dans les moments les plus difficiles de ma vie.
*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous,**MES CHERS PARENTS** Que dieu vous accorde la santé et la longue vie.*
À mes très chers frères, pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.
Merci d'avoir toujours été présent quand je vous avais besoin.

À tous le membre de ma famille, merci pour votre présencevous retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.

À mes chers fahima et lamia et sihem et a mes amis sarah et insaf, pour les beaux moments qu'on a passés ensemble.

A mes amis adorées Nihel et manel et hanane , pour son encouragement, sa disponibilité et son écoute.

Yasmine

,



Dédicace

A mon Père, mon idole dans la vie. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pourmon éducation.

A ma Mère, pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien dans les moments les plus difficiles de ma vie.
*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous,**MES CHERS PARENTS** Que dieu vous accorde la santé et la longue vie.*
À mes très chers frères, pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.
Merci d'avoir toujours été présent quand je vous avais besoin.

À tous le membre de ma famille, merci pour votre présence vous retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.

À mes chers fahima et lamia et sihem et a mes amis yasmine et insaf, pour les beaux moments qu'on a passés ensemble.

A mes amis adorées Nihel et manel et hanane , pour son encouragement, sa disponibilité et son écoute.

Sarah



Résumé

Le but de cette étude est de déterminer et d'évaluer l'activité antimicrobienne et antifongique des extraits provenant de six plantes médicinales à savoir l'écorce de grenade de l'espèce *punicagranatum, pistacialentiscus, cistusmensipliensis, cistusincanus, taxusbaccata et arbutusunedo* ainsi que des nanoparticules d'argent synthétisées par les plantes. L'extraction se fait par macération. Les extraits ont été préparés, par le solvant éthanol et l'extrait aqueux. Le pouvoir antimicrobien des extraits des six plantes et leurs associations entre eux et avec les nanoparticules ont été évalués, in vitro, vis-à-vis de neuf souches microbiennes, par la méthode de diffusion des disques. Une analyse physicochimique CPG-MS et une caractérisation des nanoparticules d'argent ont été faites à l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Bouchaoui, Alger. L'étude est portée sur un screening de ces plantes pour leur activité antioxydant évaluée in vitro par le test : l'action anti-radicalaire contre le radical DPPH, l'activité anti-inflammatoire, la toxicité de notre extrait et les AgNPs et les produits finis faits au niveau de SAIDAL Médéa (laboratoire physicochimie et pharmacotoxicologie). Enfin, à partir des extraits éthanoliques obtenus, trois produits ont été formulés (un gel buvable et que deux pommades). Le gel buvable est considéré comme un complément alimentaire d'origine végétative a plusieurs fins thérapeutiques: antimicrobien, anti-infection pulmonaire et anti bronchite. Les deux pommades ont été formulées pour les infections cutanées, et anticicatrisantes. Tous les produits formulés dans cette étude ont été testés sur les lapins et ont montré des résultats prometteurs. Les extraits des plantes et AgNPs ont montré une forte activité antimicrobienne contre quelques microorganismes testés. La meilleure activité inhibitrice était contre Staphylococcus epidermidis ATCC 12228, contre Staphylococcus aureus ATCC 6538 et contre Pseudomonas aeruginosa ATCC9027. L'utilisation de l'extrait éthanolique dans l'analyse par CPG-MS a indiqué plusieurs composants dans les extraits. Les valeurs d'IC50 obtenues par le test de DPPH en comparaison avec l'IC 50 de l'acide ascorbique qui donne 0,06 mg/ml. De très bons résultats ont été obtenus vis-à-vis les activités anti-inflammatoires et anticicatrisantes, la toxicité et test de tolérance cutanée.

Mots clés :*punicagranatum, pistacialentiscus, cistusmensipliensis, cistusincanus , taxusbaccata, arbutusunedo*, AgNPs, antimicrobien, CGMS, antioxydant, anti-inflammatoire, toxicité aigüe, anticicatrisante, tolérance cutanée, gel buvable, pommades.

Absract

The aim of thisstudyis to determine and evaluate the antimicrobial and antifungalactivity of extractsfrom six medicinal plants, namelypomegranatebark of the speciespunicagranatum, pistacialentiscus, cistusmensipliensis, cistusincanus, taxusbaccata and arbutusunedo as well as silvernanoparticlessynthesized by the plants. The extraction isdone by maceration. The extractswereprepared by ethanolsolvent and aqueousextract. The antimicrobial power of the extracts of the six plants and their associations witheachother and with the nanoparticleswereevaluated, in vitro, againstninemicrobialstrains, by the disc diffusion method GC-MS physicochemicalanalysis and characterization of silvernanoparticleswereperformedat the National Institute of Criminalistics and Criminology of the Gendarmerie Bouchaoui,Alger. The studyisfocused on a screening of these plants for theirantioxidantactivityevaluated in vitro by the test: the anti-radical action against the DPPH radical, As well as the anti-inflammatoryactivity, the toxicity of ourextract and AgNPs and the finishedproducts made at SAIDAL Médéa (physicochemistry and pharmacotoxicologylaboratory). Finally, from the ethanolicextractsobtained, threeproductswereformulated (one drinkable gel and twoointments). The drinkable gel isconsidered a foodsupplement of vegetativeoriginwithseveraltherapeuticpurposes: antimicrobial, anti-pulmonary infection and anti-bronchitis. The twoointmentswereformulated as anti-infection skin, anticoagulant and anticicatrising. All the productsformulated in thisstudyweretested on rabbits and showedpromisingresults. The plant extracts and AgNPsshowedstrongantimicrobialactivityagainstsometestedmicroorganisms. The best inhibitoryactivitywasagainst Staphylococcus epidermidis ATCC 12228, against Staphylococcus aureus ATCC 6538 and against Pseudomonas aeruginosa ATCC9027. The use of the ethanolicextract in the GC-MS analysisindicatedseveral components in the extracts. The IC50 values obtained by the DPPH test in comparisonwith the IC50 of ascorbicacidwhichgives 0.06 mg/ml. Very good resultswereobtainedregarding anti-inflammatory and anticicatrisingactivities, toxicity and skin tolerance test.

Key words:*punicagranatum, pistacialentiscus, cistusmensipliensis, cistusincanus , taxusbaccata, arbutusunedo*, AgNPs, antimicrobial, MS, antioxidant, anti-inflammatory, acute toxicity, anticicatrisant, skin tolerance, drinkable gel, ointments.

تلخيص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد وتقييم النشاط المضاد للميكروبات والفطريات لمستخلصات من النباتات الطبية من الأنواعو *cistusincanustaxusbaccata* و *arbutusunedopunicagranatum* و *pistacialentiscus* و *cistusmensipliensis* والجسيمات النانوية الفضية المركبة بواسطة النباتات. يتم الاستخراج بطريقة النقع. تم تحضير المستخلصات *taxus* و *anus* بمذيب الايثانول والمستخلص المائي. تم تقييم القوة المضادة للميكروبات للمستخلصات النباتية الستة وارتباطها ببعضها البعض ومع الجسيمات النانوية، في المختبر، مقابل 9 سلالات ميكروبية، عن طريق طريقة الانتشار القرصي. ثم في على مستوى المعهد الوطني للإجرام وعلم الجريمة التابع للدرك GC-MS دراستنا قمنا بإجراء التحليل الفيزيائي الكيميائي بوشاوي بالجزائر العاصمة وتوصيف جسيمات الفضة النانوية، وقد تم تقييم هذه الدراسة وفحص هذه النباتات لنشاطها بالإضافة إلى النشاط المضاد DPPH. المضاد للأكسدة. في المختبر عن طريق الاختبار: عمل مضاد للجذور ضد جذور والمنتجات النهائية المصنوعة على مستوى صيدالمدية (الكيمياء الفيزيائية AgNPsللالتهابات وسمية مستخلصنا و المخبرية والسموم الدوائية). أخيرًا من مستخلصاتنا الإيثانولية ، قمنا بصياغة هلام صالح للشرب يعتبر مكملًا غذائيًا من أصل نباتي وله عدة أغراض علاجية: مضاد للميكروبات ، ومضاد للعدوى الرئوية ، ومضاد لالتهاب الشعب الهوائية ، وقد قمنا بصياغة مرهمين للعدوى الجلدية ومضاد للتخثر ومضاد للنمو ، مع العلم أن لدينا اختبرت منتجاتنا على الأرانب. نشاطًا قويًا مضادًا للميكروبات ضد أي كائن دقيق تم اختباره ، وكان أفضل نشاط AgNPsأظهرت المستخلصات النباتية و *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 و *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228مثبط ضد الذي أشار إلى GC-MS ، عند استخدام المستخلص الإيثانولي في تحليل *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027 IC50 مقارنة مع DPPH التي تم الحصول عليها باختبار IC50 المستخلصات قيم .GC-MS عدة مكونات في تحليل لحمض الاسكوربيك الذي أعطى 0.06 مجم / مل. أظهرت الأنشطة المضادة للالتهابات والمضادة للشفاء واختبار السمية .وتحمل الجلد نتائج جيدة جدًا

أخيرًا بعد إنتاج الجل والمراهم الصالحة للشرب التي تم اختبارها على الأرانب حصلنا على نتائج رائعة

الكلمات الرئيسية: *Punicagranatum*،*pistacialentiscus* ،*cistusmensipliensis* ، *cistusincanustaxusbaccata* ،*arbutusunedo*،AgNPs ، مضادات الميكروبات ، CGMS، مضادات الأكسدة ، المضادة للالتهابات ، السمية الحادة ، المضادة للشفاء ، تحمل الجلد ، هلام صالح للشرب ، المراهم

Listes des figures

N°	Titre	page
Figure 1	Structure du phénol **(Macheix et al., 2006)**	**2**
Figure 2	Structures chimiques des acides phénoliques (**Manach et *al*., 2004**)	**3**
Figure 3	Structure de base des flavonoïdes **(Erdman et al., 2007).**	**4**
Figure 4	**(a)** structure chimique des tanins hydrolysables. **(b)** tanins condensées.	**5**
Figure 5	Aspect général degrenadier ***(punicagranatum)***	**6**
Figure 6	plante etclassification de *punica granatum*	**7**
Figure 7	**(A)** Schéma détaillant de la structure de la grenade. **(B)** écorce de grenade	**8**
Figure 8	Aspect général des plantes du genre cistus.	**9**
Figure 9	plante et classification de *Cistusmensipliensis L* (Fleur blanche) et*Cistusincanus*L (fleur mauve)	**10**
Figure 10	Aspect général d'Arbutus*unedo L (*originale ,2022)	**14**
Figure 11	la plante et la classification d*'Arbutusunedo L* **(original, 2022)**	**14**
Figure 12	Aspect général de *pistacialentiscus L* **(originale, 2022)**	**16**
Figure 13	plante et classification de *pistacialentiscus L***(originale 2022)**	**16**
Figure 14	Aspect morphologique de la plante *pistacialentiscus L*	**17**

Figure 15	Aspect général de la plante *Taxusbaccata L*	**19**
Figure 16	classification de plante *TaxusbaccataL***(M. W. Chase ,1993 ; E. Anderson and J. N. Owens ,2003)**	**20**
Figure 17	morphologique de la plante *Taxusbaccata L*	**21**
Figure 18	structure chimiquedes majeurs composés de *Taxusbaccata*	**21**
Figure 19	Le nano-monde	**29**
Figure 20	Nanomatériaux manufacturés, selon la norme ISO TS 80004 1&2.	**30**
Figure 21	Schéma récapitulatif des différents types des nanomatériaux **(Guerricha Maroua et selmaneSassia, 2018)**	**31**
Figure 22	représentation schématique des deux grandes approches de synthèse des nanomatériaux **(Madhumitha, G., &Roopan, S. M.,2013)**	**34**
Figure 23	mécanisme de synthèse des AgNPs à partir de sources végétales	**37**
Figure 24	les caractérisations des nanoparticules	**38**
Figure 25	Mécanismes bactéricides des AgNPs due à leur contact direct avec la cellule bactérienne et de la libération d'ions argent **(Chengzhu*et al.*,2019).**	**41**
Figure 26	Souris Albinos, la race NMRI **(Original, 2022)**	**44**
Figure 27	Lapin albinos de New Zealand**(Original, 2022)**	**45**
Figure 28	présentation de quelques plantes utiliser :(1) écorce *punicagranatum*, (2) *Arbutusunedo*, (3) *pistacialentiscus*,(4) *cistusincanus*.	**47**
Figure 29	Broyage de grenade *punicagarantum*séché **(originale 2022)**	**48**
Figure 30	Les étapes de l'extraction : (A) prise de poids, (B) macération, (C) filtration, (D) le filtrat	**50**
Figure 31	Rotavaporation par « évaporateur rotatif » (**original 2022**).	**50**
Figure 32	les étapes de la formation des nanoparticules	**52**
Figure 33	spectrophotomètre UV-Visible (**original 2022**).	**54**

Figure 34	Fisher-Lilly «Antibiotic Zone Reader » **(Original 2022).**	**57**
Figure 35	Schéma représentatif de l'aromatogramme **(Wikipédia).**	**58**
Figure 36	Schéma de réduction du DPPH en présence d'un antioxydant	**59**
Figure 37	Solution éthanolique du DPPH (originale 2022).	**60**
Figure 38	les dilutions de test DPPH	**60**
Figure 39	pH-mètre pour mesurer le **pH** des pommades/ **B)** ph de gel buvablefapulen**(Original2022)**.	**64**
Figure 40	viscosimètre pour mesurer la viscosité du gel buvable **Original 2022**.	**65**
Figure 41	A) Principe de gavage des souris,(B) Injection sub-plantaire de la carragénine**(Original 2022).**	**66**
Figure 42	Mesure de l'épaisseur de la patte à l'aide d'un pied à coulisse digital **(Original 2022).**	**66**
Figure 43	principe de gavage du gel buvable des lapins **(Original 2022).**	**67**
Figure 44	Technique de scarification, rasage et application le produit sur les lapins.	**69**
Figure 45	Technique de scarification, rasage et application de pommade sur lapin.	**70**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les caractéristiques générales de l'espèce *P.granatum* **..** Erreur ! Signet non défini.

Tableau 2 : flavonoïdes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus**.....** Erreur ! Signet non défini.

Tableau 3 : Acides phénoliques trouvés dans les feuilles d'espèce cistusErreur ! Signet non défini.

Tableau 4 : tanins trouvés dans les feuilles d'espèce cistus**.....** Erreur ! Signet non défini.

Tableau 5 : monoterpènes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus**..** Erreur ! Signet non défini.

Tableau 6 : diterpènes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus……...14

Tableau 7 : Utilisation traditionnelle de différentes parties de lentisque.Erreur ! Signet non défini.

Tableau 8 : Activités biologiques de la plante *Pistacia lentiscus L……..……*...*27*

Tableau 9 : produits utilisés dans la partie expérimentale …….……...……46

Tableau 11 : Les produits utilisés dans la formulation de Pucilen……....64

Tableau 12 : Les produits utilisés dans la formulation de Fapulen ……. 65

Tableau 13 : Les produits utilisés dans la formulation de Cis-Nano silver……..65

Tableau 14 : Evaluation de l'œdème……... 71

Tableau 15 : Erythème et formation d'escarres……....71

Tableau 16 : résultats des rendements des différentes plantes……72

Tableau 17 **:** diamètres des zones d'inhibition des feuilles de lentisque en (mm)……..97

Tableau 18 **:** diamètres des zones d'inhibition des fruits de lentisque en (mm)…….91

Tableau 19 **:** diamètres des zones d'inhibition d'écorce de grenade en (mm)…….100

Tableau 20 : diamètres des zones d'inhibition des feuilles d'arbousier en (mm)……...102

Tableau 21 **:** diamètres des zones d'inhibition des aiguilles du *T.baccata* en (mm)……..104

Tableau 22 **:** diamètres des zones d'inhibition des feuilles de *C.mensipeliensis* en (mm)....106

Tableau 23 **:** diamètres des zones d'inhibition des feuilles de *C.incanus* en (mm)……107

Tableau 24 **:** diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux et des AgNPs synthétisé par *cistus incanus* et *pistacia lentisque*……..109

Tableau 25 : les compositions en extraits des mélanges testés……..…….111

Tableau 26 : diamètres des zones d'inhibition des mélanges des extraits en (mm)……..…..112

Tableau 27 **:** diamètres des zones d'inhibition des mélanges des extraits avec AgNPs.C en (mm).....115

Tableau 28 : Présente les valeurs de CMI de *cistus incanus*……..…..118

Tableau 29 : Présente les valeurs de CMI des feuilles *pistacia lentiscus*……..118

Tableau 30 : Présente les valeurs de CMI des fruits de *pistacia lentiscus*…….118

Tableau 31 : Présente les valeurs de CMI d*'arbutus unedo*……..119

Tableau 32 : Présente les valeurs de CMI de *cistus mensipliensis*……..119

Tableau 33 : Présente les valeurs de CMI de *punica granatum*……...119

Tableau 34 : l'IC50 de test DPPH pour nos extraits……..126

Tableau 36 **:** Lot Ⅰ: mise en évidence de l'effet des extraits pure de pommade pucilen (contient 25mg /ml de chaque extrait)…….128

Tableau 37 : Lot Ⅱ mis en évidence de l'effet phlogogène de la carraghénine (administré par solution physiologique)……..……..129

Tableau 38 : Lot Ⅲ: Témoin positive (effet du médicament de référence le Diclofénac®).129

Tableau 39 : Lot Ⅳ: mis en évidence de l'effet des extraits pure de pommade Cis-Nano silver (contient 0.25mg /ml AgNPs et 5mg/ml chaque extrait)……..…….129

Tableau 40 : Lot Ⅴ: mis en évidence de l'effet des extraits pure de gel buvable (contient 2.5mg/ml pour chaque extrait)…….130

Tableau 41 : Lot Ⅵ: mis en évidence de l'effet des AgNPs.C pure (contient 0.25mg/ml pour chaque extrait)……131

Tableau 42 : Les résultats de contrôle du la viscosité de formulation Fapulen……132

Tableau 43 : Les résultats de contrôle du PH des 3 formulations……..132

Liste des abréviations

Abs : Absorption

IC50 : Concentration Inhibitrice 50

D.O : Densité Optique

DPPH : radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl

e- : électron

R : rendement

ML : millilitre.

% : pourcentage

OMS : Organisation mondiale de la santé

CMI : concentration minimal inhibitrice.

ATCC : American Type Culture Collection.

G : gram.

Mg : milligramme **MH :** Muller Hinton **SB :** Sabouraud.

µL : micro litre.

µg : micro gramme.

Mm : millimètre.

UFC : unité formant colonie

DL50 : Dose Létale 50

PI : Pourcentage d'inhibition

CGMS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse

S.aureus : Staphylococcus aureus

S.épider : Staphylococcus epidermidis

S.thyphi : Salmonella typhimurium

B.subtilis : Bacillus subtilis

Pseudo : Pseudomonas aeruginosa

E.coli : Escherichia coli

C.albicans : Candida albicans

SS : Saccharomyces cerevisiae

Table des matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table de matières

Introduction……1

I.1 La phytothérapie : *3*

I.2 Les plantes médicinales : *3*

I.3 Les éléments actifs des plantes médicinales : *4*

I.3.1 Les polyphénols : *4*

I.3.1.1 Définition des polyphénols : *4*

I.3.1.2 La classification des polyphénols : *4*

I.3.1.3 Les composés volatils : *7*

I.4 L'écorce de grenadier punica granatum : *8*

I.4.1 Généralité sur la grenade : *8*

I.4.2 Origine et histoire de la grenade : *8*

I.4.3 Classification : *9*

I.4.4 La production de grenade dans le monde et en Algérie : *10*

I.4.5 Composition biochimique et valeur nutritionnelle de la peau de grenade *10*

I.4.6 Utilisation traditionnelle de punica granatum : *11*

I.5.1 Généralité : *11*

I.5.2 Classification : *12*

I.5.3 Composition chimique de cistus incanus et mensipliensis : *12*

I.5.4 Usage traditionnel : *15*

I.6 l'Arbousier (Arbutus unedo L.) : ..... ***Erreur ! Signet non défini.*** *5*

I.6.1 Généralité : ..... ***Erreur ! Signet non défini.*** *5*

I.6.2 Classification: ..... ***Erreur ! Signet non défini.*** *6*

I.6.3 Composition chimique d'Arbutus unedo : ..... ***Erreur ! Signet non défini.*** *6*

I.6.4 Utilisation traditionnelle d'Arbousier : ..... ***Erreur ! Signet non défini.*** *7*

I.7 Le pistachier lentisque (pistacia lentiscus L) : ***Erreur ! Signet non défini.***7
I.7.2 Classification : 18
I.7.3 La composition chimique : 19
I.7.4 Utilisation traditionnelle de pistacia lentiscus L : 20
I.8.1 Généralité : 21
I.8.2Classification 23
I.8.3 Description botanique 22
I.8.4 La composition biochimique 23
II.1 pharmacologie et toxicologie des écorces de grenade (punica granatum) : 24
II.1.1 Activité antioxydant : 24
II.1.2 Activité antimicrobienne : 24
II.1.3 Activité cicatrisante : 25
II.1.4 Toxicité des polyphénols de grenade (punica granatum) : 25
II.2 pharmacologie de C. mensipliensis L et C. incanus L : 26
II.2.1 Activité antimicrobienne : 26
II.2.2 Activité antivirale : 26
II.3 pharmacologie d'Arbutus unedo L : 28
II.3.1 Activité antioxydant : 29
II.3.2 Activité antibactérienne : 29
II.3.3 Activité antifongique : 29
II.3.4 Activité anti-inflammatoire : 28
II.4 pharmacologie de pistacia lentiscus (pistachier lentisque) : 29
II.5.1 Activité antimicrobienne : 29
II.5.2 activité anticancéreuse : 30
Ⅲ1 Nano-monde 31
Ⅲ2 Nanotechnologies 31
Ⅲ3 Nanomatériaux 32
Ⅲ4 Définition des nanoparticules 33
Ⅲ5 Origine des nanoparticules 34
Ⅲ6 Les nanoparticules d'argent 34
Ⅲ7 Propriétés des nanoparticules d'argent 35
Ⅲ8 méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent 35

III8.1 Synthèse verte des Nanoparticules d'argent ……..37

III8.2 Avantages des méthodes biologiques pour la préparation d'Ag NPs……..38

III9 Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent ……..38
III9.1 Nucléation ……..39
III9.2 La croissance ……..39
III9.3 Le murissement……..39
III10 Les caractérisations des nanoparticules d'argent…… 40

III10.1 La spectroscopie UV-Visible…….. 40

III10.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) ……41

III10.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'analyse chimique (EDS) ..41

III10.4 La diffraction des rayons X (DRX) ……41

III11 Activités biologiques des nanoparticules d'argent…… 41

III11.1 Activité antibactérienne ……41
III11.2 Activité antifongique…… 42
III11.3 Activité anti-inflammatoire ……44

Matériel et méthode.

IV.1 Matériel.....45

IV.1.1Matériel du laboratoire ……45

IV.1.2 Produits ……46

IV.1.3 Matériel végétal …… 46

IV.2 Animaux …… 46

IV.3 Méthodes ……47

IV.3.1. Période et lieu d'étude……47

IV.3.2 Objectifs d'étude ……48

IV.3.3 Récolte des plantes…….. 48

IV.3.4 Séchage …… ……49

IV.3.5 Broyage et conservation …… 49

IV.4 Procédés d'extraction……50

IV.4.1 Méthode d'extraction par macération……50

IV.4.1.1 Extraction par solvant ……..…..50

IV.5 Etude physico-chimique des extraits……..……52

IV.5.1 Méthode chromatographique et spectroscopique de séparation et d'identification……..……52

IV.5.1.1 Analyse de CG MS ……..……52

IV.5.1.2 Méthode CG-MS ……..53

IV.6 Montage et Protocol général de synthèse des nanoparticules d'argent……53

IV.6.1 Préparation des extraits aqueux des feuilles de cistus incanus et pistacia lentiscus..53

IV.6.2 Biosynthèse des nanoparticules d'argent…….. 54

IV.6.3 Caractérisation des nanoparticules d'argent ……..55

IV.6.3.1 spectroscopie UV-Visible ……..55

IV.6.3.2 Spectroscopie Infrarouge (FTIR)……56

IV.6.3.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'analyse chimique (EDX). ……..…56

IV.7.1 Activité antimicrobienne des extraits et des nanoparticules d'argent et leur effet synergique ……..……..57

IV.7.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).. ……59

IV.8 Détermination de l'activité antioxydants par le test au DPPH……..…..60

IV.9 Application à la formulation……..64

IV.9.1Formulation d'une pommade à base des extraits et AgNPs.C……64

IV.9.2 Formulation……..65

IV.9.2.1 Méthode de préparation de pommade……..66

IV.9.2.2 Méthode de préparation du gel buvable……..66

IV.9.2.3 Caractérisation du gel buvable et pommades…… ……..66

IV.10 Etude de l'effet anti-inflammatoire …… 67

IV.10.1 Test de l'oedème plantaire induit par carragénine…….. 67

IV.11 Etude de la toxicité aigue……..……68

IV.12 Test de tolérance cutanée……..……69
IV.13 Activité cicatrisante ……..……72

IV.14 Analyse statistique ……72

Résultats et discussion

Introduction

Introduction

Pendant des milliers d'années, les civilisations du monde entier ont utilisé des plantes médicinales pour traiter une variété de maladies. La plus ancienne preuve écrite de l'utilisation de plantes médicinales a été trouvée sur une plaque d'argile sumérienne, d'environ 5000 ans **(Petrovska, 2012)**.

De nos jours, les plantes médicinales traditionnelles continuent d'être la principale source de soins de santé dans de nombreux pays en développement et régions rurales. Les études ethnobotaniques se sont révélées très utiles pour identifier les plantes bioactives, et de plusieurs recherches ont été Menées sur les activités et la composition chimique des plantes ethnomédicinales **(Reverter et *al.*, 2017)**. Les plantes deviennent de plus en plus populaires dans la société moderne comme alternatives naturelles ou compléments aux produits chimiques de synthèse. Les produits naturels et leurs dérivés (y compris les antibiotiques) représentent plus de 50% de tous les médicaments à usage clinique dans le monde. Les plantes supérieures contribuent à pas moins de 25% au total (**Van Wyk et Wink, 2018)**.

De nos jours, dans de nombreux pays du monde, les plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention croissante **(Al-Tawaha et *al.*, 2014)**. En Algérie, de nombreux chercheurs ont étudier et explorer les constituants bioactifs de leur métabolisme secondaire, pour autoriser leur utilisation prolongée en médecine populaire **(Bouzouina et *al.*, 2016).**Avec plus de 3139 espèces **(Quézel et Santa, 1963)**, la flore algérienne est l'une des plus riches d'Afrique du Nord. Parallèlement à sa richesse en biodiversité, l'Algérie a une riche tradition médicale à base de plantes **(Miara et *al.*, 2018)**. Parmi cette végétation, on trouve un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément qui constituent une source de substances ayant des vertus thérapeutiques diverses, utilisées depuis l'Antiquité dans la pharmacopée traditionnelle et pour l'aromatisation des aliments.

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant
Depuis quelques années, nombreuses études sont menées sur la biosynthése des nanoparticules à base de micro-organismes producteurs de métabolites secondaires et des extraits de plantes dans le but d'augmenter la capacité antimicrobiennes des métabolites secondaires

En se basant sur tous ce qui a été mentionné, on est arrivé à tracer plusieurs objectifs de notre travail après avoir sélectionner six plantes médicinales, *punica granatum, pistacia lentiscus, cistus mensipliensis, cistus incanus, taxus baccata et arbutus unedo,* selon la pauvreté des travaux sur certaines plantes ainsi que les effets synergiques qui existent entre ces dernières.

Notre étude porte alors sur une étude comparative du pouvoir antimicrobien des extraits ethanoliques de l'écorce de grenade (*Punica granatum*), du lentisque (*Pistacia lentiscus*), de l'if (*Taxus baccata*), du Ciste de Montpellier (C*istus mensipeliensis*), de Ciste de crète (*Cistus creticus*) et de l'arbousier (*Arbutus unedo*) et celui des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisés à base des extraits aqueux du lentisque (*Pistacia lentiscus*) et du Ciste de crète (*Cistus creticus*)

Notre mémoire est composé alors de deux grandes parties:

La première partie propose une mise au point bibliographique consacrée à l'étude des plantes médicinales et ses activités biologiques y compris nos plantes.

La seconde partie expérimentale est divisée en :

- une partie qui décrit en détail le matériel végétal et le matériel de laboratoire utilisées ainsi que la démarche pratique adoptée pour la réalisation de ce travail à savoir :

- une étude comparative du pouvoir antimicrobien des extraits ethanoliques de l'écorce de grenade (*Punica granatum*), du lentisque (*Pistacia lentiscus*), de l'if (*Taxus baccata*), du Ciste de Montpellier (C*istus mensipeliensis*), de Ciste de crète (*Cistus creticus*) et de l'arbousier (*Arbutus unedo*) et celui des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisés à base des extraits aqueux du lentisque (*Pistacia lentiscus*) et du Ciste de crète (*Cistus creticus*)

- L'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de chaque plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.
- L'évaluation des effets synergiques entre les différents extraits et les nanoparticules synthétisés dans le but des formulations pharmaceutiques.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et anti cicatrisante, de la toxicité et du test de tolérance cutanée des formulations pharmaceutiques préparées.
- Etude phytochimique des extrais des plantes.

- Une deuxième partie consacrée aux résultats obtenus et leur discussion.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale et des perspectives.



Chapitre I : Généralité sur Les plantes Médicinales



I.1 La phytothérapie **:**

Étymologiquement, le terme phytothérapie vient de deux racines grecques anciennes "phyton" (plante) et "therapeuein" (cure, soigné). Elle pourrait donc être traduite par l'art de soigner à l'aide des plantes, ou encore la thérapie par le végétal **(Jorite., 2015).** Au sens large la phytothérapie est sans doute la plus vieille médecine du monde **(Iserin., 2001)**. Il s'agit d'une thérapie populaire disponible à tous, qui exploite exclusivement et sous diverses formes des plantes reconnues comme faiblement ou pas toxique. Grâce à une sélection rigoureuse et attentive opérée de ces plants à travers l'histoire, dans le traitement des maladies chroniques et les perturbations de tout genre en général, à l'exception des cas très aigus **(Rwangabo., 1993).** L'efficacité d'un traitement de phytothérapie repose avant tout sur le choix des plantes qui le composent qui est essentiellement la qualité des plantes. La qualité botanique de plante ; qui se caractérise par l'identification de l'espèce et de la partie active qui possède des propriétés thérapeutiques. Ensuite, la qualité chimique qui est déterminée par la pureté de la plante, la teneur en composants actifs et même la présence des résidus de produit phytosanitaire et les métaux lourds. Enfin, la qualité microbiologique des plantes afin de garantir leur innocuité **(Kudjued -Bunneton et Sauvain.,1989)**.

I.2 Les plantes médicinales :

Selon la définition formulée par le groupe consultatif de l'OMS, les plantes médicinales sont définies comme suit « ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles **» (Sofowora., 2010).** Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Chabrier., 2010).**

D'après le docteur Al-Snafi, près de 80% de la population mondiale utilise les plantes pour se soigner **(Al-Snafi., 2016)**. En effet le recours aux pratiques de soins traditionnels est très ancré dans les habitudes, pour deux raisons. Le premier est d'ordre curatif : les plantes contiennent des principes actifs qui exercent une action biologique directe sur l'organisme. Le second est d'ordre économique et infrastructurelle : principalement le coût élevé des prestations et des médicaments importés **(Adiko., 2014).**

I.3 Les éléments actifs des plantes médicinales :

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (Acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel.

I.3.1 Les polyphénols :

I.3.1.1 Définition des polyphénols :

Les polyphénols dénommés aussi composés phénoliques constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils se trouvent dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ils proviennent du métabolisme secondaire et englobent approximativement 10000 composés naturels identifiés **(Hynes et O'coinceanainn, 2001 ; TORREGGIANI *et al*., 2005)**. Les polyphénols, divisés en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun qui est la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique a 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside **(Kakhlon et Cabantchik,2002 ; Welch *et al*., 2002).**

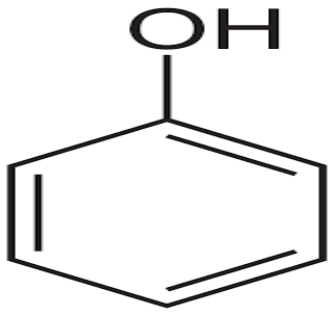


Figure 1 : Structure du phénol **(Macheix et al., 2006)**

I.3.1.2 La classification des polyphénols :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. Ils sont distingués en deux

catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes **(Clifford., 1999 ; D'archivio *et al*., 2007).**

A)- Les polyphénols simples :

Ce sont les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches. Sauf exception, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole **(Bendjabeur., 2012)**.

- ***Les acides phénoliques :*** Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales principalement dans la grenade qui contient de l'acide gallique et l'acide ellagique **(Psotova *et al*., 2003)**. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoique et de l'acide hydroxycinnamique (**Bruneton., 2008**).

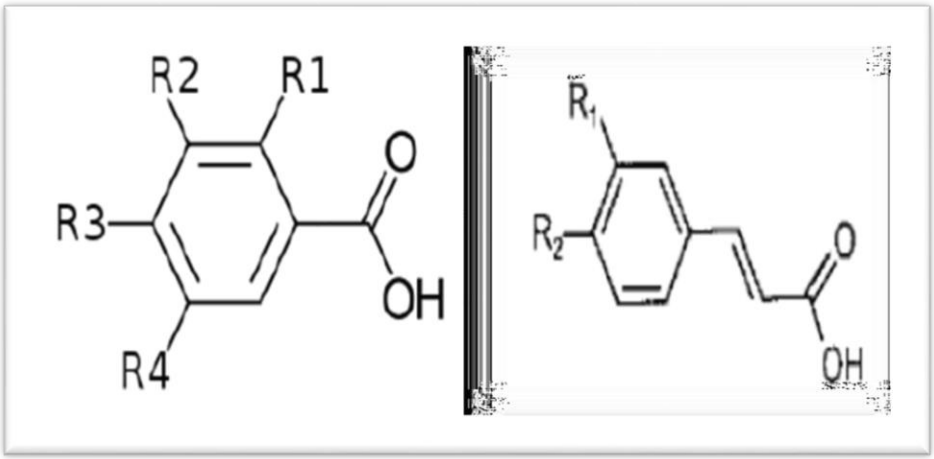


Figure 2 : Structures chimiques des acides phénoliques
(**Manach et *al*., 2004**)

- ***Les flavonoïdes :*** Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyranne, formant une structure C6-C3-C6 **(Ghedira., 2005)**. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Les flavonoïdes

sont des substances généralement colorées présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, Thé et vin...).Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides **(Hakkinen *et al*., 1999)**.

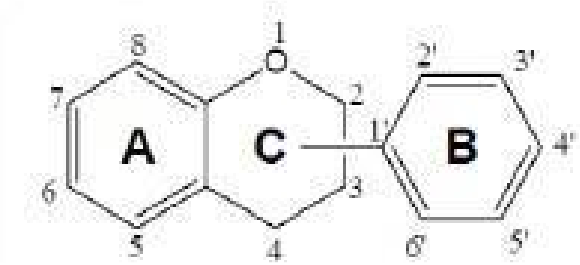


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes **(Erdman et al., 2007).**

B)- Polyphénols complexes (tanins) :

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols qui se trouvent dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, grenade, datte, café, cacao…) localisés dans les vacuoles. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation **(Aguilera-carbo., 2008)**.Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés :

- ***Tanins hydrolysables :*** Sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique et sont des substances facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) **(Cowan., 1999 ; O'connell et Fox., 2001)**.

- ***Tannins condensés :*** Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 **(O'connell et Fox., 2001)**. En raison de leur complication avec les

protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité.

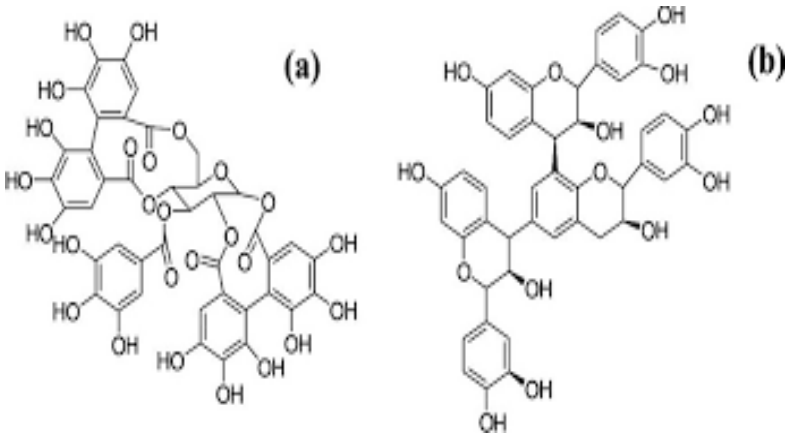


Figure 4 :(a) structure chimique des tanins hydrolysables.

(b) tanins condensées.

I.3.1.3 Les composés volatils :

Nommés parfois essence végétale (latin : essentia, « nature d'une chose ») (**Soualeh *et* Soulimani., 2016)**. Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par expression mécanique **(Guinoiseau., 2010),** Ou par hydrodistillation du végétal. Une fois la phase aqueuse éliminée par décantation du distillat, la phase organique supérieure contient essentiellement des substances volatiles terpéniques à 10 et 15 atomes de carbones, dites mono- et sesquiterpènes (**Nicolas *et* Elisabeth., 2013)**. La composition générale des huiles essentielles extraites de quelques plantes Cistaceae est un mélange de terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes labdaniques) et leurs dérivés esters **(Dimitra *et al*,. 2014).**

I.4 L'écorce de grenadier punica granatum :

I.4.1 Généralité sur la grenade :

Le grenadier est une espèce fruitière pérenne tolérante la sécheresse capable de valoriser les sols pauvres et salins. Il joue de grandes capacités d'adaptation aux conditions de milieu caractérisées par une aridité climatique marquée.

Sur le plan environnemental, le grenadier joue un rôle très important dans la protection, la restauration et la fixation des sols. Ses plantations ont connu une grande extension dans de différentes régions du monde et ont conduit à une augmentation de la production. Cette dernière a stimulé le développement des industries de transformation de jus de grenades et la prolifération des compagnies pharmaceutiques qui opèrent dans l'extraction des composes bénéfiques des fruits.

I.4.2 Origine et histoire de la grenade :

Depuis des milliers d'années, le grenadier, *Punica granatum*, ses fruits, ses graines, son écorce et ses fleurs sont utilisés, au Moyen-Orient et en Asie, régions dont cet arbuste est originaire, pour leurs propriétés médicinales.

Prescrit de façon empirique dans les médecines traditionnelles pour soigner les maladies gastro-intestinales et les infections cutanées, le grenadier fait son apparition dans la pharmacothérapie française en 1818 **(Wald., 2009).** La grenade (*Punica granatum L.*) est le membre principal de la famille des punicaceae, qui partage sa famille botanique uniquement avec *Punica protopunica* (grenadier de Socotra).Ce dernier est recensé exclusivement sur l'ile de Socotra, située dans l'océan Indien, au large des côtes de Somalie plus de 1000 cultivars de *p.granatum* existent. Ce fruit est originaire d'Iran et d'Afghanistan **(Spilmont., 2013).**



Figure 5 : Aspect général de grenadier *(punica granatum)*

I.4.3 Les Caractéristiques générales de l'espèce punica granatum :

Tableau 1 : Les caractéristiques générales de l'espèce *P.granatum*

Espèce	Variété	Caractéristiques générales
Punica granatum **(grenadier)**	- Corda travita - Moller d'Elche - Mellisse - Sulfani - Messaad - Chelfi - Baghwa	- C'est un arbuste souvent épineux de 2 à 4 m, à l'écorce brun rougeâtre devenant grise. - Les feuilles de 3 cm sont persistantes, opposées, plus coriaces que l'espèce *granatum*, vert foncé brillant - Les fleurs roses sont en forme de trompette. - Le petit fruit de 2 à 3 cm est acide et âpre.

I.4.4 Classification :

Une classification systématique de *P.granatum* **(spichiger,savolainen et al., 2004).**

- ✓ ***Embranchement :*** *Spermaphytes*
- ✓ ***Sous-Embrancheme:****Angioospermes*
- ✓ ***Classe :****Décotylédones vraies*
- ✓ ***Sous-Classe :****Rosidées*
- ✓ ***Ordre :*** *Myrtales*
- ✓ ***Famille :*** *Lythraceae*
- ✓ ***Genre :*** *Punica*
- ✓ ***Espèce :*** *Punica granatum*



Figure 6 : plante et classification de *punica granatum*

I.4.5 La production de grenade dans le monde et en Algérie :

Dans le monde, les plus importants producteurs de grenades sont les pays d'Orient dont l'Iran (production annuelle de 665 000 tonnes [2003]), la Turquie, la Transcaucasie et l'Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne dont la Tunisie, le Maroc, l'Espagne, l'Italie et la Grèce.

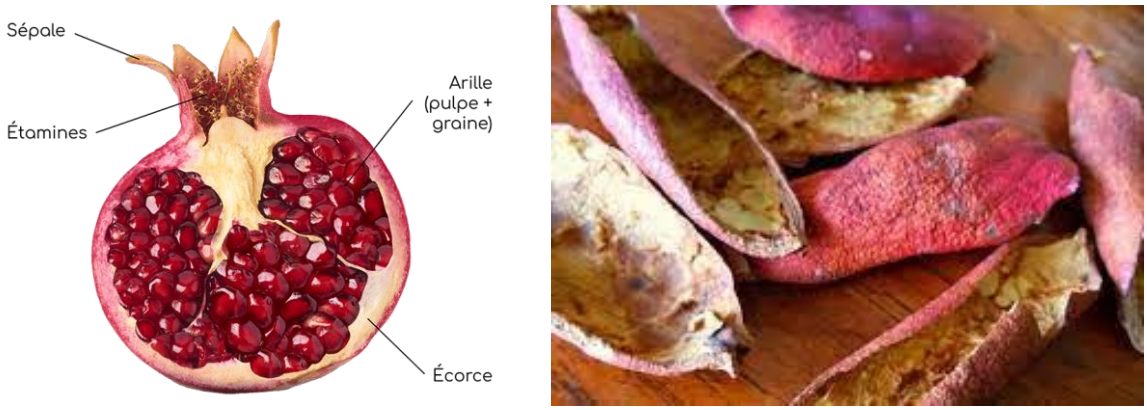
Aux Etats-Unis, la culture de la grenade est également très développée et plus particulièrement en Californie **(Newman., 2007).**

En Algérie, l'arboriculture fruitière est très diversifiée. Elle est constituée de plusieurs espèces comme le grenadier. Bien que le grenadier soit peu exigeant, les plantations de ce fruit en Algérie ne sont pas très importantes, il existe 14 variétés homologuées de grenadier. Parmi elles, seulement 4 variétés sont réellement utilisées **(INRAA .,2006)**.

I.4.6 Composition biochimique et valeur nutritionnelle de la peau de grenade

La peau de la grenade est composée d'eau (80%), de polysaccharides complexes (8%),dont des polysaccharides solubles (5%), représentés par des pectines et de l'hemicellulose ,Elle contient aussi des minéraux, dont le potassium, calcium, magnésium, phosphore et sodium (**Jahfar *et al*., 2003 ; Viuda-Martos*et al*., 2010**).

Sa particularité réside en sa richesse en polyphénols (entre 3 et 7%). C'est cette classe de molécules de la peau qui est la mieux décrite. Celle-ci est majoritairement composée d'ellagitannins (75 a 90% des polyphénols), notamment la punicalagine et la punicaline, mais elle contient également d'autres tannins hydrolysables tels que les acides ellagique et gallagique, des anthocyanines (les mêmes que pour le jus), des flavan-3-ols et flavonoïdes (catechine, epicatechine, luteoline, kaempferol, quercetine, rutine), des acides hydroxycinnamiques (les mêmes que pour le jus) et des proanthocyanidines (**Ozcal et Dinc, 1993 ; Lansky et Newman 2007; DEll'agli *et al.*, 2010**)



(A) **(B)**

Figure 7 : (A) Schéma détaillant de la structure de la grenade.
(B) écorce de grenade.

I.4.7 Utilisation traditionnelle de punica granatum :

La grenade a été longtemps approuvée comme aliment et médicament et comme régime dans la convalescence après diarrhée. La partie officinale, l'écorce du fruit est astringente, digestive, cardiotonique, agent stomachique et elle est fortement efficace dans la diarrhée et la dysenterie chronique, la dyspepsie, la colite (inflammation de l'intestin), les hémorroïdes et les désordres utérins **(Sivarajan et Balachandran, 1994).**

I.5 Cistus mensipliensis L .et Cistus incanus L :

I.5.1 Généralité :

Le genre *Cistus* fait partie de la famille de Cistaceae, sont en général des arbustes, sous-arbrisseaux et plus rarement des plantes herbacées. Elles peuvent être vivaces ou annuelles et sont caractéristiques des milieux secs et ensoleillés.

Le genre Cistus comporte plusieurs espèces sous forme d'arbustes éternels. Ces arbustes sauvages se développent dans les bords marocains et méditerranéens **(Guzmán *et* Vergas., 2009)** avec 11 espèces de Cistus en Algérie: *C. ladaniferus L., C. sericeus, C.salvifolius L., C. Libanotis L., C. Polymorphus, C. villosus L., C. incanus , C. corsicus, C.crispus L., C.albidus L., C. monspeliensis L*.**(Quezel et Santa, 1962).**




Figure 8 : Aspect général des plantes du genre cistus.

I.5.2 Classification :

Selon la classification de **(Laraoui., 2016).**

- ✓ **Règne :** Plantae
- ✓ **Sous-règne :** Tracheobionta
- ✓ **Division :** Magnoliophyta
- ✓ **Classe :** Magnoliopsida
- ✓ **Sous-classe :** Dilleniidae
- ✓ **Ordre :** Violales
- ✓ **Famille :** Cistaceae
- ✓ **Genre :** *Cistus*
- ✓ **Espèce :** *Cistus incanus* L (C.creticus); *Cistus monspeliensis* L





Figure 9 : plante et classification de *Cistus mensipliensis L* (Fleur blanche) et *Cistus incanus* L (fleur mauve)

I.5.3 Composition chimique de cistus incanus et mensipliensis :

La majorité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces du genre *Cistus* ont montré la richesse ainsi que la diversité structurale de ce genre en métabolites secondaires. (**Tableau 2, 3, 4, 5, 6).**

L'analyse d'un extrait aqueux lyophilisé de *C. monsipliensis* d'Italie par HPLC-DAD a montré la richesse de cette espèce en catéchine, gallocatéchine et en acide gallique **(Santagati et *al*., 2008)**. Ponponio et ses collaborateurs (2003) ont montré la présence de (+)-catechin et (-) gallocatechin dans l'extrait aqueux lyophilisé des parties aériennes de *C.monspeliensis* d'Italie par la méthode de Chromatographie électrocinétique en microémulsion. Les plantes Cistaceae sont constituées essentiellement de flavonols O-méthoxylés et/ou O-glycosylés, flavanols et flavones. Bienque des génines de type myricétine, apigénine, lutéoline, gossypétine, herbacétineetisorhamnétine ont été isolés à partir de feuilles et de résine de cretan de *Cistus creticus* (*C.incanus*), la présence de flavonoïdes dérivés du kaempférol et quercétine est particulièrement remarquable dans cette famille **(Dimitra., 2014).**

Tableau 2 : flavonoïdes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus

Les plantes	Flavonoïdes	Pays	Références
Cistus mensipliensis.L	Myricétine	Espagne	**Dimitra *et al*,2014**.
Cistus incanus L	-Epicatéchine-(4β→6)-Catéchine. -Epigallocatéchine-3-O-gallate-(4β→6)-gallocatéchine. -Epigallocatéchine-(4β→8)-catéchine. -Epigallocatéchine-(4β→8)gallocatéchine. -Epigallocatéchine-3-O-gallate-(4β→8)-gallocatéchine. -Gallocatéchine(4α→8)-Gallocatéchine-(4α→8)-Gallocatéchine	Allemagne	**Laraoui,. 2016**.

Tableau 3 : Acides phénoliques trouvés dans les feuilles d'espèce cistus

Les plantes	Acides phénoliques	Pays	Références
Cistus mensipliensis.L ***Cistus incanus L***	Acide gallique	Allemagne	**Peer., 2014**
Cistus incanus L	-Acide salicylique -Acide gentisique - Acide protochatéchuique -Acide vanillique -Acide caféique -Acide sinapinique - Acide néochlorogénique -Acide cryptochlorogénique - Acide chlorogénique	Espagne	**Dimitra *et al.*, 2014**

Tableau 4 : tanins trouvés dans les feuilles d'espèce cistus

Les plantes	Tanins	Pays	Références
Cistus mensipliensis.L ***Cistus incanus L***	Ellagitannine	Espagne	**Dimitra *et a*l., 2014.**
Cistus incanus L	-proanthocyanidines -Phlorotannins(1,3,5-trihydroxybenzène) 3 – gallotannin	Allemagne	**Peer., 2014**

Tableau 5 : monoterpènes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus

Les plantes	Monoterpènes	Pays	Références
Cistus mensipliensis.L	-α-pinène -myrcène -limonène -3-carène -α-pinène	Italie	**Noguès *et al.*, 2015**.

Tableau 6 : diterpènes trouvés dans les feuilles d'espèce cistus

Les plantes	Diterpènes	Pays	Références
Cistus mensipliensis.L	-15,18-diacétoxy-3-èn-cis-clérodane -15-acétoxy-3-èn-cis-clérodan-18-ol -Acide 15-acétoxy-cis-clerodan-3-èn18-oique -15-acétoxy-cis-clérodan-3-èn-18-al -15-hydroxy-cis-clérodan-3-èn-18-al	Grèce	**Kalpoutzakis *et al,* 2003 ; Laraoui., 2016**

I.5.4 Usage traditionnel :

Diverses espèces de Cistus sont utilisées (en Italie, Grèce, Espagne et Turquie) pour le traitement de la diarrhée et des ulcères gastro-duodénaux, comme des agents anti-inflammatoires et antispasmodiques, et comme recours généraux pour plusieurs maladies de la peau **(Attaguile *et al*., 2004)**, elles sont utilisées également pour leurs propriétés antidiabétiques **(Orhan et *al.*, 2013)**, antimicrobiennes, et cytotoxiques **(Jemia *et al.*, 2013).**

- ***Cistus creticus L (C. incanus)***: La décoction de ses feuilles agit contre les coliques **(Bellakhdar., 1998),** Au Maroc, la population utilise les graines et les feuilles de *Cistus Creticus* ou *Cistus incanus* contre les rhumes, le diabète, les flatulences, les maladies de l'estomac et les infections cutanées(**Saadi et *al.*,2013)**
- ***Cistus monspeliensis L*** : Les feuilles de *C. monspeliensis sont* utilisées en infusion pour le traitement des douleurs gastriques. Le décocté de la plante entière de *C. monspeliensis* L est utilisé, en cataplasme, pour traiter les blessures (infection cutané) **(Lahsissene *et al*., 2009).** A Marrakech, les graines de quelques espèces du genre *Cistus* sont apprêtées avec des épices, s'emploient comme aliment apéritif. Les graines pilées de la plupart des cistes sont consommées dans les campagnes marocaines, comme amuse-gueule. Dans la région de Taïneste, ses graines sont utilisées comme chapelure dans la préparation des gâteaux. Dans le nord du Maroc (douar Agan, région de Talambot), les fruits des cistes (âmerîl) servent à confectionner le harkûs (fard à tatouage).

I.6 l'Arbousier (Arbutus unedo L.) :

I.6.1 Généralité :

L'Arbousier appartient à la famille des Ericaceae, c'est une grande famille cosmopolite représentée par 124 genre et environ 4100 espèces **(Meberley., 1987; Stevens *et al*., 2004; In Lhuilier., 2007).** Le genre Arbutus comporte 14 espèces disséminées dans les régions tempérées et fraiches de l'hémisphère nord et en Amérique tropicale **(Dib., 2008)**. L'arbousier est appelé aussi « arbre à fraises », Selon **Babo (2007)**, Arbutus unedo voulait dire « je mange un seul », allusion au goût désagréable du fruit. Très présent dans la région méditerranée et particulier dans les maquis Corse.



Figure 10 : Aspect général d'Arbutus *unedo L* **(originale ,2022)**

I.6.2 Classification:

Selon **Guignard (2001) et Judd et ses colaborateurs (2002),** l'Arbousier est classé comme suit :



- ✓ ***Règne :*** Plantae
- ✓ ***Embranchement :*** *Spermatophytes*
- ✓ ***Sous-embranchement :*** *Angiospermes*
- ✓ ***Classe :*** *Dicotelédone*
- ✓ ***Sous-classe :*** *Astéridées*
- ✓ ***Ordre :*** *Ericales*
- ✓ ***Famille :*** *Ericacées*
- ✓ ***Genre :*** *Arbutus*
- ✓ ***Espèce :*** *Arbutus unedo*

Figure 11: la plante et la classification d*'Arbutus unedo L* **(original, 2022)**

I.6.3 Composition chimique d'Arbutus unedo :

Les feuilles d'Arbousier renferment des composés phénoliques parmi lesquels :

- ➢ Des phénols : environ 3 % d'arbutine, de la méthyl-arbutine, 0,1 % d'hydroquinone libre.
- ➢ Des acides phénoliques : acide gallique, gaulthérine.
- ➢ Des flavonoïdes : flavonols (arbutoflavonols A et B) Environ 37 % de tanins.
- ➢ Des terpénoïdes : triterpènes: saponines telles que l'acide ursolique, l'acide arbutolique (acide-alcool polyterpénique) ; caroténoïdes **(Anonyme., 2013)**, et la présence de la quercitrine, l'isoquercitrine, hypéroside, et de la rutin **(Mals *et al.*,2006).** Le fruit contient

du sucre renversé du saccharose et de l'acide malique **(Couplan., 2009)**, il contient une grande concentration de glucides, de 42% à 52% **(Ayaz *et al*., 2000 ;Didi, 2009).**

- La teneur en phénols totaux est estimée par **Alarcao-E-Silva *et al*. (2001)** à 14,6 mg/g de fruit sec, dont 1,01 mg/g sont des anthocyanines. Les tannins avec les autres composés phénoliques contribueraient au goût amer du fruit. Parmi les anthocyanines, la cyanidine a été identifié comme étant le principal contribuant à la couleur rouge caractéristique du fruit.

D'autres flavonoïdes ont été découverts comme l'anthocyanine delphinidine-galactoside et les flavonols tell que la quercetine et kaempferol **(Pallauf *et al.*, 2008 ;Didi, 2009)**

I.6.4 Utilisation traditionnelle d'Arbousier :

Les feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle, en décoction contre les affections des voies urinaire (cystite en particulier) et dans le traitement des infections rénales mineures **(Bouzid., 2015).** En effet, les molécules extraites des feuilles d'Arbousier présentent une large gamme d'activités biologiques à savoir : l'activité astringente, antiagrégant des plaquettes humaines en raison de ses richesses en tanins, antiseptique, anti-inflammatoire, antidiarrhétique, anti-hypertension et antidiabétique **(Miguel *et al.*, 2014).**

Le fruit est reconnu pour avoir des propriétés astringentes, diurétiques, antiseptiques et anti-inflammatoires **(Doukani *et al.*, 2014 ; Moualek *et al*., 2016)**. Au Maroc occidental, la plante est utilisée comme remède naturel pour l'hypertension et aussi contre le diabète **(Bnouham *et al*.,2007; El houari., 2007).**

I.7 Le pistachier lentisque (pistacia lentiscus L) :

I.7.1 Généralité :

Le genre *Pistacia* appartient à la famille des Anacardiacées ou Pistaciacées **(Delazar et al.,2004 ; Gaussen et al., 1982)**. Il comprend 11 espèces d'arbres et d'arbustes dioïques, dont la majorité sont connues pour leurs capacités à produire les oléorésines **(Onay et Jeffree., 2000; Brickell, 2004)**.

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* **(Quezel et Santa., 1963).**

Pistacia lentiscus L, pistachier lentisque, ou lentisque est appelé aussi arbre au mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée.

Le pistachier lentisque peut s'adapter à des conditions pédoclimatiques difficiles, comme la sécheresse ou un sol calcaire **(Correia et Catarino., 1994)** ; il a la capacité de régénérer après un incendie de forêt ou une déforestation **(Ladd et *al*., 2005)**



Figure 12 : Aspect général de *pistacia lentiscus L* **(originale, 2022)**

I.7.2 Classification :

La classification admise actuellement est celle de **Quezel et Santa (1963) et Dupont et Guignard (2007).**



- ✓ **Embranchement :** *Phanérogames ou Spermaphytes*
- ✓ **Sous embranchement :** *Angiospermes*
- ✓ **Classe :** *Eudicots*
- ✓ **Sous classe :** *Eurosidées II*
- ✓ **Ordre :** *Sapindales (Rutales)*
- ✓ **Famille :** *Anacardiacées- Térébinthacées*
- ✓ **Genre :** *Pistacia*
- ✓ **Espèce :** *Pistacia lentiscus L*

Figure 13 : plante et classification de *pistacia lentiscus L* **(originale 2022**)



Figure 14 : Aspect morphologique de la plante *pistacia lentiscus L*

I.7.3 La composition chimique :

Toutes les activités thérapeutiques sont liés aux composés phytochimiques bioactifs en particulier les phénoliques **(Boudieb *et al*., 2019).** Ces dernier représentent l'un des principaux groupes de composés agissants comme antioxydants primaires ou radicaux libres **(Belhachata *et al*., 2017)** . Cette plante révèle la présence de plusieurs composés principaux : myrcène (19-25%) ; a-pinène (16%),; terpinène-4-ol (22%) ; d-3- carène (65%) , myrcène, limonène, terpinène-4-ol , a-phellandrène, sabinène, para-cymène et gterpinène **(Benhammou et *al.*, 2008).**

- **Partie aérienne :** L'analyse phytochimique des extraits de *P.lentiscus* a révélé que les parties aériennes sont atteintes dans leur composition chimique comme l'huile essentielle, alcaloïdes, produits phénoliques, tanins et saponines **(Elgubbi *et al*., 2017).**
- **Fruits :** Les fruits de lentisques donnent une huile de bonne qualité nutritionnelle en raison de sa teneur en acides gras saturés (avec métique + gras = 25,8%). En acides gras insaturés (oléique + linoléique = 73%) (**Benhammou *et al*., 2008)** , en gras monoin saturés (oméga3, bétasitostérol, alpha-tocophérols) et les minéraux un pourcentage de sodium de 0,46%, calcium 0,37%, phosphore 0,004 % et une teneur en potassium la plus élevée 2,67% (Chaabani, E et al., 2019),les analyses ont également montré que les principaux composants des extraits de fruits de *P. lentiscus* étaient les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes et triterpène **(Belhachata *et al*., 2017)**, et Il contient une grande quantité d'antioxydants naturels, notamment des polyphénols, des stérols et des tocophérols **(Raluca *et al*., 2019).**

- **Les feuilles :** Des études précédentes ont montré que l'extrait éthanoïque de feuilles est une source riche de flavonoïdes, acides phénoliques et tanins avec une forte concentration de composés phénoliques **(Aziba *et al*., 2019)**. Elle est également riche de polyphénols composés (7/5% du poids sec des feuilles) en particulier le galloyl des dérivés comme l'acide mono, di et tri-O-galloylquinique et monogalloyl glucose. 1,2,3,4,6-Pentagalloyl glucose. Des dérivés de la myricétine ont été déterminés comme 20% de la quantité totale de polyphénols de feuilles de *P. lentiscus* (**Bozorgi *et al*., 2013)**. L'huile essentielle de feuilles contient de la β-caryophylline (31,38%), du germaerène (12,05%) et du γ-cadinène (6,48%). Et l'huile hydrodistillée a été analysée par GC-MS et contient de l'α-pinène, du γ-terpène et du terpène4-ol **(Elgubbi *et al*., 2017).**
- **l'huile essentielle :** *P. lentiscus* est une riche source d'huiles essentielles composant les acides gras tels que les acides oléique, palmitique et linoléique (représentant 50,72%, 23,16% et 21,75% de la fraction lipidique, respectivement) et les polyphénols et comprennent le glucuronide de myricétine, myricétine 3-O-rutinoside et myricétine 3-O-rhamnoside (20% du contenu phénolique total), quercétine 3-O-rhamnoside, delphinidine 3-O-glucoside, cyanidine 3-Oglucoside, acides phénoliques comme l'acide gallique (3,7 mg / g de poids sec) et le 5-Ogalloyl quinic acide (9,6 mg / g de poids sec) **(Dahmoune *et al*., 2014)**, et il est également contient une grande quantité de phytostérols, en particulier le b-sitostérol **(Meznia *et al*., 2016),** alpha-pinène dans l'huile essentielle a été récemment signalé, ainsi que les monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés sous forme de terpinène-4-ol (21,7%) ou élémol (20%) **(Nabila et *al*., 2008).**

I.7.4 Utilisation traditionnelle de pistacia lentiscus L :

L'utilisation des dérivés de *Pistacia lentiscus L* en médecine traditionnelle a fait l'objet de plusieurs travaux, toutes les parties de cette plante ont des vertus thérapeutiques, synthétisées dans le tableau7 suivant :

Tableau 7 : Utilisation traditionnelle de différentes parties de lentisque.

Fruits (Hmimsa.,2004) (Bensegueni et al., 2007)	**Feuille** (Atmani *et al.*, 2009) (Kivçak et Akay, 2005)
✓ Douleurs dorsales. ✓ Pour les diabétiques. ✓ Pour le traitement des douleurs d'estomac. ✓ Soigner les brûlures.	✓ Apéritif et astringent. ✓ Guérir les troubles. gastro-intestinaux. ✓ Traitement de l'eczéma. ✓ Traitement de la diarrhée.

I.8 Taxus baccata (l'if) :

I.8.1 Généralité :

Taxus baccata L, c'est un arbre qui se prête bien à la taille poussant lentement il appelé if, il est classé parmi les plantes toxiques, est une gymnosperme de la famille des taxacées (Taxaceae). Le genre *Taxus* compte une demi-douzaine d'espèces très proches les unes des autres, principalement réparties dans l'hémisphère nord **(Bourdu., 1997).**



Figure 15 : Aspect général de la plante *Taxus baccata L*

I.7.2 Classification :

- ✓ **Règne :** plantae
- ✓ **Sous-règne :** tracheobionta
- ✓ **Division :** pinophyta
- ✓ **Classe :** pinopsida
- ✓ **Ordre :** taxales
- ✓ **Famille :** taxaceae
- ✓ **Genre :** taxus
- ✓ **Espèce :** taxus baccata L.



Figure 16 : classification de la plante *Taxus baccata L*

(M. W. Chase ,1993 ; E. Anderson and J. N. Owens ,2003)

I.8.3 Description botanique :

L'if, c'est une espèce dioïque, dont les fleurs unisexuées mâles ou femelles sont portées par des arbres différents, ce qui est très rare chez les gymnospermes. Le fruit ressemble à une baie qui n'en est pas une. L'arille, qui se colore en rouge à l'automne, résulte du développement d'une excroissance en forme de cupule, qui est en fait l'expansion du funicule, tissu rattachant l'ovule au placenta. À l'intérieur de cette cupule, on trouve une graine d'environ six à sept millimètres. L'if est pollinisé par le vent, et ses principaux agents de dispersion sont les oiseaux, et particulièrement les grives (*Turdus sp.*). Ces dernières consomment l'arille et rejettent les graines, soit en les régurgitant, soit en les expulsant dans leurs déjections. Le feuillage de l'if est persistant. Les aiguilles, linéaires et aplaties, terminées par une courte pointe mais non piquantes, sont solitaires et insérées en spirale. L'arbre peut atteindre 20 à 30 m ; d'aspect très variable il est souvent à troncs multiples, mais devient plus arbustif lorsqu'il n'est pas en sous-bois **(Moret *et al*. 2000 ; Rameau *et al* ,1993 ; Thomé, 1885).**

L'if a une croissance très lente, il met 70 ans pour atteindre sa maturité sexuelle et peut vivre très longtemps. De ce fait, les arbres millénaires ne sont pas rares **(Bourdu, 1997),** l'on cite des exemplaires qui auraient plus de 2000 ans. Lorsque l'arbre a été abattu, la souche donne naissance à des rejets. (On a observé des anomalies de cette espèce : racines ou tiges fasciées, c'est-à-dire soudées en long ; feuilles fasciées) (**Thomé, 1885**).



Figure 17 : morphologique de la plante *Taxus baccata L*

I.8.4 La composition biochimique :

Toutes les parties de l'if sont composé de la taxine et les alcaloïdes, donc sont vénéneuses sauf de l'arille .Ce sont les aiguilles qui en contiennent le plus, et leur teneur augmente à mesure que la saison avance. Frais ou sec, le degré toxique se maintient au fil des ans et la taxine reste active après cuisson, séchage ou conservation de la plante. Elle se trouve également dans les graines. L'enveloppe de la graine résiste aux sucs digestifs de l'estomac et de l'intestin et la graine peut être éliminée sans dégager de taxine **(Favre et Jacomet, 1998).** L'if est composé des flavonoïdes : 3-O-Rutinoside myricetin 15.3% , 3-O-Rutinoside quercetin 41.2%, 3-O-Rutinoside kaempferol 11.4%, 7-O-Glucoside quercetin 14.4%, 7-O-Glucoside kaempferol 11.7%, Quercetin 0.7 %, Kaempferol 0.2% , *Flavonols 94.9 %* , Amentoflavone 1.5 % , Bilobetin 0.2 % , 4_-O-Methylamento- flavone 0.3% , 7-O-Methylamento-flavone 0.4% , Ginkgetin 0.4 % , Sciadopitysin 2.3 %, *Flavones 5.1%* **(Krauze-Baranowska *et al.*, 2004).**

Elle est composée de taxol A (paclitaxel), 3,5-DMOP ,10-DAB III, Baccatin III Cephalomannine, Taxinine M, Taxol A ce sont des molécules anticancéreuse (**Siegle et Pietsch., 2017).**

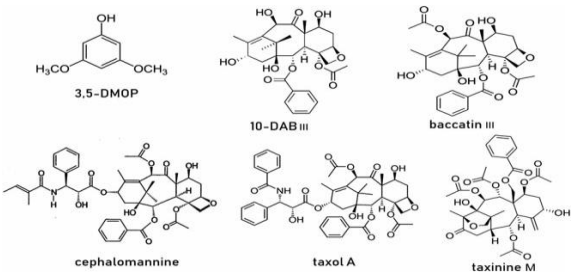


Figure 18 : structure chimique des majeurs composés de *Taxus baccata*



Chapitre II :

Pharmacologie Et Toxicologie



II.1 pharmacologie et toxicologie des écorces de grenade (punica granatum) :

La peau de grenade est riche en polyphénols comprenant les ellagitanins, les gallotanins, l'acides ellagique, l'acides gallagique, la catéchine, les anthocyanines, l'acide férulique, et la quercétine. Ces polyphénols montrent de diverses activités biologiques, telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation et de la croissance microbienne, et la diminution du risque des maladies cardio-et cérébrovasculaires et quelques cancers. Beaucoup de chercheurs ont prouvé que les préparations contenant l'extrait de la peau de grenade peuvent être utilisées pour empêcher et/ou traiter l'athérosclérose, la diarrhée, l'ulcère gastrique, la maladie vénérienne, et les maladies relatives à l'œstrogène **(Reddy *et al.*, 2007).**

II.1.1 Activité antioxydant :

Une étude séparée chez les rats avec des dommages au foie induits par le CCl4 a démontré que le prétraitement avec l'extrait de l'écorce de grenade (EEG) a amélioré ou maintenu l'activité de piégeage des radicaux libres des enzymes hépatiques : la catalase, la superoxyde dismutase, et la peroxydase, et a abouti à 54% de réduction des valeurs de la peroxydation lipidique par rapport aux témoins **(Chidambara *et al.*, 2002)**.

Autres études ont démontré que l'extrait de la peau de grenade diminue la peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques, cardiaques, et rénaux (**Parmar *et* Kar., 2008)** et a un effet facilitant sur les capacités de piégeage de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène. .

II.1.2 Activité antimicrobienne :

D'après **Machado *et al.* (2003),** les ellagitanins isolés dans la grenade ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* méthicilline-résistant et méthicilline-sensible, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 62.5 µg/ml. Les fractions de l'acide ellagique, de l'acide gallagique, des punicallines, et des punicalagines extraits à partir de la grenade ont révélé une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* et d'autres bactéries nocives **(Reddy *et al.*, 2007).**

Endo et ses collaborateurs (2010) ont suggéré que la punicalagine isolée des peaux de grenade possède une forte activité contre *candida albicans* et *candida parapsilosis* de même la combinaison du punicalagine et du fluconazole a montré une action synergique très efficace.

Les travaux menés par **Al-Zoreky (2009)** ont revélé que l'extrait méthanolique 80% des peaux de grenade était un inhibiteur efficace contre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica*.

II.1.3 Activité cicatrisante :

Comparée à un produit topique antibactérien du commerce, une préparation à base d'extrait de peau de grenade (44 % de composés phénoliques) à 5 % permet une bonne cicatrisation, nettement visible par examen histopathologique des blessures des rats Wistar utilisés. Au bout de dix jours, les rats traités au gel à l'extrait de peau de grenade sont guéris, alors que 16 à 18 jours sont nécessaires à la cicatrisation des rats témoins. Les analyses par HPLC montrent que les composants majoritaires de l'extrait sont la catéchine et l'acide gallique, molécules qui pourraient donc avoir un intérêt dermatologique **(Murphy *et al*., 2004).**

II.1.4 Toxicité des polyphénols de grenade (punica granatum) :

La toxicité des plantes médicinales peut être liée à des mélanges de composés actifs qu'elles contiennent tels que les terpènes, les alcaloïdes, les saponines, et d'autres substances chimiques, qui augmentent le risque de réactions indésirables par leurs effets additifs ou synergiques **(Saad *et al.*, 2006).**

Selon la durée, la fréquence et la quantité des produits toxiques auxquels un individu est exposé, on observe plusieurs types de toxicité **(Alain.,2002)**, classiquement, en présence d'une substance inconnue la première étape dans la recherche d'une activité pharmacologique débute par l'étude de la toxicité et en particulier par l'évaluation de la dose létale 50 (LD 50) **(Rollan.,1988).**

Il a été dit que la punicalagine, le tanin ellagique hydrosoluble et le polyphénol antioxydant très abondant dans le jus de grenade (>2 g/l) étaient toxiques pour le bétail. Une étude a donc été réalisée sur des rats Sprague-Dawley pour évaluer la toxicité potentielle de ce composé via un régime enrichi en punicalagine à hauteur de 6 %, administré sur une période de 37 jours. La quantité d'aliments ingérés, l'index d'utilisation alimentaire et le taux de croissance sont plus faibles chez les rats traités durant les 15 premiers jours sans effet adverse significatif. Cela pourrait être dû à la plus faible valeur nutritionnelle de la ration enrichie en punicalagine ainsi qu'à sa moindre appétence. Aucune différence significative n'a été observée lors des analyses du sang, sauf pour l'urée et les triglycérides qui sont restés à des valeurs faibles durant toute

l'expérience.L'analyse histopathologique du foie et des reins a confirmé l'absence de toxicité **(Cerda *et al.*,2003).**

II.2 pharmacologie de C. mensipliensis L et C. incanus L :

De nombreuses études ont ainsi exploré les propriétés pharmacologiques de la résine sécrétée par les feuilles de Cistus, ces propriétés comprennent les propriétés allergénique, anti agrégante, anti-leucémique, anti-oxydante, antibactérienne, anti-peroxydante, anti-proliférante, anti-radiculaire, antiseptique, antiulcéreuse, astringente, bactéricide, cardio-protectrice, cytotoxique, dermo-protectrice, diurétique, fongicide, gastroprotecteur, hémostatique, myorelaxant, nervine, sédatif, spasmolytique, stimulant **(Dimitra et *al.*, 2014).**

II.2.1 Activité antimicrobienne :

Des extraits de feuilles organiques et aqueux de *C. monspeliensis* , ainsi que de *C.creticus (incanus)*, poussant naturellement au Maroc et en Tunisie, présentaient des propriétés antimicrobienne et antifongique principalement actives contre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae* et *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que *Candida glabrata* **(Bouamama *et al.*, 2006).** Les extraits des fleurs de *C. monspeliensis* étaient actifs contre les espèces de bactéries à Gram positif du genre *Staphylococcus* et avaient des effets inhibiteurs de croissance significatifs sur l'épiderme de *Staphylococcus* **(Dimitra *et al.*, 2014).**

Les fruits, les feuilles et la résine de *Cistus creticus* ont été trouvés dépendants de l'espèce vis-à-vis des staphylocoques à Gram positif, inactifs vis-à-vis des bactéries à Gram négatif **(Anastasaki *et al.*, 1999).**

II.2.2 Activité antivirale :

L'extrait riche en polyphénols dérivé de *C. creticus* présente une puissante activité anti-influenza sans provoquer d'effets secondaires toxiques ni induire de résistance aux virus **(Ehrhardt *et al.*, 2007).** La première étude clinique a montré que l'extrait de *C. creticus* pouvait être utilisé pour le traitement des infections des voies respiratoires supérieures et inférieures **(Dimitra *et al.*, 2014).**

II.3 pharmacologie d'Arbutus unedo L :

Plusieurs études épidémiologiques ont montré les bienfaits d'*Arbutus unedo* sur la santé humaine. Ces derniers sont attribués aux biomolécules actives contenues dans la plante, comme les composés phénoliques **(Middleton *et al*., 2000).**

L'arbousier a un potentiel pharmacologique élevé en raison de ses propriétés antibiotique, antifongique, antiparasitaire, antiagrégante, antidiabétique, antihypertenseur, anti inflammatoire, antitumorale et antioxydante.

D'après **BRUNETON (1999)**, ils jouent un rôle d'inhibiteurs des enzymes impliquées dans plusieurs maladies et participent ainsi à la protection de la santé contre ces dernières.

II.3.1 Activité antioxydant :

Plusieurs méthodes ont été développées pour mesurer la capacité antioxydante d'un échantillon d'Arbousier. **Mendes *et al.* (2011)** ont évalué le pouvoir antioxydant des extraits aqueux de feuilles et de fruits d'*Arbutus unedo* L. en utilisant deux tests *in vitro*, à savoir le test du pouvoir réducteur et le test au DPPH (2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl). Ce dernier fournit une mesure de l'activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres. Les résultats obtenus ont montré que l'efficacité antioxydante des extraits aqueux d'arbousier était constamment plus élevée dans les feuilles avec des valeurs de 2,894 mg/ml et 0,770 mg/ml, obtenues respectivement par les tests du pouvoir réducteur et le test au DPPH.

II.3.2 Activité antibactérienne :

Plusieurs études *in vitro* ont démontré que les extraits aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo* L. sont dotés d'une activité antibactérienne. **Moualek.,2018** a évalué cette activité en suivant la méthode décrite par **Fallah *et al.* 2008**, où l'extrait de feuilles d'arbousier a été examiné par diffusion sur disque de gélose contre dix souches bactériennes, réparties en GRAM positif et en GRAM négatif. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux de feuilles d'arbousier présente une activité antibactérienne vis-à-vis de la majorité des bactéries testées.

Une étude similaire a été réalisée par **Malheiro *et al*. (2011)**, où ils ont testé l'effet des extraits aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* L. contre quatre bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphyloccocus aureus* et *Staphyloccocus epidermis*) et contre deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) à l'aide de la méthode de dilution des stries d'agar basée sur la diffusion radiale.

Cette dernière permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et aussi les diamètres de chaque zone d'inhibition étaient mesurés **(Hawkey *et* Lewis., 1994 ; Sousa *et al*., 2006)**. La CMI est définie comme étant la concentration la plus faible de l'échantillon capable d'inhiber la croissance des bactéries après 24h d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus ont montré une activité antimicrobienne contre toutes les bactéries testées. En effet, celles à Gram positif, notamment B. *cereus*, B. *subtilis* et S. *epidermis* étaient plus sensibles aux potentiels antimicrobiens de l'extrait de la plante avec une valeur CMI de 1 mg/ml. Tandis que, les bactéries à Gram négatif, plus particulièrement E. *coli* étaient plus résistantes avec une CMI de 5 mg/ml **(Hernandes *et al*., 2000 ; Oliveira *et al*., 2008).**

II.3.3 Activité antifongique :

Ferriera *et al.* (2012) ont évalué *in vitro* l'activité antifongique des extraits bruts d'Arbousier contre deux souches fongiques : *Candida albicans* et *Candida tropicalis*, en utilisant la méthode de diffusion discale. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait brut avait un effet antifongique contre *Candida tropicalis* mais aucun effet sur *Candida albicans*, qui a présenté une grande résistance.

De même **Orak *et al.* (2011)** ont testé l'effet antifongique des extraits aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo* L. contre deux espèces de moisissures productrices d'aflatoxines : *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 et *Aspergillus parasiticus* NRRL 465. Les résultats ont démontré que les effets inhibiteurs de l'extrait testé contre *A. parasiticus* NRRL 2999 étaient plus élevés que ceux contre *A. parasiticus* NRRL 465.Selon **Cowan (1999)**, les composées phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont connus pour être des substances exerçant un effet antifongique contre une large gamme de microorganismes.

II.3.4 Activité anti-inflammatoire :

L'effet anti-inflammatoire d'une solution aqueuse des feuilles d*'Arbutus unedo* L. a été mis en évidence par **Mariotto *et al.* 2008**. Cet effet semble être corrélé avec la réduction de la production d'interleukine (IL-6) et d'autres cytokines pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF-α), la diminution du recrutement des neutrophiles, de l'expression de l'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS), de l'activité de la protéine COX-2, et par conséquent, la diminution des lésions tissulaires. De plus, d'autres études ont démontré que les extraits de feuilles de l'arbousier sont capables de diminuer l'hyperagrégation plaquettaire,

considérée comme un facteur majeur dans la pathogenèse des maladies inflammatoires **(Mekhfi *et al*., 2006 ; El houari *et al*., 2007).**

Moualek *et al.* (2016) ont également évalué l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de feuilles d'arbousier en suivant le protocole d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine humaine. Les résultats obtenus ont montré que les extraits testés présentent une inhibition maximale de la dénaturation de l'albumine de 74,28% tandis que l'aspirine présente une inhibition de 92.32% qui est utilisé comme standard. La dénaturation des protéines est considérée comme une cause de l'inflammation. D'après cette étude, la protection de l'albumine de la dénaturation thermique confirme l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* L.

II.4 pharmacologie de pistacia lentiscus (pistachier lentisque) :

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les différentes parties (feuilles, fruits, partie aérienne) de cette plante ont de multiples activités biologiques à savoir : anti-oxydante, antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, etc, qui sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Activités biologiques de la plante *Pistacia lentiscus L*

Parties de la plante	Les effets	Référence
Feuilles	anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, astringent et hépatoprotecteur, antihypertenseur, antispasmodique, diurétique, insecticide et agent anti-stress	**Boudieb, K *et al*., 2019 Kıvçak, B *et al*., 2004**
Fruits	Antioxydant et antimutagène	**Bozorgi, M *et al*., 2013**

II.5 Pharmacologie de taxus baccata (l'if) :

II.5.1 Activité antimicrobienne :

D'après ***Bernaitis et al.* (*2013),*** *taxus baccata* a une activité antimicrobienne contre *Escherichia.coli , Enterobacter cloaecae , Enterococcus faecalis , Pseudomonas aeruginosa , Klebsiella pneumonia , SARM* , et une activité contre *Bacillus subtilis, Escherichia*

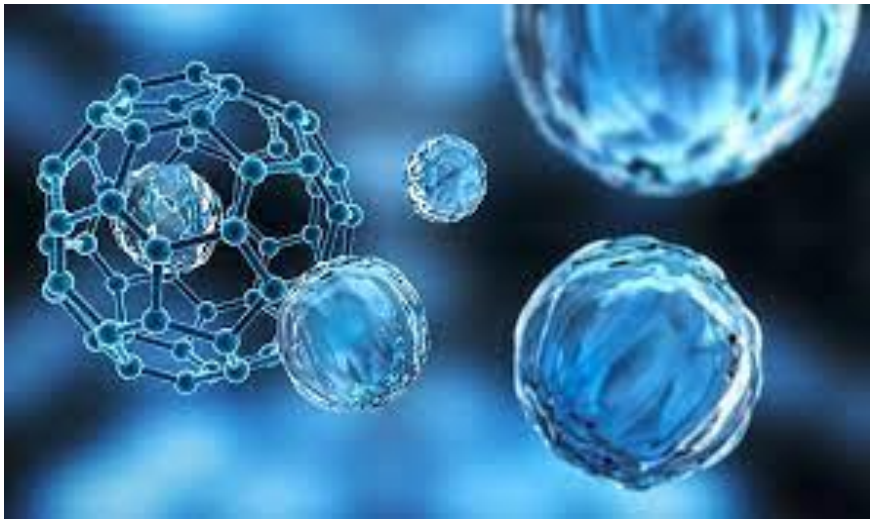
coli,Micrococcus luteus, Nocardia abcessus, Nocardia cyriacigeorgica, Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus, Streptomyces murinus selon **Elif Çil *et al*., 2017.**

II.5.2 activité anticancéreuse :

Taxol et la baccatine, des lignanes, des flavonoïdes, des stéroïdes, du paclitaxel et des dérivés de sucre de *Taxus baccata* ont été isolés. Pour le traitement de différents types de cancer comme le cancer de l'ovaire et du sein, le sarcome de Kaposi et le cancer du poumon, le paclitaxel (taxol) a été approuvé. Le paclitaxel fait également l'objet d'essais cliniques pour remédier à un certain nombre d'autres cancers en association avec d'autres médicaments chimiothérapeutiques. Le criblage pharmacognostique et phytochimique préliminaire de *T. baccata* sera utile pour authentifier et éviter la falsification de la matière première. Les caractères microscopiques diagnostiques, les données physicochimiques et FTIR seront utiles dans l'élaboration de la monographie **(Mohamed Asif *et al*., 2016).**



Chapitre III : Les nanoparticules d'argent : biosynthèse, utilisations et effets



Avant d'aborder les nanoparticules, on abordera en premier lieu les nanotechnologies et les nanomatériaux

III.1 Nano-monde :

L'unité de référence du monde des nanotechnologies est donc le nanomètre (nm). Le préfixe nano vient du grec *nannos* qui signifie nain. Un nanomètre est une unité de mesure qui équivaut à un milliardième de mètre (1 nm = 10-^{9} m = 0,000 000 001 m).

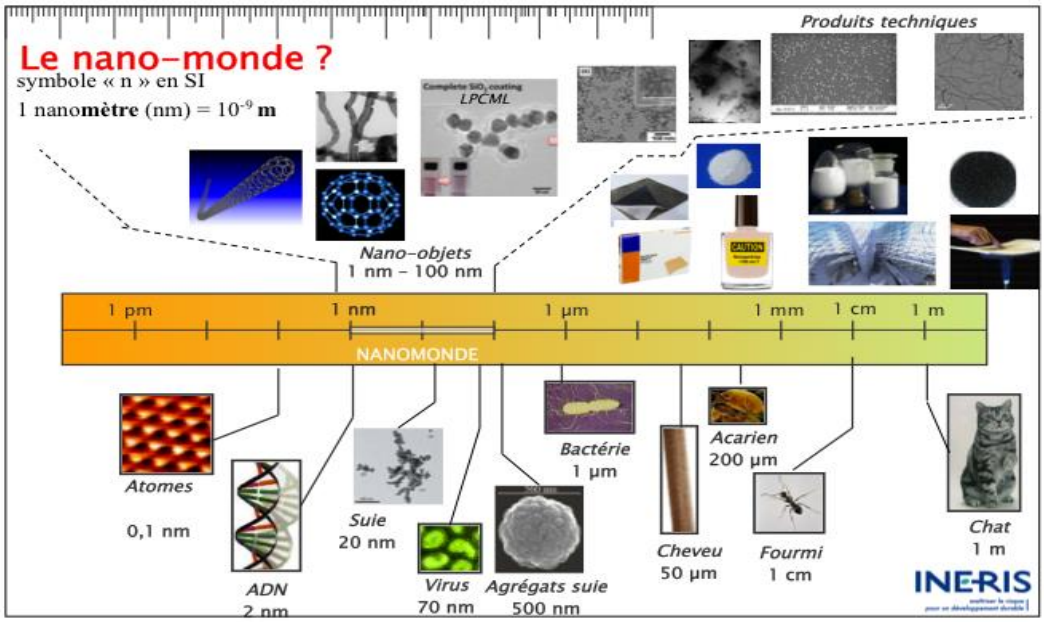


Figure 19 : Le nano-monde

III.2 Nanotechnologies :

« Nanotechnologie » est un terme générique qui décrit des applications dans de nombreux domaines scientifiques mais recouvre d'une manière générale la recherche sur les principes et propriétés existants à l'échelle nanométrique. L'objectif des nanotechnologies consiste à produire des objets ou matériaux inférieurs à 100 nanomètres. C'est-à-dire regroupent tout ce qui touche à la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, dispositifs et systèmes par contrôle de la forme et de la taille à l'échelle nanométrique. Les nanotechnologies relèvent de la recherche appliquée. Les applications concernées présentent un potentiel économique important dans de nombreux domaines tels que la médecine, la chimie, l'énergie, l'économie des ressources ou encore l'environnement **(Stéphanie George, Nicolas lamproye).**

III.3 Nanomatériaux :

Le 18 octobre 2011, la Commission européenne a publié ses recommandations relatives à la définition des nanomatériaux (recommandation 2011/696/UE) : « on entend par "nanomatériau" un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm ». **(Ricaud *et* Witschger, 2012)** Il existe deux grandes familles de nanomatériaux **(Journal Officiel de l'Union Européenne, 2011)** :

- **Les nano-objets.**
- **Les matériaux nano structurés.**

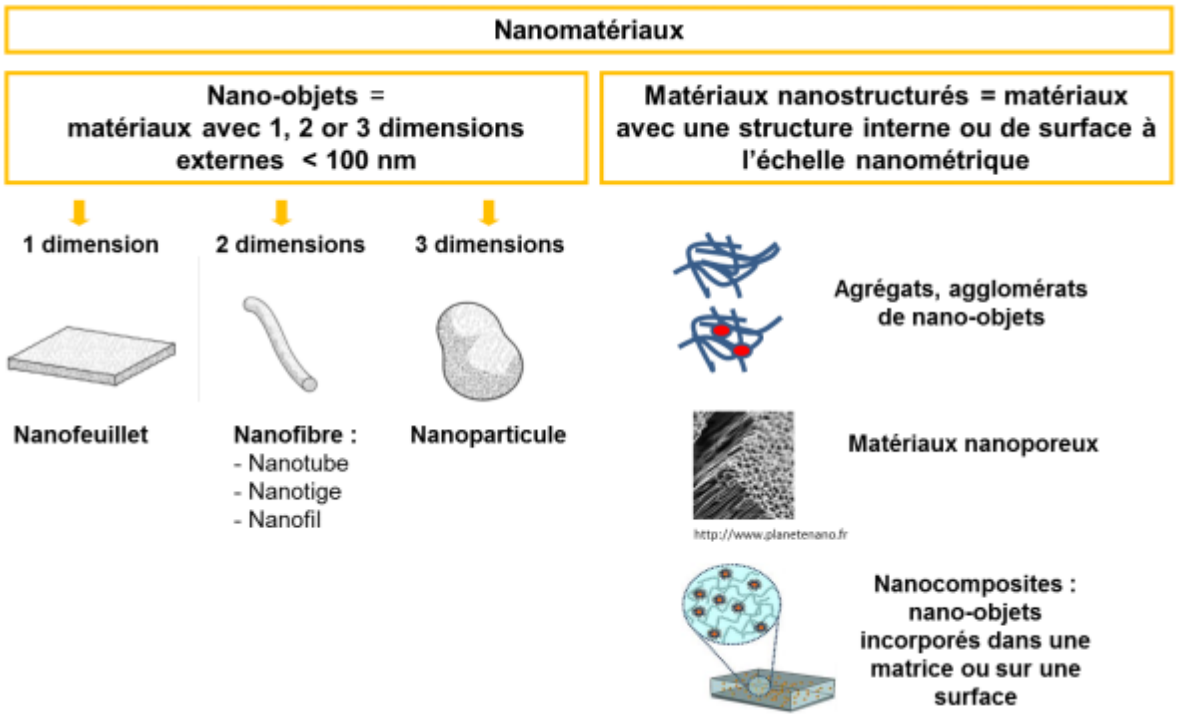


Figure 20 : Nanomatériaux manufacturés, selon la norme ISO TS 80004 1&2.

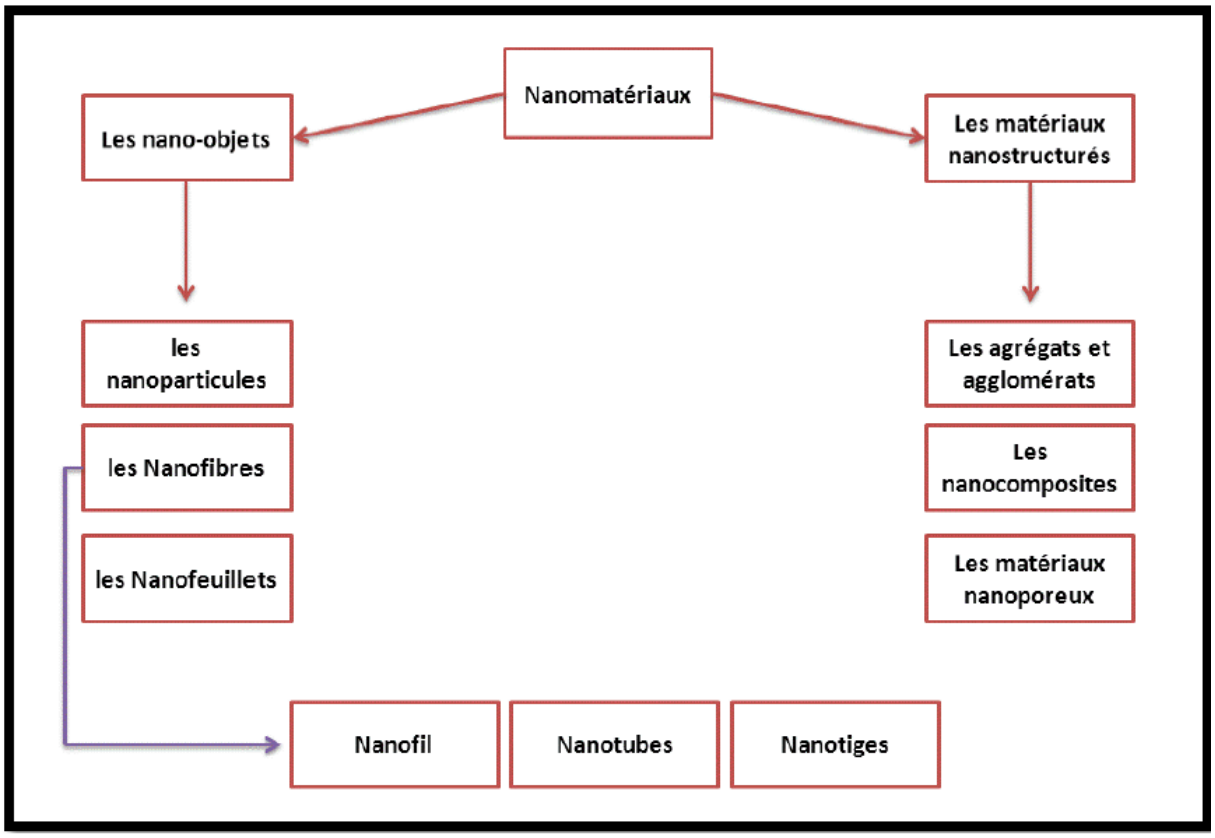


Figure 21 : Schéma récapitulatif des différents types de nanomatériaux.

(Guerricha Maroua *et* selmane Sassia., 2018)

III.4 Définition des nanoparticules :

Selon la commission européenne (2013), le nanomatériel est défini comme un matériel naturel accessoire ou manufacturé contenant des particules ayant au moins une dimension entre 1-100 nm à l'état non lié ou comme agrégat **(Djearamane *et al.*, 2016).** Ces matériaux peuvent être de différentes dimensions : 0D, 1D, 2D ou 3D **(Khan *et al.*, 2017)**.

Les nanoparticules (NPs) ne sont pas des simples molécules en soi et sont donc composés de trois couches :

• La couche superficielle, qui peut être fonctionnalisée avec une variété de petites molécules, d'ions métalliques, de tensioactifs et de polymères.

• La couche de coque, qui est un matériel chimiquement différent du noyau dans tous les aspects, etc.

• Le noyau, qui est essentiellement la partie centrale du NP et désigne généralement le NP lui-même **(Khan *et al.*, 2017).**

Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (3,4 nm) et un virus (100 nm) **(Angélique *et al.*, 2018).**

III.5 Origine des nanoparticules :

- ***Les nanoparticules naturelles :*** Elles sont produites à la fois à la suite d'événements naturels tels que l'activité volcanique, les réactions de photosynthèse ou encore l'activité marine. On peut en retrouver dans les poussières désertiques. Les nanoparticules sont aussi observées lors du phénomène de combustion **(Chauvel, 2018).**

  Certaines bactéries et levures peuvent réduire la toxicité d'un environnement agissant sur les ions métalliques et en formant des complexes insolubles sous forme des nanoparticules **(Chauvel , 2018).**

- ***Les nanoparticules artificielles (industrielles ou manufacturées) :*** Elles sont produites intentionnellement à l'échelle industrielle par l'homme **(Chauvel, 2018; Reyes *et al.*, 2018).** A l'aide de différents matériaux tels que les oxydes métalliques, les métaux, le carbone, les polymères et les lipides **(Reyes *et al.*, 2018).**

- ***Les nanoparticules accidentelles :*** Elles proviennent des procédés chauds par exemple : Feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage… **(Ophélie, 2008).**

III.6 Les nanoparticules d'argent :

L'argent est un élément de métal de transition d'origine naturelle **(Keerawelle et Chamara, 2019).** Il est utilisé depuis l'antiquité comme agent antifongique et antiviral, car tout en étant très toxique pour les microorganismes, il est beaucoup moins toxique pour l'homme **(Li *et al.*, 2011)**, de masse atomique de 107,87 g/mol, solide à température ambiante. Sa densité est de 10,5 et son point de fusion est de 960 °C. Il s'oxyde peu, ductile, malléable et bon conducteur thermique et électrique **(Chauvel, 2018).**

Parmi les différentes nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont l'un des nanomatériaux les plus essentiels et les plus fascinants **(Nasrollahzadeh *et al.*, 2019).** Composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions d'argent. Devant les nanotubes de

carbone et les nanoparticules de titane, elles sont les nanoparticules les plus vendues et relâchées dans l'environnement **(Andrieux, 2012).**

III.7 Propriétés des nanoparticules d'argent :

Les AgNPs ont des propriétés physico-chimiques distinctives, notamment une conductivité électrique et thermique élevée, une stabilité chimique, une activité catalytique et un comportement optique non linéaire **(Tran *et al.*, 2013).** Plus des propriétés mécaniques et magnétiques par rapport aux matériaux en vrac **(Renata *et al.*, 2012)** dont :

- ***Propriétés optiques :***

  Les AgNPs sont extrêmement efficaces pour absorber et diffuser la lumière et, contrairement à de nombreux colorants et pigments, ont une couleur qui dépend de la taille et de la forme de la particule **(Elham *et al.*, 2016).**

- ***Chimie de surface :*** Lorsque les nanoparticules sont en solution, les molécules s'associent à la surface des nanoparticules pour établir une double couche de charge qui stabilise les particules et empêche l'agrégation **(Elham *et al.*, 2016).**
- ***Propriétés biologiques :***

  Les composés d'argent sont révélés efficaces contre les bactéries aérobies et anaérobies en précipitant les protéines cellulaires bactériennes et en bloquant le système respiratoire microbien **(Elham *et al.*, 2016).**

III.8 méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent :

Les deux grandes approches des méthodes de synthèse des nanoparticules :

- L'approche descendante, ou top down.
- L'approche ascendante, ou Bottom up (méthodes chimiques).

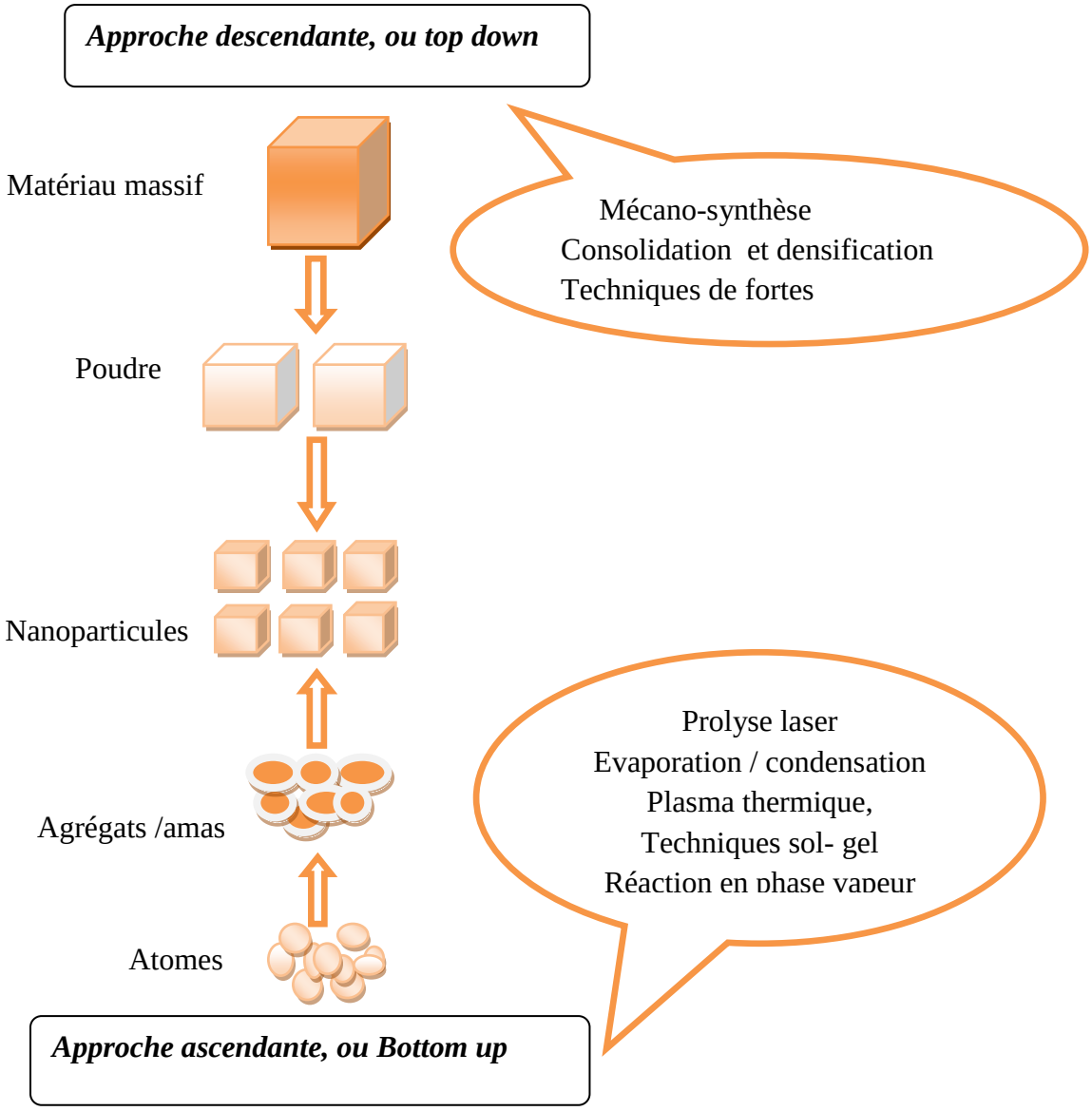


Figure 22 : représentation schématique des deux grandes approches de synthèse des nanomatériaux **(Madhumitha et Roopan.,2013)**

L'approche « ascendante » fait appel à des procédés d'élaboration chimiques et physiques alors que l'approche « descendante » induit, principalement, l'utilisation de méthodes mécaniques.

Les procédés actuels permettant la fabrication de nanomatériaux sont classés en trois grandes catégories :

- procédés par voie physique et mécanique **(Simchi *et al*.,2007)**
- procédés par voie chimique (**Wang *et al.*, 2012 ; Li *et al.*,2010 ; Simchi *et* al.,2007 ; Cheng *et al.*,2002).**
- procédés par voie biologique (plante, microorganisme, enzyme,...) **(Jang, 2016 ; Nair et *al.*, 2008 ; Willner et *al.*,2006)**

III.8.1 Synthèse verte des Nanoparticules d'argent :

La synthèse verte des nanoparticules émerge progressivement comme une branche clé de la nanotechnologie dans laquelle les nanoparticules sont produites à l'aide d'entités biologiques **(Prateek *et al.*, 2017),** où La paroi cellulaire chargée négativement interagit électro statiquement avec les ions métalliques chargés positivement et bio réduit les ions métalliques en NPs **(Tran *et al.*, 2013).**

Cette méthode peut être considérée comme une approche respectueuse de l'environnement et également comme une technique à faible coût à haut rendement, et non toxique **(Soliman *et al.*, 2018),** simple, fiable **(Rajeshkumar et Bharath., 2017),** une densité élevée, la stabilité et la solubilité immédiate des nanoparticules préparées dans l'eau **(Zhang *et al.*, 2016).** Par rapport aux méthodes de synthèse chimique et physique qui indiquent une faible biocompatibilité et présentent des risques biologiques latents consommant une énergie importante, nécessitant une pression élevée, coûteuses et ont un faible rendement **(Mohamed *et al.*, 2019).**

En raison de sa nature relativement polyvalente les extraits de métabolites secondaires collectés à partir des sources biologiques contiennent de nombreuses biomolécules tels que des **enzymes,** des **protéines**, des **flavonoïdes,** des **stérols**, des **triterpènes**, des **triterpénoïdes** et des **saponines** qu'ils ont des propriétés réductrice et antioxydante responsables de la réduction des composés métalliques dans leurs nanoparticules respectives **(Keerawelle et Chamara., 2019).**

Certains des agents réducteurs et /ou stabilisants utilisés pour la production de nanoparticules d'argent par synthèse verte sont : les bactéries **(Chauvel., 2018 ; Sang Hun *et* Bong-Hyun, 2019),** Les champignons **(Muhammad *et al.*, 2016) ,** Les polysaccharides **(Chauvel., 2018),** et les plantes qui font l'objet du présent travail, et qui sont considérées comme une très bonne méthode pour la synthèse rapide des nanoparticules d'argent en raison de leur large spectre de métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes,

les acides aminés, les protéines et les enzymes, qui pourraient améliorer la synthèse des nanoparticules, en jouant un rôle d'agent stabilisant ou réducteur **(Chauvel, 2018).**

Les parties des plantes comme les racines, la tige, les graines et les feuilles sont principalement utilisées pour la synthèse des NPs. Le point intéressant est l'agent actif présent dans ces parties **(Muhammad *et al.,* 2016).**

La bio-réduction de l'Ag a été postulée comme piégeant des ions Ag + à la surface des protéines en raison des interactions électrostatiques entre ces deux dans l'extrait de matériel végétal. Les protéines réduisent les ions Ag+, entraînant leur changement de structure secondaire et la formation des noyaux d'argent qui se développent successivement par la réduction supplémentaire des ions Ag+, et leur accumulation au niveau des noyaux conduisant à la formation des AgNPs **(Rajeshkumar et Bharath, 2017).**

Après la sélection de l'extrait de plante, les principaux paramètres affectants sont la concentration de l'extrait, la température, le sel métallique, le pH et le temps de contact **(Muhammad *et al.,* 2016).**

$$Ag+ + e- \rightarrow Ag°$$

III.8.2 Avantages des méthodes biologiques pour la préparation d'Ag NPs

- La méthode est sûr et n'utilise ni produit des substances toxiques ou nocives pour l'environnement.
- Faible coût de préparation en raison de la disponibilité de la plupart des matériaux.
- Il n'est pas nécessaire d'utiliser des températures et des pressions élevées.
- La facilité de la méthode ne nécessite pas des techniques compliquées.

III.9 Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent :

Le processus de formation des nanoparticules en solution est si complexe que la formation de nanoparticules métalliques dans les plantes et les extraits des plantes se déroule en trois étapes principales et de nombreux paramètres peuvent interférer avec la formation des nanoparticules : température, concertation et nature des réactifs et agent réducteur **(Srikar *et al*,2016)**

III.9.1 Nucléation :

C'est une étape d'activation au cours de laquelle se produit la réduction des ions métalliques et la nucléation des atomes métalliques réducteurs.

Le précurseur métallique est dissous puis réduit pour donner les atomes métalliques de valence nulle. Une sursaturation élevée d'atomes insolubles crée de petits agrégats par collision. Cette deuxième étape est appelée la nucléation : elle correspond à la formation d'une nouvelle phase solide thermodynamiquement stable au sein de la phase liquide. La formation de noyaux après un certain laps de temps entraîne une diminution de la sursaturation. Ainsi, la vitesse de nucléation diminue et le nombre de particules dans le système devient constant.

III.9.2 La croissance :

Les nuclei ayant atteint un rayon critique vont pouvoir croitre par consommation des monomères se trouvant en solution. Cette étape de croissance est thermodynamiquement favorisée. Plus la concentration en atomes est importante plus les particules vont croitre rapidement.

III.9.3 Le murissement **:**

Le murissement Au fur et à mesure que la réaction se poursuit, le taux de sursaturation continu à diminuer. La croissance ne peut plus se poursuivre, et une dernière étape peut intervenir : c'est le phénomène de murissement d'Oswald. Il s'agit de l'inter diffusion des atomes des plus petites particules vers les plus grosses.

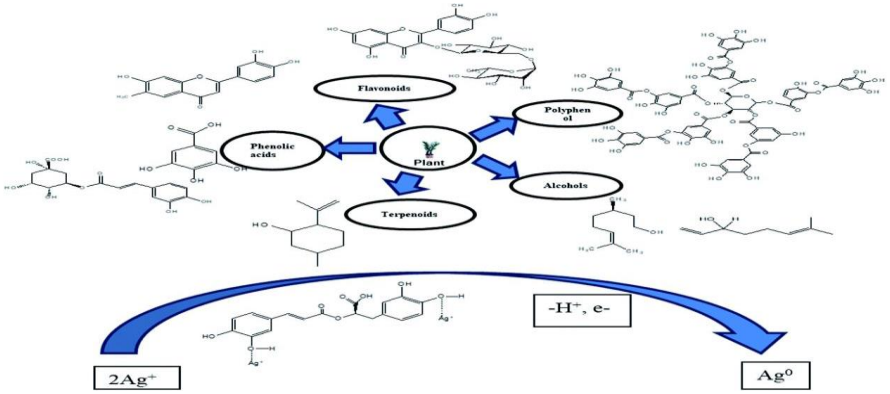


Figure 23 : mécanisme de synthèse des AgNPs à partir de source végétale **(Selmane,S.,2016)**

III.10 Les caractérisations des nanoparticules d'argent :

La partie la plus importante de la recherche sur les nanoparticules est la caractérisation qui est généralement basée sur la taille, la morphologie, la cristallinité, la charge et la composition des NPs. Les techniques les plus utilisées pour la caractérisation des NPs comprennent généralement la spectroscopie ultraviolette visible (UV-Vis), Microscopie électronique à balayage (MEB), la Diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier (FTIR).

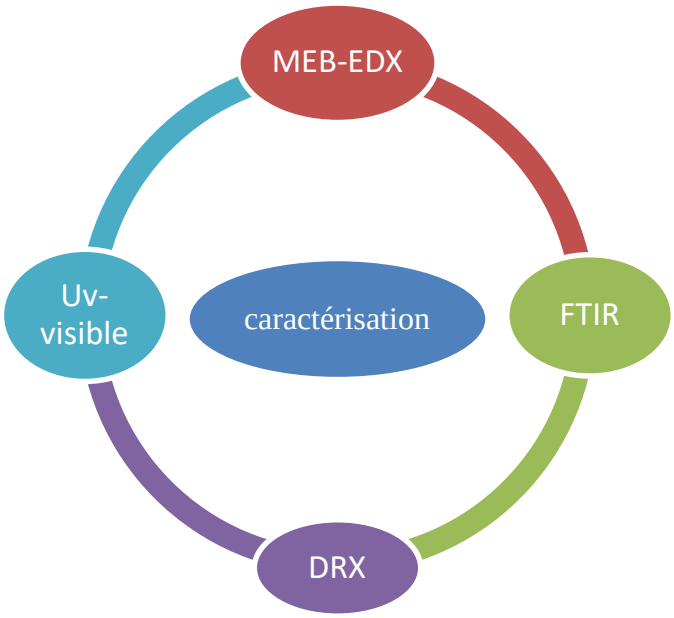


Figure 24 : les caractérisations des nanoparticules.

III.10.1 La spectroscopie UV-Visible :

La spectrophotométrie UV-visible est une technique simple, facile, rapide, sensible et la plus couramment utilisée pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées. Il s'agit de quantifier la quantité de rayonnement ultraviolet ou visible absorbée par un constituant en solution. Et mesurer le rapport de l'intensité de deux faisceaux de lumière dans la région UV Visible **(Rajeshkumar et Bharath., 2017).**

III.10.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

FTIR est un moyen non invasif, adapté, précieux, rentable, et simple pour étudier le rôle des biomolécules dans la réduction de l'AgNO3 en argent.

Lorsque le rayonnement infrarouge traverse les résultats de l'échantillon, certain de ce rayonnement est absorbé par l'échantillon et reste traversé. Le spectre résultant signifie l'absorption et la transmission en créant une empreinte moléculaire d'échantillon qui représente son identité **(Rajeshkumar et Bharath., 2017).**

III.10.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'analyse chimique (EDX) :

La formation et la distribution des AgNPs ont été confirmées par la microscopie **(Qasim *et al.*, 2018).**

C'est une technique couramment utilisée, car la manipulation de ce type d'appareillage est assez commune, dont la résolution reste assez bonne, variante entre 1 à 7 nm. Outre l'observation de la microstructure, elle permet d'identifier la composition chimique à l'échelle locale et même globale de l'échantillon, via l'analyseur EDX, incorporé dans l'appareil **(Belfennache, 2010).**

III.10.4 La diffraction des rayons X (DRX) :

La cristallographie aux rayons X ou diffractométrie de rayons X est une technique d'analyse fondée sur la diffraction des rayons X sur la matière. C'est une méthode d'analyse physico-chimique. Elle ne fonctionne que sur la matière cristallisée (Minéraux, métaux, céramiques). Par contre, elle permet de reconnaître des produits ayant la même composition chimique

III.11 Activités biologiques des nanoparticules d'argent :

Les AgNPs ont reçu une énorme attention des scientifiques en raison de leur remarquable défense contre divers micro-organismes pathogènes **(Rajeshkumar et Bharath., 2017).**

III.11.1 Activité antibactérienne :

Les nanoparticules d'argent, sont largement utilisées en tant qu'agents antibactériens **(Textoret *al.*,2010)**.

Les travaux menés par **Le *et al* ., 2010** ont étudié l'activité antibactérienne de nanoparticules d'argent contre les bactéries d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*.

Des chercheurs ont essayé d'incorporer des nanoparticules d'argent dans les matériaux d'emballage tels que du papier filtre, du polyéthylène basse densité (LDPE), et le poly (méthacrylate de méthyle) (PMMA) **(Mtimet.,2011),** est employé dans l'industrie alimentaire pour éviter les contaminations microbiennes et prévenir l'apparition d'un gout métallique **(Smith et Zysk.,1987)**.

Les nanoparticules d'argent ont été utilisées dans les stations d'épuration pour le traitement des eaux usées et ont montré une activité antibactérienne intéressante. La dispersion d'argent sur les surfaces de la membrane a amélioré l'activité antimicrobienne contre *E. coli* et *S. aureus*. Les résultats de cette recherche ont confirmé que la membrane Ag- PES peut inhiber presque la croissance bactérienne à 100% **(Jain *et* Pradeep *et al.,* 2005).**

Elles sont utilisées en tant qu'agents antimicrobiens dans les pansements pour empêcher les infections de blessure, et en tant qu'agents anticancéreux **(Jannathul Firdhouse *et al.,* 2015).** Les nanoparticules d'argent sont aussi utilisées comme additif antimicrobien dans les ciments osseux poly (méthacrylate diméthyle) (PMMA) **(Alt., 2004).**

L'argent imprégnés dans Les dispositifs implantables, et les masques chirurgicaux indiquent une efficacité antimicrobienne importante **(Fu *et al,* 2006).** L'argent est doté également d'une activité cytoprotectrice des cellules de l'infection par le VIH-1 **(Elechiguerra *et al.*,2005)**

III.11.2 Activité antifongique :

Les AgNPs ont une forte activité antifongique sur *Candida albicans, Candida glabrata, Candida parapsilosis, Candida krusei* et *Trichophyton mentagrophytes* **(Li *et al.,* 2011)** *Bipolaris sorokiniana* par l'inhibition de la germination des conidies **(Zhang *et al.,* 2016).** Par exemple L'activité antifongique des AgNPs contre *C.albicans* pourrait être exercée en perturbant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus de bourgeonnement normal en raison de la destruction de l'intégrité de la membrane **(Tran *et al.,* 2013).**

- ***Mécanisme d'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent :***

  L'argent est classé comme un acide doux et les cellules sont principalement composés de bases molles comme le phosphore et le soufre. L'action des AgNPs sur la cellule se traduit par la formation d'une réaction conduisant éventuellement à la mort cellulaire **(Rajeshkumar et Bharath., 2017).**

Les AgNPs ciblent la membrane bactérienne, l'épuisement des métaux peut être responsable de la formation de trous de forme asymétrique et conduisant à une dissipation de la force motrice des protons et perturbent sa fonction propres, telles que la perméabilité et la respiration ; puis ils pénètrent à l'intérieur des bactéries et libèrent les ions Ag+. **Tran *et al.* (2013),** a cité que ces ions Ag+ se lient aux groupes sulfhydryle, ce qui conduit à la dénaturation des protéines en réduisant les liaisons disulfures ; et peut aussi se complexer avec des groupes donneurs d'électrons **(Quelemes *et al.*, 2013).**

Ils sont capables d'interagir éventuellement avec des composés contenant du soufre et du phosphore tels que l'ADN **(Tran *et al.*, 2013),** et entraînant une inhibition du processus de transcription et de traduction. Il conduit aussi à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme les radicaux hydroxyles (OH-) et les anions superoxyde (O2) **(Rajeshkumar et Bharath., 2017).** Par la suite, les composants cellulaires fuient des membranes cellulaires endommagées, ce qui conduit finalement à la mort cellulaire **(Zhang *et al.*, 2018).**

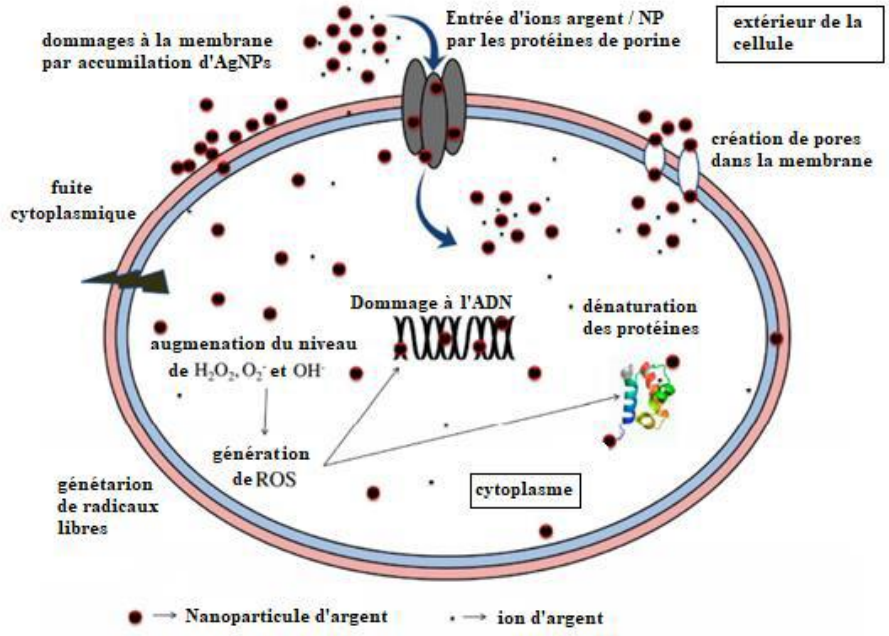


Figure 25 : Mécanismes bactéricides des AgNPs due à leur contact direct avec la cellule bactérienne et de la libération d'ions argent **(Chengzhu *et al.*, 2019).**

III.11.3 Activité anti-inflammatoire :

Des études ont montré que l'exposition au NPs conduit à la sécrétion de plusieurs cytokines et chimiokines par les cellules épithéliales, conduisant à l'infiltration de macrophages dans les zones exposées. Ensuite les macrophages déclenchent la libération de cytokines inflammatoires qui induisent à la régulation positive des médiateurs inflammatoires induisent une production accrue de cytokines inflammatoires du système circulatoire vers le site de l'inflammation **(Keywan *et al.*, 2019).**



Chapitre IV : Matériel et méthode



IV.1 Matériel :

IV.1.1Matériel du laboratoire :

Cette recherche a été menée dans plusieurs laboratoires et plusieurs outils doivent être utilisés. Pour cela, nous avons utilisé :

- Spectrophotomètre UV-visible type lambda 25 Perkin Elmer.
- Plaque chauffante avec Agitation de type Stuart UC 152 utilisé pour la préparation des milieux de culture.
- Autoclave pour la stérilisation des solutions et des milieux de cultures.
- Rotavapeur RE300 Cole-Parmer pour la séparation du solvant de l'extrait.
- Centrifugation pour la séparation des nanoparticules du surnagent.
- Filtres stériles (whatman filter papers) à porosité de diamètre de 150mm utilisés pour la filtration de homogénat/filtrat et la solution.
- Disque imbibé Schleicher & Schuell Ø 9 mm pour l'antibiogramme.
- Toutes les pesées sont effectuées à l'aide d'un Balance à précision de type Denver avec l'incertitude de d=0,1 mg.
- Bain marie pour chauffer un récipient dans un bain d'eau en fonction de la température souhaitée.
- Pour l'utilisation microbiologique on a utilisé Vortex de type VELP.
- Etuve utilisé pour l'incubation des microorganismes.
- Fisher-Lilly (Antibiotic Zone Reader) utilisé pour mesurer les zones d'inhibitions
- Verreries : fioles, entonnoirs, béchers, tubes à essai, Pipettes, erlenmeyer.

IV.1.2 Produits :

Tableau 9 : produits utilisés dans la partie expérimentale

Ethanol 96%	**Eau physiologique**	**DMSO**	**DPPH**
Eau distilée	**Mueller Hinton**	**Soja agar**	**Sabouraud**
Bouillon nutritif	**Folin- ciocalteau**	**AlCl3**	**Tween 80**
Acide ascorbique (vitamine c)	**Acide gallique**	**Quercétine**	**Carbonate de sodium**

IV.1.3 Matériel végétal :

Écorce de grenade (*Punica granatum*), du lentisque (*Pistacia lentiscus*), de l'if (*Taxus baccata*), du Ciste de Montpellier (C*istus mensipeliensis*), de Ciste de crète (*Cistus creticus*) et de l'arbousier (*Arbutus unedo*)

IV.2 Animaux :

Nous avons utilisé des souris de laboratoire (Figure 26) issues de l'élevage animalerie PASTEUR de dali-brahim (Algérie), ayant les caractères suivants, selon **(la pharmacopée européenne 2008)** :

- Espèce : souris Albinos
- Sexe : mâle et femmelle
- Nombre : 32
- Poids : 18 à 24g
- Nourriture : ONAB granulée
- Boisson : eau de ville

Dont les conditions d'hébergement sont :

- Température : 24ºC
- Humidité : 50%



Figure 26 : Souris Albinos, la race NMRI **(Original, 2022)**

On a utilisé un lot contient 3 lapins sélectionnés pour les laboratoires d'analyses. De telle sorte qu'on les traite séparément dans des cages.

- Espèce : lapin albinos de la race New Zealand
- Sexe : mâle
- Taille : 80 cm
- Durée de vie : 10 à 22 ans
- Poids d'adulte : 6 kg à 11 kg
- La consommation d'eau pour lapin adulte : 80-100 ml / kg de poids corporel.



Figure 27 : Lapin albinos de New Zealand **(Original, 2022)**

IV.3 Méthodes :

IV.3.1. Période et lieu d'étude

Ce travail a été réalisé durant la période allant de Février à Juin 2022 conjointement au :

- Laboratoire de la faculté des sciences au niveau du pôle universitaire Yahia Farés Médéa.
- Hall de technologie au niveau de l'université de Yahia Farés Médéa.
- Laboratoire de Microbiologie, physico-chimique du complexe antibiotical -SAIDAL- Médéa.
- Laboratoire physico-chimique d'Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie nationale de Bouchaoui, Algérie.
- Laboratoire d'analyses médicales des pompiers.
- Laboratoire physico-chimique de centre de recherche en technologie des semi-conducteurs pour l'énergétique d'El Harrach, Algérie.

IV.3.2 Objectifs d'étude :

Les objectifs de cette étude sont :

- une étude comparative du pouvoir antimicrobien des extraits ethanoliques de l'écorce de grenade (*Punica granatum*), du lentisque (*Pistacia lentiscus*), de l'if (*Taxus baccata*), du Ciste de Montpellier (C*istus mensipeliensis*), de Ciste de crète (*Cistus creticus*) et de l'arbousier (*Arbutus unedo*) et celui des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisés à base des extraits aqueux du lentisque (*Pistacia lentiscus*) et du Ciste de crète (*Cistus creticus*)
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de chaque plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.
- L'évaluation des effets synergiques entre les différents extraits et les nanoparticules synthétisés dans le but des formulations pharmaceutiques.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et anti cicatrisante, de la toxicité et du test de tolérance cutanée des formulations pharmaceutiques préparées.
- Etude phytochimique des extrais des plantes.

IV.3.3 Récolte des plantes

Echantillon 1 : L'espèce *punica granatum*, l'écorce de grenade a été récoltée de la région ramchi de tlemcen durant le mois de novembre 2021.

Echantillon 2 : L'espèce *pistacia lentiscus L.* a été récoltée durant le mois de décembre 2021, de la région de hamdania (sidi rabah) de Médéa, Algérie. Les parties prises en considération pour réaliser cette étude sont les feuilles et les fruits.

Echantillon 3 : L'espèce *Arbutus unedo L*, a été récoltée durant le mois de janvier 2022, de la région de hamdania (sidi rabah), Médéa, Algérie. La partie prise en considération pour réaliser cette étude : les feuilles.

Echantillon 4 : L'espèce *cistus mensipliensis L*, a été récoltée durant le mois de janvier 2022, de la région de hamdania (sidi rabah) , Médéa, Algérie. La partie prise en considération pour réaliser cette étude : les feuilles.

Echantillon 5 : L'espèce *cistus creticus L (incanus)*, a été récoltée durant le mois de janvier 2022, de la région de hamdania (sidi rabah), Médéa, Algérie. La partie prise en considération pour réaliser cette étude : les feuilles.

Echantillon 6 : L'espèce *Taxus baccata L*, a été récoltée durant le mois de février 2022, du jardin d'éssai d'El Hamma, Algérie. La partie prise en considération pour réaliser cette étude : les aiguilles.



(1)



(2)



(3)



(4)

Figure 28 : présentation de quelques plantes utiliser :(1) écorce *punica granatum*, (2) *Arbutus unedo*, (3) *pistacia lentiscus*,(4) *cistus incanus*.

IV.3.4 Séchage :

Les parties aériennes des plantes sont séchées directement après la récolte sur papier absorbant, sec et propre à l'air libre à l'abri de la lumière pendant une période étalant sur 01 mois.

IV.3.5 Broyage et conservation :

Les plantes ont été broyées grossièrement dans un moulin électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. Cette opération permet de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaire et de libérer les organites et les molécules contenues dans la cellule ce qui permet d'augmenter leur surface de se contacter avec les différents solvants utilisés et par conséquence améliorer le rendement.

La poudre résultante est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés.



Figure 29 : Broyage de grenade *punica garantum* séché **(originale 2022)**

IV.4 Procédés d'extraction

IV.4.1 Méthode d'extraction par macération :

IV.4.1.1 Extraction par solvant :

L'extraction a été faite par une macération de 50 g de la plante dans 500 ml du solvant (70% éthanol + 30% eau distillée) pendant 24h dans un récipient fermé et à température ambiante sous agitation à l'abri de la lumière.

Après 24 h, la solution est filtrée par un filtre de 150 mm du diamètre. Ensuite la séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un rotavapeur « évaporateur rotatif ». Dans cet appareil, l'évaporation sous vide est réalisée en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite à 60°C et l'extrait est récupéré en évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés extraits, le mélange final a été met dans un cristallisoir et séché à 40°C dans une étuve et après gratté avec une spatule pour obtenir une poudre, puis pesé pour calculer le rendement de l'extraction R selon la formule détaillée ci-dessous :

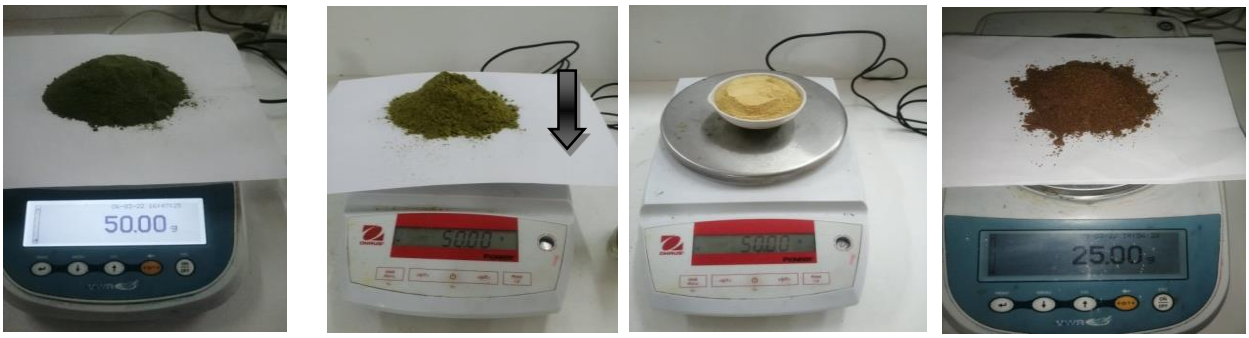
$$R(\%) = M / Mo \times 100$$

M : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

Mo : masse en gramme du matériel végétal à traiter.

(%) : Rendement exprimé en %.

Les procédures de l'extraction sont illustrées dans la figure suivant



(A)

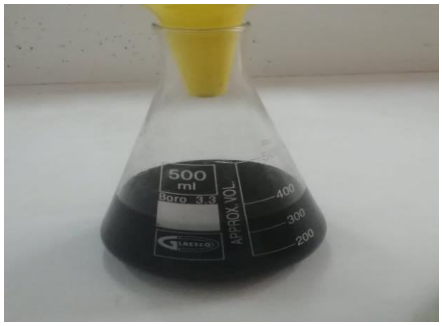


(B)



(C)





(D)

Figure 30 : Les étapes de l'extraction : (A) prise de poids, (B) macération, (C) filtration, (D) le filtrat

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un appareil appelé Rotavapeur à température de 60°.



Figure 31 : Rotavaporation par « évaporateur rotatif » (**original 2022**).

IV.5 Etude physico-chimique des extraits

IV.5.1 Méthode chromatographique et spectroscopique de séparation et d'identification :

IV.5.1.1 Analyse de CG MS :

L'analyse et l'identification de la composition chimique des extraits des six espèces étudiées ont été effectuées par des techniques chromatographiques. La chromatographie en phase

gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) nous a permis quant à elle, à l'aide des banques de données spectrales, de déterminer les composés.

Cette analyse est un contrôle de qualité visant à déterminer les composés les plus pharmacologiquement actifs. Afin d'extraire les six espèces : l'écorce de grenade *(punica granatums), lentisque (Pistacia lentiscus), l'if (Taxus baccata), Ciste de Montpellier (Cistus mensipliensis), Ciste de crète (Cistus creticus) et l'arbousier (Arbutus unedo)* séchés, l'éthanol a été utilisé comme un solvant d'extraction. L'analyse a été réalisée au laboratoire de la d'Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie nationale. D'Alger. Appareil : GC MS model CLARUS 500 brand Perkin-Elmer.

IV.5.1.2 Méthode CG-MS :

Les conditions expérimentales du système GC-MS étaient les suivantes : colonne non polaire standard capillaire TR 5-MS, dimension : 30 Mts, ID : 0,25 mm, épaisseur du film: 0,25 µm. Le débit de la phase mobile (gaz porteur : He) a été ajusté à 1 ml.min-1.

Dans la partie chromatographie en phase gazeuse, le programme de température (température du four) a été augmenté de 40 ° C à 220 ° C à 4 ° C min-1 et le volume d'injection était de 1 µl. Les échantillons ont été entièrement analysés à une plage de 20 et 550 m / z et les résultats ont été comparés en utilisant le programme de recherche de la bibliothèque spectrale de Wiley et Nist.

IV.6 Montage et Protocol général de synthèse des nanoparticules d'argent

IV.6.1 Préparation des extraits aqueux des feuilles de cistus incanus et pistacia lentiscus :

Tout d'abord, les feuilles de la plante sont bien lavées à l'eau du robinet, puis à l'eau distillée, puis laissées bien séchées pendant quelques jours à température ambiante.

L'extrait aqueux a été préparé en chauffant 10 g de biomasse végétale dans 100 ml d'eau distillée à 60°C pendant 15 minutes, et filtré sur papier filtre pour éliminer toutes les particules et obtenir des solutions claires qui ont été stockées à 4-8 °C.

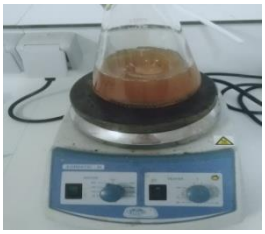
IV.6.2 Biosynthèse des nanoparticules d'argent :

Un extrait aqueux de plant a été utilisé pour la synthèse des AgNPs, et d'un autre côté, Une solution aqueuse d'une couleur transparente a été préparée avec d'AgNO3 agitée avec l'eau distillée à l'aide d'un mélangeur magnétique jusqu'à ce que la totalité du nitrate soit dissoute. Brièvement, nous avons utilisé deux concentration de l'extrait aqueux (10 ml et 20 ml) qui ont été ajouté goutte à goutte à 90 ml de solution de nitrate d'argent 1mM, Le mélange réactionnel a été maintenu à 60 °C pendant 15 minutes sous agitation mécanique constante. Le pH reste entre 4.7 et 5.0 pendant la période de réaction. La solution incolore de nitrate d'argent est passée au brun foncé, indiquant la formation d'AgNPs. Après la synthèse des AgNPs, la solution contenant des nanoparticules a été centrifugée à 6000 tr / min pendant 30 min pour séparer les AgNPs, Le culot a été lavé par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les impuretés et de l'éthanol à 90% pour obtenir une poudre d'AgNPs pure (ce Protocole est utilisé avec l'extrait de *cistus creticus* et l'extrait de *pistacia lentiscus*).

✓ ***Préparation de l'extrait de la plante :***



Chauffage à reflux à une température entre 60 et 70 °C



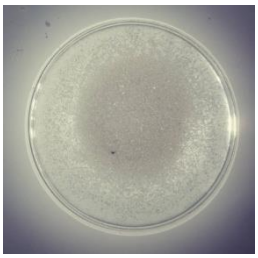
Après Filtration



Extrait aqueux des feuilles cistus creticus

✓ ***Préparation d'une solution de l'AgNO3 :***





Dissoute dans l'eau



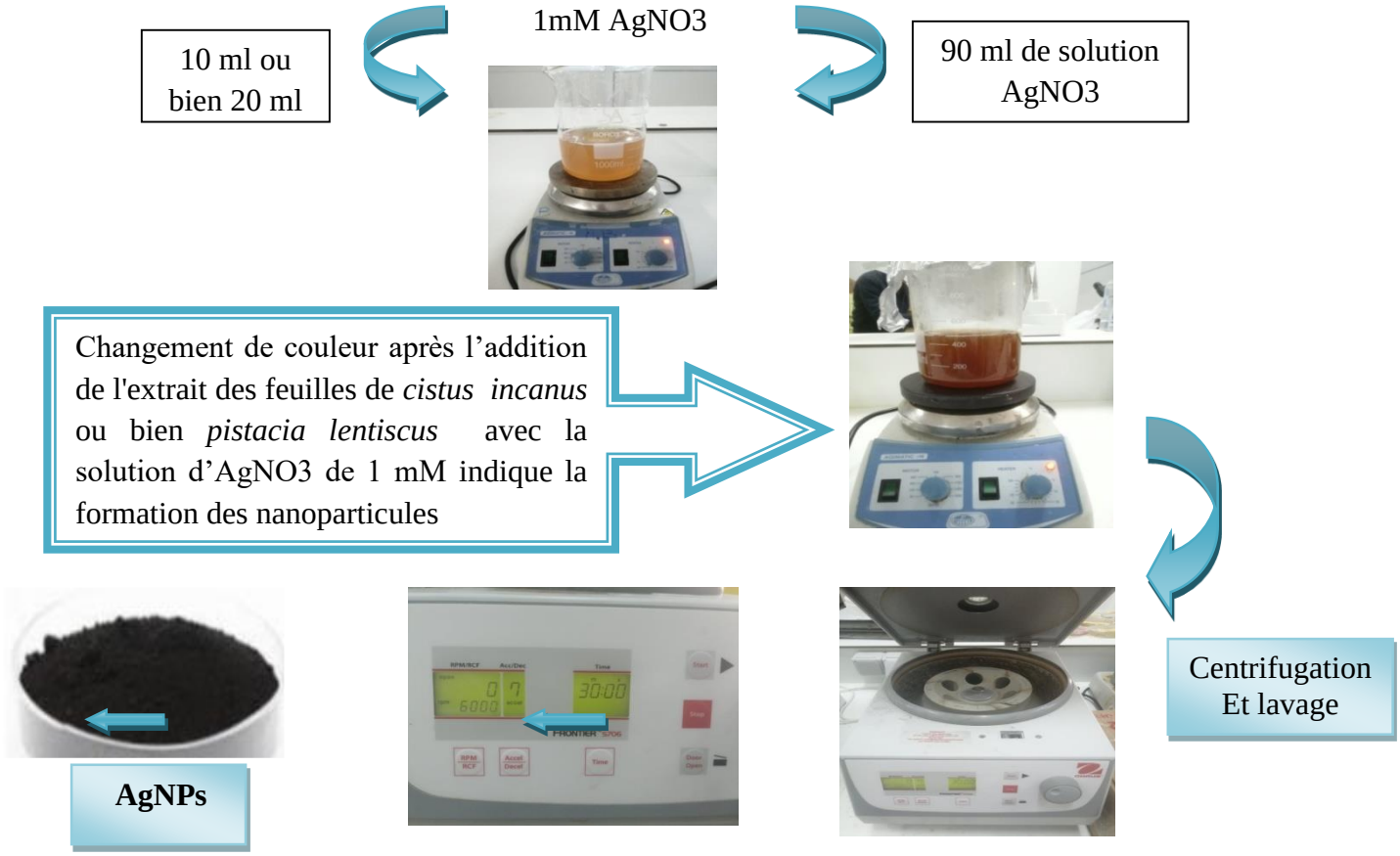


Figure 32 : les étapes de la formation des nanoparticules.

IV.6.3 Caractérisation des nanoparticules d'argent :

Il existe plusieurs manières pour caractériser les nanoparticules, Le premier et le plus pratique est le changement de couleur de la solution.

IV.6.3.1 spectroscopie UV-Visible :

Les mesures spectrophotométries ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau UV-visible (Thermo) pour les deux extraits préparés (AgNPs et extrait) en utilisant une cuve en quartz de 10 mm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostatée à 25°C. L'analyse est effectuée entre 300 et 700 nm. L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons analysés.



Figure 33 : spectrophotomètre UV-Visible (**original 2022**).

IV.6.3.2 Spectroscopie Infrarouge (FTIR) :

Les analyses par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre IR à transformée de Fourier de marque Bruker en mode de réflexion totale atténuée (ATR en anglais) dans l'intervalle 400 - 4000 cm-1. Cette technique a été utilisée afin d'identifier les groupements fonctionnels présentes dans un échantillon ainsi que les liaisons développées après la formation des nanoparticules d'argent.

IV.6.3.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'analyse chimique (EDX) :

L'analyse morphologique et la composition des nanoparticules ont été mises en évidence par microscopie électronique à balayage de type « COXEM-30 » couplé d'un spectromètre à dispersion d'énergie de rayons X (EDX) fonctionnait à une tension d'accélération de 25 Kv avec un grossissement de 30 000 X et une grande distance (WD) de 14,900. Les nanoparticules d'argent ont été obtenues par centrifugation et séchées pour être placées à l'intérieur de grilles de carbone pour observer la microstructure de la surface et EDX montrant la composition et le pourcentage des nanoparticules d'argent.

IV.7.1 Activité antimicrobienne des extraits et des nanoparticules d'argent et leur effet synergique :

Les souches utilisées :

Dans notre étude, nous avons testé la sensibilité de neuf (9) souches microbiennes de référence (l'American Type Culture Collection « ATCC ») provenant du laboratoire microbiologique au niveau du groupement Saidal à Médéa vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques et antifongiques) et des agents biologiques (AgNps et extraits).
Il s'agit de six (6) souches bactériennes (cinq (5) Gram négatives et une (1) Gram positive) : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Bacillus subtilis* ATCC 6631, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, et de trois (3) souches fongiques connues d'être responsables d'infections nosocomiales *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC19763, *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404.

- ***Préparation de l'inoculum :***

La revivification des différentes espèces bactériennes est faite par passage successif sur géloses appropriées. Afin d'obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans l'eau physiologique à 0,9 % NaCl. Puis cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland qui correspond à une suspension contenant environ de 10^8 bactéries/ ml et 10^4 levures/ml **(Rodrigues et al., 2005)**.

- ***Préparation des dilutions des extraits et nanoparticules d'argent :***

  - On a préparé quatre dilutions de chaque extrait d1, d2, d3, d4 correspondant à 25%, 50%,75%,100%. Dont, chaque concentration a été préparée dans une solution contenant 80% d'eau déminéralisée et 20% DMSO.
  - Pour les nanoparticules d'argent on a préparé 25 mg/ml pour chaque type (AgNPs .L et AgNPs.C)
  - Pour l'effet synergique entre les plantes, on a préparé dix probabilités au hasard comme suivante (dans les effets synergiques on a utilisé la dose 100% des plantes) :
    1) feuilles lentisque+ fruit lentisque.

2) *cistus mensipliensis* + *cistus incanus.*

3) *cistus mensipliensis* + *cistus incanus* + feuilles lentisque.

4) *punica granatum*+ *cistus mensipliensis.*

5) Pu+ C.I+ C.M+ lent +fruit. lent.

6) Pu + *Arbutus unedo* +lent + fruit. lent.

7) C.I + Pu.

8) Pu + fruit. lent.

9) Arb +Pu.

10) Arb + fruit. lent.

- Pour l'effet synergique entre les plantes et AgNPs.C, on a préparé huit probabilités comme suivante :

C.M + AgNPs.C ------→ B

Pu + AgNPs.C ------→ C

Lentisque +AgNPs.C ------→ D

C.M +C.I +AgNPs.C ------→ E

AgNPs.C + 1

AgNPs.C + 3

AgNPs.C + 4

AgNPs.C + 5

- Pour les plantes, le contrôle positif choisi est l'antibiotique Amoxypen pour les bactéries et la Nystanine pour les champignons, tandis que le contrôle négatif utilisé est le DMSO.
- Les solutions obtenues sont homogénéisées par un Vortex.

➢ *L'aromatogramme :*

L'activité antimicrobienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion de disque sur le milieu gélose de Muller Hinton (MH) pour les souches bactériennes et Sabouraud (SB) pour les souches fongiques, cette méthode a été standardisée par le Comité National des Normes pour Laboratoires Cliniques (NCCLS) (**Kiehlbauch *et al*., 2000).** L'ensemencement de ces deux milieux est réalisé par écouvillonnage, à l'aide d'un écouvillon stérile introduit dans la suspension microbienne et essoré contre la paroi interne du tube, en réalisant des stries parallèles et aussi serrées que possible à la surface

d'une boite de Pétri préalablement coulée. L'opération est répétée trois fois en tournant la boité 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.

A l'aide d'une pince stérile, déposer des disques stériles (Schleicher & Schuell) de 9 mm de diamètre selon le besoin sur la surface des boites de Pétri ensemencées, puis imprégnés chaque disque avec 15 µl de l'extrait ou de la solution d'AgNPs. Les boites ont été mises à 4°C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion de l'extrait ; puis laissées diffuser à température ambiante pendant 1H. Ensuite, les boites ont été incubées à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les champignons.

La lecture des résultats a été faite par la mesure de la zone d'inhibition par la méthode de Fisher-Lilly (Antibiotic Zone Reader), qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée **(Figure 35**).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits **(Ponce et *al*., 2003).**

- D≥30mm : Très fortement inhibitrice.
- 21mm≤D≤29mm : Fortement inhibitrice.
- 16mm≤D≤20mm : Modérément inhibitrice.
- 11mm≤D≤16mm : Légèrement inhibitrice.
- D<10mm : Non inhibitrice



Figure 34 : Fisher-Lilly «Antibiotic Zone Reader » **(Original 2022).**

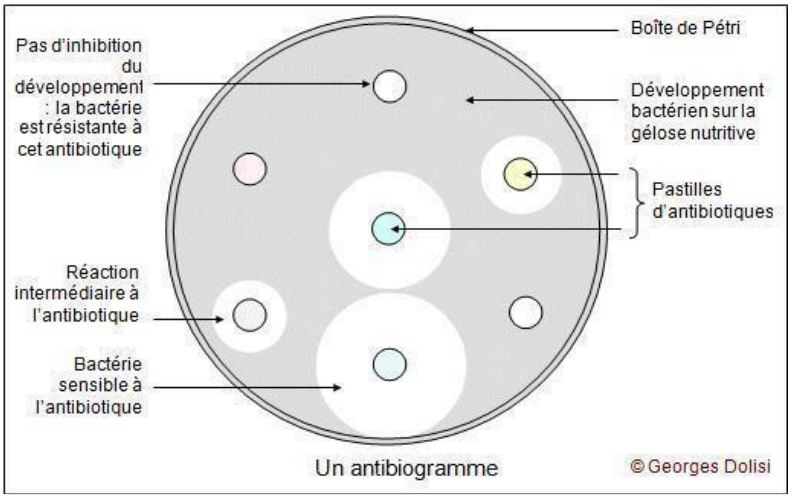


Figure 35 : Schéma représentatif de l'aromatogramme **(Wikipédia).**

IV.7.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits éthanolique des plantes médicinales ont été déterminées selon la méthode de dilution en milieu liquide recommandée par NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) avec quelques modifications selon les étapes suivantes :

- Préparer des dilutions des extraits allant de 10^{-1} à 10^{-5}
- Préparer une suspension bactérienne d'une charge de 10^{8}UFC/ml
- Dans des tubes contenants 5ml de bouillon nutritif et une goutte de Tween 80, ajouter 0.1 ml de la suspension préalablement préparée et 1ml de chaque dilution de l'extrait.
- Le témoin négatif utilisé contient le milieu de culture, le tween 80 et la suspension bactérienne
- Incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un trouble dans la totalité du tube. Une confirmation de l'absence des germes signifiant une bonne activité de l'extrait a été confirmée en ensemençant le contenu des tubes à intérêt sur des boites de gélose précoulée par écouvillonnage.

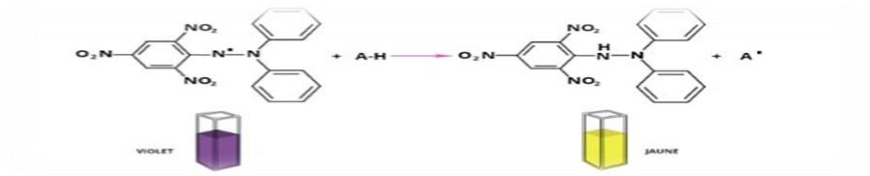
La concentration minimale inhibitrice est la faible concentration d'extrait contenu dans le tube qui ne présente aucun trouble

IV.8 Détermination de l'activité antioxydants par le test au DPPH

Principe du test de DPPH :

L'activité antiradicalaire des extraits a été testée par l'utilisation du radical DPPH (Méthode de Blois (1958) avec quelques modifications). Le DPPH (2.2'- Diphényl-1 picrylhydrazyl) (Sigma, C18H12N506: PM-394.33) est un radical libre stable soluble dans l'éthanol (ou méthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH. la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle), selon la réaction suivante **(Pokorny et *al.*, 2001; Roginsky et Lissi, 2005)**:

DPPH+ (AH) ---------► DPPH-H+ (A°) n



2.2'- Diphényl-1 picrylhydrazyl — diphenyl-picrylhydrazin

Couleur Violette ⟶ couleur jaune

Figure 36 : Schéma de réduction du DPPH en présence d'un antioxydant

- ***Mode opératoire :***

Cette étude a été effectuée en quatre étapes :

- ***Préparation de la solution oxydante du DPPH***

  La préparation de la solution DPPH est de 4% (m/v), obtenue par dissolution de 0.004g de DPPH dans un 0.1L d'éthanol, ou bien 0.002g de DPPH dans un 0.005 L d'éthanol selon le besoin



Figure 37 : Solution éthanolique du DPPH (**originale, 2022**).

- ***Préparation des échantillons :***

-La solution mère a été préparée en mélangeant 25mg d'extrait avec 25 ml d'éthanol afin d'obtenir une concentration de 1mg /ml

- à partir de la solution mère, des dilutions de 80%, 60%, 40%,20%, 10% et 5% ont été préparées.

- dans des tubes, un volume de 0.1 ml de chaque dilution est mélangé avec 3.9ml DPPH

- les tubes ont été incubés à l'obscurité pendant 30min

- la lecture a été faite par UV visible à 517 nm on utilisant l'éthanol comme blanc ; et la solution contenant 3.9ml DPPH et 0.1ml d'éthanol comme solution de contrôle

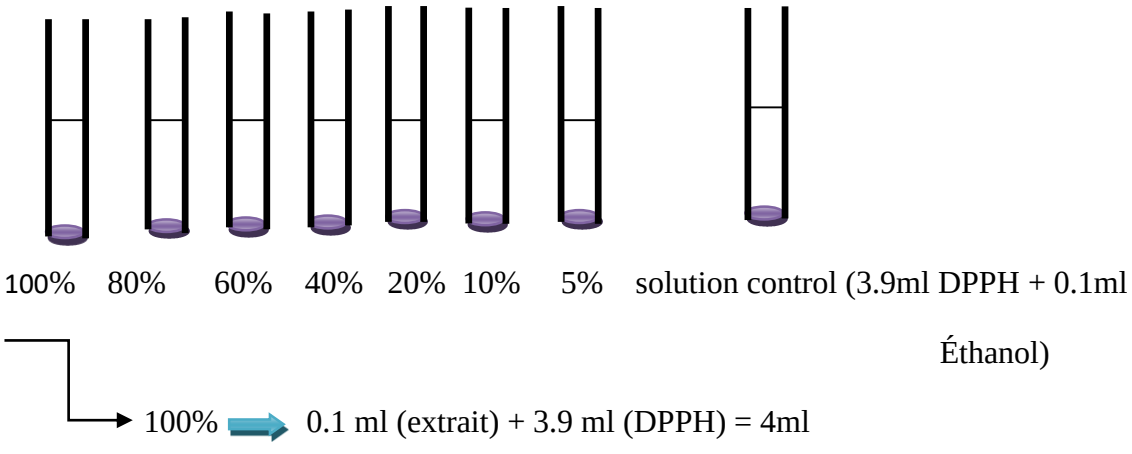


Figure 38 : les dilutions de test DPPH

- ***Préparation des échantillons d'acide ascorbique :***

Dans le but de comparer l'éventuel effet antioxydant de nos extraits, nous avons étudié l'effet antioxydant de l'acide ascorbique (vitamine C) connue par son effet anti radicalaire très fort **(Knekt et *al.*, 2004).** Différentes dilutions d'acide ascorbique à faible concentrations exprimée en mg /ml (0,004 ; 0,006 ; 0,008 ; 0,01 ; 0,015 ; 0,02 ; 0,04 ; 0,05 ; 0,06 ; 0,08) ont été préparées selon le protocole expérimental disponible au complexe antibiotique SAIDAL.

➢ **Mode opératoire de l'activité anti radicalaire de la vitamine C**

0,1ml de chaque solution aqueuse d'acide ascorbique (standard) à différentes concentrations sont ajoutés à 3 .9ml de la solution éthanoïque du DPPH (0,024mg /ml).

En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 0,1 ml d'eau distillée avec 3,9 ml de la solution éthanolique du DPPH.

La lecture de l'absorbance pour chaque concentration contre un blanc déjà préparé est faite à 517nm après 30 minutes d'incubation à une température ambiante.

- **Expression et résultats**

L'évaluation de l'activité antioxydant en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$AA\% = \frac{(\text{Abs Controle} - (\text{Abs Extrait} - \text{Abs blanc})}{\text{Abs Controle}} X100$$

Abs Contrôle : est l'absorbance du tube contrôle.

Abs Extrait : est l'absorbance de la concentration en test.

Abs Blanc : est l'absorbance d'échantillon sans DPPH.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de ces extraits et de l'acide ascorbique, permet également de calculer le paramètre IC50 qui représente la « Concentration Efficace ». Cette dernière est définie comme étant la concentration de l'huile essentielle ou d'extrait (ou bien aussi de l'acide ascorbique) nécessaire pour réduire 50% de l'activité de DPPH° **(Molyneux, 2004 ; Samarth Panwar M; Soni A; Kumar M; et Kumar A. 2008)**

IV.9 Application à la formulation :

Nous avons formulé une pommade à base de cinq extraits et une pommade à base d'un extrait avec l'AgNPs.C, et un gel buvable à base de quatre extraits.

IV.9.1Formulation d'une pommade à base des extraits et AgNPs.C

- ***Les produits utilisés :***

Pour essai 1 : on propose le nom **Pucilen** comme nom de notre pommade qui contient 20% d'extrait *cistus mensipliensis*, 20 % d'extrait de *cistus creticus* et 20% d'extrait feuilles de *pistacia lentiscus* ,20% *punica granatum* ,20% d'extrait fruit de *pistacia lentiscus.*
Les produits utilisés pour **Pucilen** sont présentés dans le **Tableau 11.**

Tableau 11 : Les produits utilisés dans la formulation de Pucilen.

Produits de Formulation 1 « Pucilen »		
Extrait *cistus ceticus* 20%	Extrait *cistus mensipliensis* 20%	Extrait fruits de *pistacia lentiscus* 20%
Extrait feuilles de *pistacia lentiscus* 20%	Extrait de *punica granatum* 20%	Huile de vasline
Vaseline	Méthyl parabane	Essence de lavende

Pour essais 2 : on propose le nom **Fapulen** comme nom de notre gel qui contient 25% d'extrait fruits de *pistacia lentiscus* et 25% *punica granatum* et 25% *Arbutus unedo* et 25% feuilles *pistacia lentiscus.*

Les produits utilisés pour **Fapulen** sont présentés dans le **Tableau 12.**

Tableau 12 : Les produits utilisés dans la formulation de Fapulen

Produits de Formulation 2 «Fapulen»		
Extrait des fruits de *pistacia lentiscus* 25%	Extrait de *punica granatum* 25%	Extrait des feuilles de *pistacia lentiscus* 25%
Extrait d'arbutus unedo 25%	Méthyl parabane	Vitamine c
Vitamine E	Huile végétale de menthe poivré	Gomme xanthane
Saccharose	Arome d'orange	Eau purifiée

Pour essais 3 : on propose le nom **Cis- Nano silver** comme nom de notre 2 ème pommade qui contient 70% d'extrait *cistus mensipliensis* et 30% nanoparticules d'argent.

Les produits utilisés pour **Cis-Nano silver** sont présentés dans le **Tableau 13.**

Tableau 13 : Les produits utilisés dans la formulation de Cis-Nano silver.

Produits de Formulation «Cis-Nano silver»		
Extrait de cistus mensipliensis 70%	AgNPs 30%	Méthyl parabane
Huile de vasline	Vaseline	Essence de lavende

IV.9.2 Formulation :

Le but de cette partie est d'optimiser la formulation d'une pommade contre les infections cutanées et une pommade anti-cicatrisante et antibactérienne des infections cutanées (les staphylocoques) et d'un complément alimentaire (gel buvable) contre les infections pulmonaires, contre la bronchite

et comme antimicrobien. Pour cela, on a utilisé des plans d'expériences permettant de planifier les essais de formulation, de rationaliser le nombre et d'assurer la qualité des résultats.

IV.9.2.1 Méthode de préparation de pommade :

Le mode opératoire se résume comme suivant :

Dans un bécher de 250 ml, tous les excipients sont mis sous agitation mécanique à température environ de 60°C pendant dix minutes, puis laisser sous agitation jusqu'à le refroidissement du produit, afin d'assurer une bonne stabilité du pommade formulé.

IV.9.2.2 Méthode de préparation du gel buvable :

- ***Préparation de la phase aqueuse***

C'est la phase qui a été extraite dans la première partie de notre travail.

- ***Préparation du gel buvable***

Dans un bécher de 250 ml, tous les excipients sont mis sous agitation mécanique à température albiante pendant dix minutes puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur de type (IKA T 25 ULTRA-TURRAX) afin d'assurer une bonne stabilité de gel formulé.

IV.9.2.3 Caractérisation du gel buvable et pommades :

- ***Caractérisation physico-chimique*** **:**

Contrôle du pH : la mesure du pH est un paramètre important étant donné qu'elle produit est conçu afin qu'il soit consommé directement par l'être humain.



(A) **(B)**

Figure 39: A) pH-mètre pour mesurer le **pH** des pommades/ **B)** ph de gel buvable fapulen **(Original 2022)**.

Mesure de la viscosité : Les coefficients de viscosité sont des grandeurs physiques qui jouent un rôle essentiel en rhéologie. Leur connaissance suffit parfois à caractériser de façon précise le comportement rhéologique du matériau. On définit différents coefficients de viscosité : Viscosité dynamique ou apparente (Pa.s), Viscosité cinématique (cm2/s), Viscosité relative, spécifique, intrinsèque.



Figure 40 : viscosimètre pour mesurer la viscosité du gel buvable **Original 2022**.

IV.10 Etude de l'effet anti-inflammatoire

IV.10.1 Test de l'oedème plantaire induit par carragénine :

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'écorce de grenade (*punica granatum*), Ciste de Montpellier (C*istus mensipeliensis*), Ciste de crète (*Cistus creticus*), lentisque (*Pistacia lentiscus*) les fruits et les feuilles, Nanoparticules d'argent, Notre gel buvable fapulen, Notre pommade Cis-Nano silver et Notre pommade pucilen, aété réalisée selon la méthode décrite par **Winter et *al.* (1962).** Pour ce faire, les souris des deux sexes sont été soumises à un jeune de 18 H avant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. Elles ont été réparties en 6 lots de 5 animaux chacun. Le lot I contient l'extrait pure de la pommade pucilen fruit et feuilles *pistacia lentiscus* et écorce de *punica granatum* et *cistus mensipliensis* et *cistus incanus* 5ml , pour chaque extrait (2mg/ml), le lot II administrant le médicament de référence le Diclofénac® (témoin positif), tandis que le lot III contient pommade Cis- Nano silver avec AgNPs.C 30% , pour l'extrait 70% et, le lot IV contient notre gel buvable fapulen , pour chaque extrait (2.5mg/ml), le lot V contient de AgNPs (0.25mg/ml) , et le dernier lot VI administrant solution physiologique au lieu du produit à contrôler (témoin négatif).

Cette étude permet de comparer la réduction de l'oedème plantaire après administration des doses du produit de référence et du produit anti-inflammatoire à tester.

Quinze minutes après le traitement par injection de 0.2 ml de carragénine (1% p/v) au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure droite l'oedème a été induit.





(A) **(B)**

Figure 41 : (A) Principe de gavage des souris, (B) Injection sub-plantaire de la carragénine **(Original 2022).**

L'épaisseur de la patte (mm) a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant injection (V0) et pendent et toutes les 30 min pendant 3H après induction de l'inflammation.



Figure 42 : Mesure de l'épaisseur de la patte à l'aide d'un pied à coulisse digital **(Original 2022).**

IV.11 Etude de la toxicité aigue

Principe :

Ce test, est réalisé sur des souris disponible au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie (Saidal, Médéa). La race utilisée est sélectionnée pour laboratoire d'analyse, ayant le qualificatif d'une race albinos de 19 à 23 g de poids, de type NMRI (Naval Médical research institute).

Selon le protocole du laboratoire de pharmacotoxicologie de SAIDAL, un essai limite peut être effectué, sur des rongeurs (souris) en administrant, par vois intra-gastrique, une dose unique du produit à tester. Nous observons pendant 15 jours les cas de mortalité.

➢ *Mode opératoire :*

Nous avons utilisé notre gel buvable **Fapulen**.

- Fapulen : 25% *punica granatum*, 25% fruits de *pistacia lentiscus*, 25% feuilles de *pistacia lentiscus*, 25% *arbutus unedo.*

- 5 ml est le volume du gel à préparer pour chaque lapin et 3ml pour chaque souris, Nous avons utilisé 2 lapins et un lot de 5 souris.

- Mettre les lapins et les souris à jeun de nourriture la veille du test.

- A l'aide d'une sonde, pratiquer le gavage, Chaque souris reçoit 0.5ml d'une dose donnée et 5 ml pour chaque lapins.

- Priver ensuite les souris de nourriture pendant 2 à 3h après l'administration. Procéder à leurs observations afin de noter toute anomalie ou mortalité.

➢ *Le gavage :*

5 ml de notre Gel est administré par gavage à chaque lapin et 0.5ml pour chaque souris une fois par jour pendant une semaine à l'aide d'une sonde gastrique.

.





Figure 43 : principe de gavage du gel buvable des lapins **(Original 2022).**

IV.12 Test de tolérance cutanée :

L'application, sur la peau saine ou lésée, de produits chimiques, est susceptible de provoquer chez certains sujets des irritations d'intensité variable. Les tests de tolérance locale cutanée ont

pour but de prédire, à partir de la connaissance de la toxicité sur un organisme animal vivant, le risque toxicologique chez l'homme.

- **Principe :**

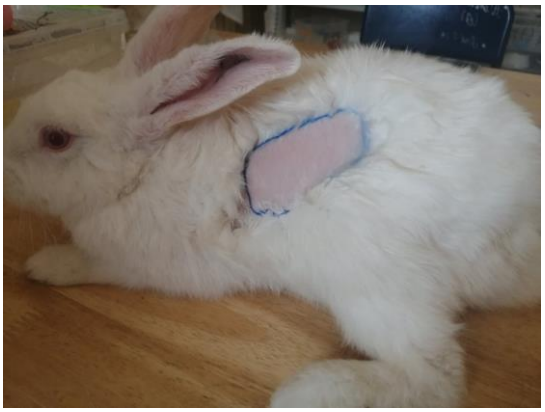
L'indice d'irritation primaire cutanée de nos produits a été déterminé chez le lapin selon le Protocol de Saidal inspiré de la pharmacopée européenne. Le dos de chaque animal est divisé en deux zones après élimination des poils. Sur l'une des zones, le produit est appliqué directement, sur l'autre zone, il est appliqué après scarification. Le produit est maintenu en contact avec la peau par un pansement pendant 24 heures. Des lectures sont faites une heure après enlèvement du pansement, ensuite 24 à 72 heures après l'application du produit jusqu'à 14 jours. Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon une échelle numérique notée de 0 à 4. La détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée IP se fait par l'addition des chiffres obtenus pour l'érythème et l'œdème à chaque temps de lecture (24 et 72 heures après l'application) et pour chacune des zones. Les chiffres ainsi obtenus sont additionnés, ce total est divisé par 24, la moyenne ainsi obtenue représente l'IP, celui-ci permet de classer le produit en quatre types de réponses :

- ✓ Action non irritante, IP inférieur à 0.5 : **IP < 0.5.**
- ✓ Action légèrement irritante, IP compris entre 0.5 et 2 : **0.5 < IP < 2.**
- ✓ Action moyennement irritante, IP compris entre 2 et 5: **2< IP < 5**
- ✓ Action sévèrement irritante, IP compris entre 5 et 8: **5 < IP < 8**.

- ***Protocole expérimental :***

En premier lieu, le dos et les deux côtés de 2 lapins ont été tondues puis 3 scarifications parallèles de l'épiderme de 3cm de long espacées d'environ 0.5 cm, ont été pratiquées au niveau du flanc droit de chaque animal. Vingt-quatre heures plus tard, une quantité de produit équivalente à 0,5 g a été appliquée sur chacun des flancs des animaux sous pansement semi-occlusif. Chaque produit formulé a été laissé en contact avec la peau durant 24 heures.





Préparations des zones traitées et incision sur le flanc traitée.

Application de pommade sur le flanc traitée et l'autre flanc témoin

Figure 44 : Technique de scarification, rasage et application le produit sur les lapins.

Trente minutes après l'enlèvement du pansement, et 48 heures plus tard (soit environ 24 et 72 heures, jusqu'à 14 jours après l'application), l'irritation cutanée a été appréciée aux sites d'application (scarifié et non scarifié) à l'aide d'une échelle d'évaluation numérique permettant de coter les érythèmes et la formation d'œdème. L'évaluation porte sur la formation de l'érythème et de l'œdème qui est notés suivant une échelle numérique est récapitulée dans les tableaux 14 suivant :

Tableau 14 : Evaluation de l'œdème.

Absence d'œdème	**0**
œdème très léger (à peine visible)	**1**
œdème léger (gonflement apparent)	**2**
œdème moyen (épaisseur 1mm)	**3**
œdème grave (épaisseur supérieur à 1mm)	**4**

Tableau 15 : Erythème et formation d'escarres.

Absence d'érythème	**0**
érythème léger (à peine visible)	**1**
érythème bien visible	**2**
érythème modéré à important	**3**
érythème grave (rouge pourpre)	**4**

L'indice d'irritation primaire cutanée a été déterminé en additionnant les chiffres obtenus pour l'érythème et l'œdème, à 24 et 72 heures, sur les 12 zones d'application (1 zone scarifiée + 1 zone intacte) x 6 animaux puis en divisant le total par 24.

IP = (Œdème + Erythèmes) Flanc traité + (Œdème + Erythèmes) Flanc témoin /24

IV.13 Activité cicatrisante :

Selon le Protocol de Saidal inspiré de la pharmacopée européenne, le test se fait sur lapin .Le dos de chaque animal est divisé en deux zones après élimination des poils. Après à l'aide d'une lame on fait deux scarifications Sur les deux zones, après le produit est appliqué directement chaque jour pendant 15 jours, Des lectures sont faites pendant 15 jours.

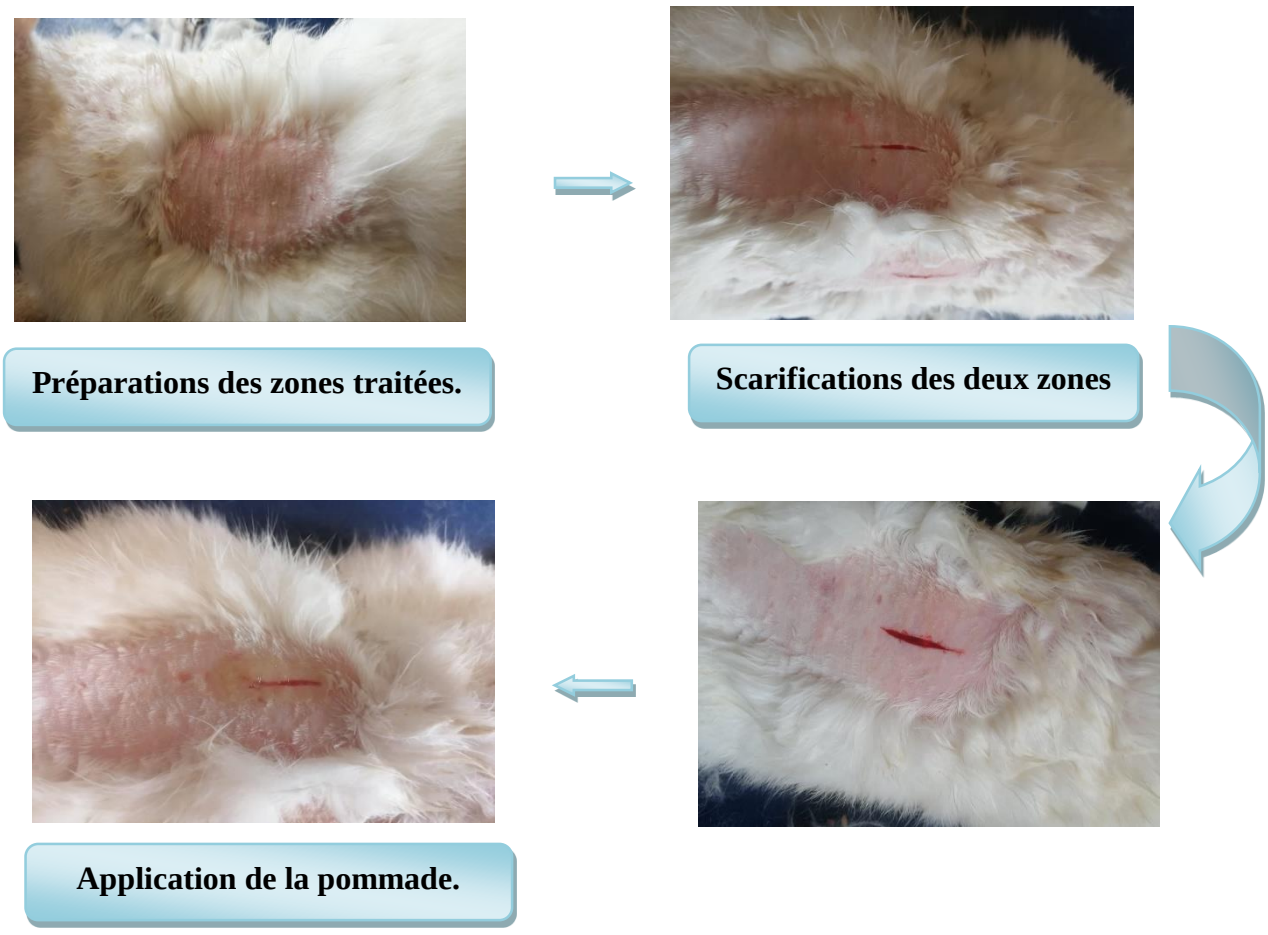


Figure 45 : Technique de scarification, rasage et application de pommade sur lapin.

IV.14 Analyse statistique :

Dans notre travail plusieurs répétition dans l'étude microbiologique et anti-inflammatoire alors on a appliqué la moyenne, il s'agit la somme des répétitions divisé par le nombre des répétitions.

$$\bar{X} = \frac{(X_1 + X_2 + \cdots \ldots + X_n)}{(n)} = \frac{1 \sum X_j}{n}$$

Conclusion

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances.

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales et bon nombre d'entre elles sont des espèces endémiques. Elles constituent une ressource non négligeable en matière de molécules bioactives. Néanmoins, cette ressource reste peu exploitée que ce soit au niveau des études scientifiques ou au niveau économique. La région nord d'Algérie abrite plusieurs espèces endémiques et la plupart d'entre elles sont à usage médicinal.
La biosynthèse des nanoparticules d'argent a reçu une attention croissante dans le domaine de la nanotechnologie en raison de leurs applications antimicrobiennes et biomédicales. La synthèse verte de nanoparticules métalliques est envisagée comme une alternative rentable et écologique dans le scénario de recherche actuel. Le présent travail porte sur le développement de nanoparticules d'argent en solution de nitrate d'argent. Cette étude a permis de faire une corrélation entre l'effet de l'extrait et de la solution nitrate d'argent.

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis 9 souches de référence, les meilleurs résultats ont montré que les extraits de *cistus mensipliensis* et *cistus incanus* et *punica granatum* et *arbutus unedo* et *pistacia lentiscus* presente une forte activité antimicrobienne vis-à-vis *S.aureus , S.épidermidis , P.aeruginosa.*

Des nanoparticules d'argent ont été synthétisées à partir de la méthode de synthèse verte en utilisant l'extrait de feuille de *cistus incanus et pistacia lentiscus*. Les Ag NPs synthétisées ont été étudiées pour leurs propriétés optiques, structurales, morphologiques de surfaces, antibactériennes, cicatrisantes et anti-inflammatoires. Les conclusions suivantes ont été tirées des résultats obtenus dans la présente étude.

L'étude optique montre que l'apparition du pic UV-vis à 444 nm dans le spectre d'absorption implique la formation des Ag NPs et sa forte intensité avec une largeur rétrécie indiquant la taille et la forme homogènes des AgNPs.

Différents composés chimiques présents dans les extraits de plantes ont agi comme agents réducteurs et coiffants lors de la synthèse des NP comme en témoignent les spectres FTIR.

Les Ag NPs synthétisées ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries *S.épidermidis*, *S. aureus*, *B.subtilus*, *P.aeruginosa*, *S.thyphérum*, *E.coli*, et contre la souche fongique *candida albicans.*

Référence Bibliographique

- **Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, Jarrar N, Adwan K. (2004**). Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine.Turk J Biol, 28: 99-102
- **ADIKO Marcelline, BOUTTIER Sylvie, Okpekon Timothée Aboua, LAMBERT Sylvie, AKE-ASSI Laurent, KABLAN Brou Jérome et CHAMPY Pierre (2014).** Phytothérapie traditionnelle des conjonctivites en milieu urbain ivoirien : enquête sur les deux marchés aux plantes médicinales d'Abidjan. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, vol 161, , no 1, p33–45.
- **Adnan M., Obyedul M.K., Alle M., *et al.*, (2020).** Simple and cleaner system of silver nanoparticles synthesis using kenaf seed and unveiling their anticancer and antimicrobial potentials. Journal Nanotechnology in press. doi.org/10.1088/1361-6528/ab7d72
- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres**
- **Ahmad, S. Sharma, R. Rai,(2012).** Rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles using peels of Punica granatum, Int. J. Nanoparticles 5, 185–195.
- **Ain-lhout F., Diaz Barradas M.C., Zunzunegui M., Rodriguez H., Garcia Novo F., Vargas M.A. (2004)**. Seasonal differences in photochemical efficiency and chlorophyll and carotenoid contents in six Mediterranean shrub species under field conditions. Photosynthetica 42 (3): 399-407.
- **Ait-Youssef M. (2006).** Les plantes médicinales en Kabylie. Ed : Ibis presse, Paris.349p.
- **Ajaikumar KB., Asheef M., Babu BH., Padikkala J., (2005)**. Theinhibition of astric mucosal injury by PunicagranatumL. (pomegranate)methanolic extract. J Ethnopharmacol 96(1-2):171-6.

- **Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2014).** Biogenic nano-scale silver particles by Tephro-sia purpurea leaf extract and their inborn antimicrobial activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 121, 164-172.
- **Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2014).** Biogenic nano-scale silver particles by Tephro-sia purpurea leaf extract and their inborn antimicrobial activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spe ctroscopy, 121, 164-172.
- **Al-MAIMAN SA et AHMAD D. (2002)**. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (Punica granatum L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, 76, 437-441
- **AL-SNAFI Ali Esmail (2016).** Antiparasitic effects of medicinal plants (part 1)- A review. IOSR Journal of Pharmacy, vol 6, no 10, p 51-66. Algerian medicinal plants. 112, (2):303–309.
- **Alloune R., Liazid A., Tazerout M. (2012)**. Etudes comparatives de deux plantes
- **Alt V (2004).**An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement", *Biomaterials*, 25, 4383–4391,
- **Anastasaki T., Demetzos C., Perdetzoglou D., Gazouli M., Loukis A., Harvala C., (1999)**. Analyse des diterpènes de type labdane de Cistus creticus (sous-espèces creticus

et sous-espèces eriocephalus), par GC et GC-MS. Planta Med, 65 : p 735-739. and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract. Food Chemistry. 106: 868-873.and their antioxidant role in Cistus sp. under mild and severe treatments of drought and

- **Anderson and J. N. Owens. (2003)**. Analysing the reproductive biology of Taxus :
- **Andrieux - Ledier A., (2012).** Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques. Thèse de doctorat en Chimie-physique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, France, 165p.
- **Angélique S.D., Audureau E., Franco M., *et al.*, (2018).** Substantial modification of the gene expression profile following exposure of macrophages to welding-related nanoparticles. J Sci Rep.; 4 ;8(1) :8554. doi: 10.1038/s41598-018-26988-z.antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (E 0) mice and inassessment of essential and othertrace elements in 14 fruits harvested and consumed in Pakistan.
- **Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H.,**
- **Attaguile G., Perticone G., Mania G., Savoca F., Pennisi G., Salomone S., (2004)**. Cistus incanus et Cistus monspeliensis inhibent la réponse contractile dans le muscle lisse de rat isolé. J. Ethnopharmacol, 92 : p 245-250
- **Attaguile, G., Russo, A., Campisi, A., Savoca, F., Acquaviva, R., Ragusa, N. and Vanella, A. (2000)**. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from Cistus incanus L. and Cistus monspeliensis L. Cell biology and toxicology, 16(2), pp.83-90.
- **Aviram M., Volkova N., Coleman R., Dreher M., Reddy M.K., Ferreira D. Et Rosenblat M. (2008)**. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are
- **Aziba, L., Debbache, B.N., DaCosta, G., Atmani, K.D., Saidenea, N., Ayounia, K., Richard, T.,Atmania, D. (2019)**. Pistacia lentiscus leaves extract and its major phenolic compounds reverse aluminium-induced neurotoxicity in mice. Industrial Crops & Products , 137 , 576–584 .
- **Babo D.(2007)**. l'encyclopédie des fruits, paris, Edition Désris. pp 24.
- **BARRETT Stephen (2016).** Homeopathy: the ultimate fake. *Quackwatch*, vol 30, no 12, p 09.
- **Belfadel F. Z. (2009)**. Huile de fruits de Pistacia lentiscus Caractéristiques
- **Belfadel F.Z. (2009).** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*- Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire Magistère en chimie organique, p19, p 139.
- **Belfennache D., (2010).** Eaboration et etude de nanoparticules Au/TiO2 et Ag/TiO2. Thèse de doctorat en phusique. Faculté des science exactes université mentouri constantine, 94p.
- **Belhachata,** D., **Aidb, F., Mekimene, L., Belhachat** , **M. (2017).**Phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* berries ethanolic extract growing in Algeria. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism , 10 , 273–285
- **Bellakhdar J. (1998)**. Pharmacopée traditionnelle marocaine, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris, 770.

- **Beloued A., (2003)**. plantes médicinales d'Algérie, Alger, OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES.pp 32-3.
- **Bendjabeur S. (2012).** Evaluation du Pouvoir Antioxydant et Antimicrobien des Extraits Végétaux (cas de la grenade *Punica granatum L.*) en Vue de leur Utilisation Alimentaire. Diplôme de Magister en Sciences Agronomiques. Alger : Ecole Nationale Supérieur Agronomique EL-HARRACH, 154 p.
- **Benhammou, N., Atik , B.F., Panovska, T.K. (2007).** Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf . Advances in food sciences ,29 , 155-161.
- **Benhammou, N., Atik B.F., Panovska T.K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts . African Journal of Pharmacy and Pharmacology , 2 ,23-27.
- **Bensegueni A, Belkhiri A, Boulebda N, Keck G. (2007).** Evaluation de l'activité
- **Bernaitis L., Shobha K.L., Ashok M , Revathi P. Shenoy , Jiji Mathew , Diwan Mahmood Khan,(2013).** Comparative Evaluation Of The Antimicrobial Activity Of Ethanol Extract Of *Taxus Baccata, Phyllanthus Debilis, Plectranthus Amboinicus* Against Multi Drug Resistant Bacteria Department Of Microbiology , Department Of Pharmacology , Department Of Biochemistry , Kasturba Medical College, Manipal University, Manipal- 576104, Udupi District, Karnataka, India P :04
- **Bouamama H., Noël T., Villard J., Benharref A., Jana M., (2006)**. Activités antimicrobiennes des extraits de feuilles de deux espèces marocaines de Cistus L. J. Ethnopharmacol.104,104-107.

- **Boudieb, K., Ait , S. S., Amellal, C.H. (2019).** Traditional uses, phytochemical study and morphological characterization of *Pistacia lentiscus* fruits from three areas of northern Algeria.Journal of Applied Biosciences , 135 , 13788 – 13797.
- **Boudieb, K., Ait Slimane, S., Amellal, Ch.H . (2019) .** Effect of Maturation Degree on the Fixed Oil Chemical Composition, Phenolic Compounds, Mineral Nutrients and Antioxidant Properties of *Pistacia lentiscus* Fruits. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca , 47 , 1842-4309.
- **Boullard B. (2001)**. Plantes médicinales du monde croyance et réalités. Ed ESTM. Paris,63p.
- **Boullard B.(2001).** Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance,Ed: Estem, p414, 415.
- **Bourdu R. 1997**. - L'if. Actes Sud, Arles.
- **Bouzid, K. (2015).** Contribution à l'étude des options de valorisation de l'espèce Arbutus unedo L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat 3ème Cycle en Science de l'Environnement, option : Gestion, Valorisation des Ressources Naturelles et Développement Durable. Université Djillali Liabés, Sidi Bel-Abbés, Algérie, 168 p.
- **Bozorgi, M., Memariani, M., Mobli, M., Hossein, M., Salehi S., Reza, M., Ardekani, S., Rahimi,R. (2013).** Five Pistacia species (P. vera, P. atlantica, P. terebinthus, P. khinjuk, and P. lentiscus): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology . The ScientificWorld Journal ,10 , 2-28 .
- **Bozorgi, M., Memariani, M., Mobli, M., Hossein, M., Salehi S., Reza, M., Ardekani, S., Rahimi, R. (2013).** Five Pistacia species (P. vera, P. atlantica, P. terebinthus, P.

khinjuk, and P. lentiscus): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology . The ScientificWorld Journal , 10, 2-28

- **Brosse J. Et Pelet J.M. (2005).** Larousse des Arbres. Ed Larousse. Paris. 576p.
- **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes Médicinales. Technique et Documentation, 3ème Édition, Lavoisier, Paris. Cambridge University Press.Cantonal, Lausanne.
- **Cerda B., Ceron J. J., Tomas-Barberan F. A., & Espin J. C., (2003)**. Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 3493–3501.
- **CHABRIER Jean-yves (2010).** Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie [en ligne]. Thèse de doctorat. Université Henri Poincare – Nancy 1. Évolutive des composés secondaires. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d´Agronomie*
- **Chase M. W(1993).**. Phylogenetics of seed plants, an analysis of nucleotide sequences
- **Chauvel R., (2018).** Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie université claud bernard lyon 1,105p
- **Cheng W.L, Dong SJ and Wang EK (2002).** Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles, *Electrochemistry Communications*, 4(5), 412–416
- **Chidambara Murthy K. N. ,Jayaprakasha G. K. and Singh R. P., (2002)**. Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (Punica granatum) Peel Extract Using in Vivo Models. J. Agric. Food Chem., 50 (17), pp 4791–4795.chimie organique analytique. Archeo Sciences, 37 : p 51-66 p.cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaiesCistaceae (Malvales) based on analysis of plastid rbcL and trnL-trnF sequences
- **Clifford M.N. (1999).** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington. DC, CRC *Press, Boca Raton* Florida, 41 (5), 393-397.colorimetry
- **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews,*12, 564-582.
- **Cowan, M.M. (1999)**. Plant products as anti-microbial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564-582.
- **D'archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. Et Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dellIstituto-Superiore-di-Sanità*, 43(4), 348-361.d'excision chez le rat. Sciences & Technologie C – N°26, décembre (2007), p.83-87.
- **Dahmani R. (2015)**. Etude édapho-floristique du Pistacia lentiscus L. des zones littorales et continentales de l'ouest Algérien. Mémoire de Master en écologie végétale et environnement. Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen, Algérie. 34p.
- **Dahmoune, F., Spigno, G., Moussia, K., Remini, H., Cherbal, A., Khodir Madani, K. (2014).** *Pistacia lentiscu*s leaves as a source of phenolic compounds:Microwave-assisted

extraction optimized and compared withultrasound-assisted and conventional solvent extraction. Industrial Crops and Products , 61, 31–40 .

- **Dalimov D.N., Dalimova G.N. Et Bhatt M. (2003)**. Chemical composition
- **Debbache N., Atmani D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected
- **Delille L. (2007)**. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti. P: 147-148
- **Dell'agli M., Galli G.V., Bulgari M., Basilico N., Romeo S.,Bhattacharya D., Taramelli D. Et Bosisio E. (2010)**. Ellagitannins of the fruit rind of pomegranate (*Punica granatum*) antagonize in vitro the host inflammatory response mechanisms involvedin the onset of malaria. *Malaria Journal*, 9, 208.
- **Derong, L., Mengshi, X., Jingjing, Z., Zhuohao, L., Baoshan, X ., Xindan, L., Maozhu, K. , Liangyu, L., Qing, Z., Yaowen, L., Hong, C., Wen, Q., Hejun, W., Saiyan, C. (2016).** An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes . journal of molecules , 21, 1-19.
- **Dib, M.A.** (**2008**).Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques
- **Dimitra P., Antigoni P.,Vasiliki F., Stella G., Stefanos K., Angelos K., (2014)**. Genus Cistus: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. De face .chem, 2: P 35.
- **Dimitra P., Antigoni P.,Vasiliki F., Stella G., Stefanos K., Angelos K.,(2014)**. Genus Cistus: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. De face.chem,
- **Djearamane S., Ling S.W., Lim Y., *et al.*, (2016).** A Review on Bio-Distribution and Toxicity of Silver, Titanium Dioxide a,d Zinc Oxide Nanoparticls in Aquiatic Environment. J Poll Res. ; 35 (4): 701-712 ; 0257–8050.
- **Doukani K., Tabak S. (2014).**Profil physicochimique du fruit lenj (Arbutus unedo L.).Laboratoire d'agro biotechnologie et nutrition en zones semi arides, Université de Tiaret, Algérie. P 53.
- **E. Et Aguilar C. N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78,189-199.écologique illustré des Montagnes, 2éme édition. IDF, Dijon, p : 1785.
- **Ehrhardt C., Hrincius ER, Korte V., Mazur I., Droebner K., Poetter A., et al. (2007)**. CYSTUS052, un extrait de plante riche en polyphénol, exerce une activité anti-virus de la grippe en culture cellulaire, sans effets secondaires toxiques ni tendance à induire une résistance virale. Antiviral Res, 76 : p 38-47.

- **El Haouari M., Lopez J.J., Mekhfi H., Rosado J.A. And Salido M.G.(2007).** Antiaggregant effects of arbutus unedo extracts in human platelets. J.Ethnopharmacology,325-331.
- **El HAOUARI, M., LÓPEZ, J.J., MEKHFI, H., ROSADO, J.A., & SALIDO, G. M. (2007**). Antiaggregant effects of Arbutus unedo extracts in human platelets. Journal of Ethnopharmacology,113(2),325-331.

- **Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Bragado AC, Gao X and Lara HH(2005).**Interaction of silver nanoparticles with HIV-1", *Journal ofNanobiotechnology*, 3, 1–10,

- **Elgubbi, H., Alfageih, L., Zorab, A., Elmeheshi, F. (2017).** *Pistacia lentiscus* Tree and its Role in Riddance of some Environmental Polluters. ECronicon Open access , 10 , 8-14 .
- **Elham A., Milani M., Fikri A., et al.,(2016).** Silver nanoparticles: Synthesis methods, bioapplications and properties. J Critical Reviews in Microbiology. ; 42 :2, 173-180, DOI : 10.3109/1040841X.2014.912200.
- **Elif Çil ,Sevda Turkis (2017).** The Antimicrobial Effects of Taxus Baccata L. Leaves, Euonymus Latifolius Subsp. Latifolius Seed and Mesocarp.p :7-10
- **Endo E.H., Cortéz D.A.G., Ueda-Nakamura T., Nakamura C.V., Filho B.P.D., (2010)**.Potent antifungal activity of extracts andpure compound isolated from pomegranate peels andsynergism with fluconazole against Candida albicans, Res.Microbiol., 161: 534-540. Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan,Maroc, 100 pp.sciences vétérinaires.
- **Falleh,H.,Ksouri,R.,Chaieb,K.,Karray-Bouraoui,N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008)**. Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379.
- **Favre P. & Jacomet S. (1998).** - Branch wood from the lake shore settlements .
- **Ferreira, S., Santos, J., Duarte, A., Duarte, A.P., Queiroz, J.A., & Domingues, F.C. (2012)**. Screening of antimicrobial activity of Cistus ladanifer and Arbutus unedo extracts. Natural Product Research, 26(16), 1558-1560.
- **Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., & Galdiero, M. (2015).** Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Molecules, 20(5), 8856-8874.from the plastid gene rbcL. Annals of the Missouri botanical garden, 80:528–580,fruiits in the northern region of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **7** (2),238-242.
- **Fu J, Ji J, Fan D and Shen J (2006**). Construction of antibacterial multilayer films containing nanosilver via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan-silver ions complex", *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*,79A (3), 665–674.Generation: Effects of Buffers, Ligands, and Chelators. *Archives of Biochemistry and Biophysique*, 397(02), 360–369.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles
- **GIL MI., TOMAS-BARBERAN F.A., HESS-PIERCE B., HOLCROFT D.M, KADER A.A. (2000)**. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 48(10) :4581-4589.
- **Green R.J. (2004).** Antioxydant activity of peanut plant tissues. Master's Thesis. Department Of Food Science. Faculty of North Carolina State University (USA)**.**
- **Guignard J.L. (2001).** Botanique systématique moléculaire. Ed : Masson. Paris. 290p.
- **Guinoiseau E. (2010)**. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles :
- **Guzmán B., Vergas P.(2009)**. Historical biogeography and character evolution of

- **Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., de Aberasturi, D. J., de Larramendi, I. R., Rojo, T., ... & Mahmoudi, M. (2012).** Antibacterial properties of nanoparticles. Trends in biotechnology, 30(10), 499-511.
- **Hakkinen S.H., Karenlampi S.O., Heinonen I.M., Mykkanen H.M. Et Torronen A.R. (1999).** Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47,2274-2279.
- **Hawkey, P., & Lewis, D. (1994)**. Medical Bacteriology : A Practical Approach (Practical Approach Series, 265). 2ème Édition, Oxford University Press, United-Kingdom,440

- **Hmimsa Y., (2004).**L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels deHorgen Scheller, Switzerland: evidence for economic specialization in the late
- **Hughes I (2002).** Isoprenoid compounds and phenolic plant constituents, Elsevier, New York, N.Y. Sci. Afr. Mag. 9(56)
- **Hynes M.J., O'coinceanainn M. (2001).** The kinetics and mechanisms of the reaction
- **INRAA, (2006).**Institut national de la recherche agronomique d'Algérie ;deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture, p. 68,Algérie.
- **Iserin P. (2001)** .Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soin. 2ième édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296.
- **Iserin P. (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins Ed Larousse.170p.
- **ISERIN Paul (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, Soins. 2eme edition, *Dorling Kindersiey Limited, Londres.*
- **Jahfar M., Vijayan Kk. Et Azadi P. (2003)**. Studies on a polysaccharide from the fruit
- **Jain P and Pradeep T (2005).“**Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter”, *Biotechnology and Bioengineering,* 90(1), 59–63, .
- **Jang, I.J Yang, C.O Tettey, K.M Kim, H.M Shin(2016)**.In-vitro anticancer activity of green synthesised silver nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. Mater Sci Eng, 68: 430 – 435, 2016.
- **Jannathul Firdhouse, P. Lalitha,(2015).** "Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Applications", Journal of Nanotechnology, vol., Article ID 829526, 18 pages, https://doi.org/10.1155/2015/829526, 2015.*Japan*, 38, 141-148).
- **Jemia, M.B., Kchouk, M.E., Senatore, F., Autore, G., Marzocco, S., De Feo, V. and Bruno, M., (2013)**. Antiproliferative activity of hexane extract from Tunisian Cistus libanotis, Cistus monspeliensis and Cistus villosus. Chemistry Central Journal, 7(1), p.47.
- **JORITE sophia (2015).** La Phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel [en ligne]. Thèse de doctorat, Université Bordeaux 2, U.F.R Des sciences pharmaceutiques.*Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 260: 523-531
- **Journal Officiel de l'Union Européenne (2011).** Recommandation de la commission du 18 octobre relative à la définition des nanomatériaux. (2011/969/UE) Consultable sur http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:FR:PDF,

- **Kakhlon O Et Cabantchik Z.I. (2002).** The labile iron pool: characterization,
- **Kalpoutzakis E., Aligiannis N., Skaltsounis A.-L. et Mitakou S.(2003)**. Diterpènes de type Cis-Clérodane de Cistus monspeliensis. J. Nat. Prod. 66:p 316-319.
- **Kawaii S., Lansky EP., (2004)**. Differenciation-promoting activity of pomegranate (Punicagranatum) fruit extracts in HL-60 human promyelocyticleukaemia cells. J. Med. FoodSpring7(1):13-8.

- **Keerawelle B., Chamara A., (2019)**. Green Sunthesis of Silver Nanoparticls via Medicinal Plant Extracts and Their Antibactirial Activities. World Journal of Pharmaceutical Research. ; 8 (7) : 100-111 ; 2277– 7105.
- **Keywan M., Najaf M., Samadian H., *et al.*, (2019).** Redox interactions and genotoxicity of metal-based nanoparticles: A comprehensive review. Journal of Chemico-Biological Interactions. ; 312. doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108814.
- **Khalil E. A. M.,(2004)**. Antidiabetic effect of an aqueous extract of Pomegranate (Punica granatum L.) peels in normal and alloxan diabetic rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine
- **Khan I., Saeed K., Idrees K., (2019).** Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities. Arabian Journal of Chemistry . ; 12 : 908–93.
- **Kivçak B, Akay S. (2005).** Quantitative determination of α-tocopherol in Pistacia
- **Kıvçak, B., Akay, S., Demirci, B., Bahser K. (2004) .** Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus* , *Pistacia lentiscus* var. chia, and Pistacia terebinthus from Turkey. Pharmaceutical Biology , 42, 360–366.
- **Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. (2005).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil and the Gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia. Agricultural and food chemistery , 53 , 7681-7685.
- **Kristina Loziene *et al* (2007) : Kristina Lozˇiene**, Petras R. Venskutonis, Ausˇra Sˇipailiene, Juozas Labokas (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotype, Food Chemistry 103.546–559
- **Kudjued-Bunneton J.-F Et Sauvain M (1989)**. Possibilités de valorisation économique de plantes médicinales et agronomiques en Guyane. En : ORSTOM Centre de Cayenne BP.165- 97 323 cayenne cedex, p164
- **Kudrinskiy, Y. A. Krutyakov.(2010).** Mater. A. T. Le, L. T. Tam, P. D. Tam, P. T. Huy, T. Q. Huy, N. V. Hieu, A. A Sci. Eng. C. 30, 910.
- **Kulkarni A.P Et Aradhya S.M. (2005)**. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry*, 93, 319-324.L'ingénieur.M. Ricaud et O. Witschger, « LES NANOMATERIAUX. DEFINITIONS, RISQUES TOXICOLOGIQUES, » *Inst. Natl. Rech.*, pp. 1-52,
- **Lahsissene, H., Kahouadji, A. and Hseini, S., 2009**. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). Lejeunia, revue de botanique.
- **Lansky E.P Et Newman R.A. (2007)**. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal Ethnopharmacol*, 109 (2),177-206.
- **Laraoui H. (2016)**. Métabolites secondaires de Fumana montana et Fumana thymifolia
- **Legssyer, A., Ziyyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M., Herrenknecht, C., Roumy, V., Fourneau, C., Laurens, A., Hoerter, J., & Fischmeister, R., (2004).** Tannins and

catechin gallate mediate the vasorelaxant effect of Arbutus unedo on the rat isolated aorta. Phytotherapy Research, 18(11), 889–894lentiscus,Pistacia lentiscus var. chia and Pistacia terebinthusby TLC-densitometry and

- **Li D, Hong BY, Fang WJ, Guo YS and Lin R(2010)**. Preparation of well-dispersed silver nanoparticles for oil-based nanofluids, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(4), 1697–1702,
- **Li W., Xiao-Bao X., Qing-Shan S., (2011).** Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. J Biometals. ; 24 :135–141 DOI 10.1007/s10534-010-9381-6.lignins of tomato and pomegranate seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 37-40.
- **Lydia Siegle et Jörg Pietsch.(2017).** Dresden University of Applied Science,Faculty of Agriculture/Environment/Chemistry, Dresden, Germany, Institute of Legal Medicine, Medical Faculty Carl Gustav Carus, Dresden Technical University, Dresden, Germany, p :5-6.DOI: 10.1002/pca.2748
- **Machado TB., Pinto AV., Pinto MCFR., Leal ICR., Silva MG., Amaral ACF.,Kuster RM., Netto-dos Santos KR., (2003)**.In vitro activity of Brazilianmedicinal plants, naturallyoccurring naphthoquinones and their analoguesagainst methicillin-resistant Staphylococcus aureus. International Journal ofAntimicrobial Agents 21, 279-284.

- **Madrigal-Carballo S., Rodriguez G., Krueger C.G., Dreher M. Et Reed Jd. (2009)**. Pomegranate (Punica granatum L.) supplements: authenticity, antioxidant and polyphenol composition. *Journal Funtional Foods*, 1, 324-329
- **Malheiro, R., Sousa, A., Casal, S., Bento, A., & Pereira, J.A., (2011)**. Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned tableolives.FoodandChemicalToxicology,

- **Mariotto, S., Ciampa, A.R., De Prati, A.C., Darra, E., Vincenzi, S., Sega, M., Cavalieri, E., Shoji, K., & Suzuki, H. (2008)**. Aqueous extract of Arbutus unedo inhibits STAT1 activation in human breast cancer cell line MDA-MB-231 and human fibroblasts through SHP2 activation. Medicinal Chemistry, 4(3), 219-228. measurement, and participation in cellular processes1. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(8),1037–1046.
- **Mekhfi, H., El Haouari, M., Bnouham, M., Aziz, M., Ziyyat, A., & Legssyer, A. (2006)**. Effects of extracts and tannins from Arbutus unedo leaves on rat platelet aggregation. Phytotherapy Research, 20(2), 135-139.

- **Mendes, L., De Freitas, V., Baptista, P., & Carvalho, M. (2011**). Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaf and fruit. Food and Chemical Toxicology, 49(9), 2285-2291. Méridionales ; Vols Ii. Ed Cnrs, Paris, France ; 592p
- **Meznia, F., Labidia, A., Larbi, K.M., Martine, L., Berdeaux, O., Khaldi, A. (2016) .** Diversity of Sterol Composition in Tunisian *Pistacia lentiscus* Seed Oil . Chem. Biodiversity , 13, 544 – 548 .
- **Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T.C. (2000)**. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells : Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacological Reviews, 52(4), 673-751.

- **Miguel, M.G., Faleiro, M.L., Guerreiro, A.C., & Antunes, M.D.(2014)**. *Arbutus unedo* L.: Chemical and Biological Properties. *Molecules*, *19*(12),15799-15823.
- **Mirdehghan S.H Et Rahemi M. (2007)**. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (Punica granatum L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111,120-127.
- **Mirosława Krauze-Baranowska, Z. Naturforsch 59c(2004).**Department of Pharmacognosy, Medical University of Gdan˜ sk, Gen. J. Hallera 107 str., 80-416 Gdan˜ sk, Poland. P : 05 .

- **Mohamed Asif , Ghazala H Razwani ,Hina Zahid, Zahid Khan,Rao Qassim,(2016)**. Études pharmacognostiques sur Taxus baccata L. : une brillante source d'agents anticancéreux.

- **Moideen, S., & Prabha, A. (2014).** Green synthesis of silver nanoparticles using Luffa Acutangula Roxb. Var. Amara. Lin, and it's antibacterial activity. Int. J. Pharm. Bio. Sci, 5(4), 1051-1061.moléculaire. Université de Corse, 149 p.montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek
- **Moret J.-L. & Richoz I. (2000)**. - L'if, portrait de botanique. Musée Botanique
- **Morris R. (2007)**. Plante for a future, Edible, Medecinal and Useful plants for healthier world, plantes for a futur.70p. 2ème Ed, Larousse, Londres. 275p.
- **Moualek I., Iratni G.A., Mestar N.G., Lahcene S And Houali K. (2016).**Antioxidant and anti-inflammatory Activities of Arbutus unedo aqueous extract.Asian Pacific Journal of tropical Biomedicine, Volume 6, p-937-944.
- **MOUALEK, I. (2018).** Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'Arbutus unedo de la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques‹Option : Biochimie Appliquée et Biotechnologie. Université Mouloud MammeriTizi-Ouzou,Algérie,
- **Moualek, I., Iratni Aiche, G., Mestar Guechaoui, N., Lahcene, S., & Houali, K. (2016)**. Antioxidant and anti-inflammatory Activities of Arbutus unedo aqueous extract. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6(11), 937-944

- **MTIMET Issam,(2011).**'Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d"argent'', thèse de doctorat, INSA de Rouen, 156.
- **Murphy K. N., Reddy V. K., Veigas J. M. and Murthy U. D., (2004)**. Study on wound healing activity of Punica granatum peel. J Med Food Summer 7(2):256-9.

- **Nair, A. Sasidharan, S. Nair, and S. Raina(2008).**Role of size scale of ZnO nanoparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cells, *J.Mater.sci.*, 20, S235-S241.
- **Nasrollahzadeh M., Mahmoudi-Gom Y., Motahharifar N., *et al.*, (2019).** Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications ». J Chem. Rec. ; 19 :1-45. doi.org/ : 10.1002/tcr.201800202.*Natural Products*, 67: 2096-2098.Neolithic period. Vegetation History and Archaeobotany 7 (3): 167-178.
- **Newman D. J.(2007)**. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years, J Nat Prod. Mar;70(3):461-77.

- **Nicolas G., Elisabeth D. (2013)**. Une offrande de ciste dans une tombe carthaginoise
- **Nogués I., Medori M., Calfapietra C., (2015)**. Limitations of monoterpene emissions
- **O'CONNELL J.E Et FOX P.F. (2001).** Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products : a review. *International Diary Journal*,11(3),103-120.of iron(III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and catechin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 85(2-3): 131–142.oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie. Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa, 19 – 22.
- **Oliveira, I., Sousa, A.S., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., & Pereira, J.A., (2008)**. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (Juglans regia L.) greens husks. Food and Chemical Toxicology, 46(7), 2326-
2331.

- **Ophélie Z., (2008).** Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat en Physicochimie. L'université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 330p.
- **Orak, H. H., Yagar, H., Isbilir, S.S., Demirci, A.Ş., Gümüs, T., & Ekinci, N. (2011)**. Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaf. Food Science Biotechnology, 20(5), 1249-1256. Organisms. Diversity & Evolution, 9: 83–99.
- **Orhan, N., Aslan, M., Şüküroğlu, M. and Orhan, D.D. (2013)**. In vivo and in vitro antidiabetic effect of Cistus laurifolius L. and detection of major phenolic compounds by UPLC–TOF-MS analysis. Journal of Ethnopharmacology, 146(3), pp.859-865
- **Oves, M., Aslam, M., Rauf, M. A., Qayyum, S., Qari, H. A., Khan, M. S., ... & Ismail, I. M. (2018).** Antimicrobial and anticancer activities of silver nanoparticles synthesized from the root hair extract of Phoenix dactylifera. Materials Science and Engineering: C, 89, 429-443.
- **Ozcal N Et Dinc S. (1993).** Evaluation of the pomegranate (*Punica granatum L*.) peels from the standpoint of pharmacy. *Eczacılık Fakultesi Dergisi*, 22, 21-29.
- **P. Phanjom, E. Zoremi, J. Mazumder, M. Saha, S.B. Baruah,(2012)** Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of Myrica esculenta, Int. J. Nanosci. Nanotechnol. 3, 73–79.
- **Parmar HS., Kar A., (2008)**. Medicinal values of fruit peels from Citrus sinensis, Punica granatum, and Musa paradisiaca with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. J. Med. Food, 11: 376-381.

- **Paul Dk Et Shaha P.K. (2004).** Nutrients, vitamins, mineral content in common citrus
- **Peer R., (2014)**. Phenolische Inhaltsstoffe in Cistus incanus Tee – Charakterisierung und Physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Thèse de magister en chimie organique. Université Mentouri, Faculté des sciences exactes, Constantine, 117 p.
- **Polese J.M. (2010).** Arbres et arbustes de Méditerranée. Ed EDISUD, Imprimé en UE.135p.polyphénols présents dans Arbutus unedo L., Thèse de Doctorat, Tlemcen**,** pp 140

- **Prateek M., Ramateke S., Jain N.K., (2017).** Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. Artificial cells nanomedcine and biotechnology journal. ; doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825properties of strawberry tree(Arbutus unedo L.)Fruits. Journal Food science and technology, 5(1) : 29-33.prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 04, 162-169.
- **Psotova J., Kolar M., Sousek J., Svagera Z., Vicar J. Et Ulrichova J.(2003).** Biological activities of Prunella vulgaris extract. *Phytother Res*, 17(9),1082-7.Quercetin complexes in aqueous solutions: spectroscopic and kinetic properties. *Journal of Molecular Structure*, 744-747, (SPEC. ISS.) 759-766.
- **Quezel P (1963**). Santa S. Nouvelle flore de l'Algerie et des r ´ egions d ´ esertiques m ´ eridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II. Ed. CNRS, Paris.
- **Quezel P., Santa S. (1963)**. Nouvelle Flore De L'Algérie et des Régions Désertiques
- **Rajeshkumar S., Bharath L.V., (2017).** Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. Chemico-Biological Interactions Journal. doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019
- **Rameau J C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., Bardat J., Bruno E., Keller R. (2008).** Flore foresttère française, région Méditerranéen. Guide écologique illustré 3 2426
- **Rameau. JC, Mansion D et G. Dumé ,(1993)**. Flore forestière française : guide
- **Reddy M. K., Gupta S. K., Jacob M. R., Khan S. I., & Ferrira, D.,(2007)**. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from Punicagranatum L. Planta Medicine, 73(5), 461–467.
- **Renata D.L., Seabra B., Durán N., *et al.*, (2012).** Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. J. Appl. Toxicol. ; 32 : 867–879. doi :10.1002/jat.2780
- **Reyes M., Benjamín O., Manuel C., *et al.*, (2018).** Antimicrobial Engineered Nanoparticles in the Built Cultural Heritage Context and Their Ecotoxicological Impact on Animals and Plants : A Brief Review. J. Heritage Science. ; 6 (1) : 52.doi.org/10.1186/s40494-018-0219-9.rind of *Punica granatum*. *Research Journal of Chemistry and Environment*, **7**, 43-50.rôles et intérêts. phythérapie, 14 : P 44-57.
- **RWANGABO Pierre claver (1993).**La médecine traditionnelle au Rwanda. KARTHALA Edition.
- **Saadi, B., F. Msanda, and H. Boubaker** (**2013)**. Contributions of folk medicine knowledge in Southwestern Morocco: the case of rural communities of Imouzzer Ida Outanane Region. International Journal of Medicinal Plant Research, 2(1): p. 135-145.
- **Sang H., Jun B., (2019).** Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. Int. J. Mol. Sci. ; 20 : 865. doi :10.3390/ijms20040865
- **Santagati, N.A., Salerno, L., Attaguile, G., Savoca, F. and Ronsisvalle, G., (2008)**. Simultaneous determination of catechins, rutin, and gallic acid in Cistus species extracts by HPLC with diode array detection. Journal of chromatographic science, 46(2), pp.150-156.
- **Schwartz E., Tzulker R., Glazer I., Bar-Ya'akov I., Wiesman Z.,Tripler E., Bar-Ilan I., Fromm H., Borochov-Neori H., Holland D. Etamir R. (2009)**. Environmental

conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions' fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57 (19), 9197-9209

- **SEBIH Fatiha (2019).** Pharmacognosie.. Université des sciences et de la technologie d'Oran : « MOHAMED BOUDIAF ».seed. *Bulletin of the College of Agriculture and Veterinary Medicine Nihom University of*
- **Selmane, S. (2012).** La synthèse des nanoparticules de silicium dans un milieu liquide par l'abla-tion laser (Doctoral dissertation séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat : biochimie-biologie should it be included in Coniferales ? Acta Horticulturae, 615 :233–234.
- **Simchi, Ahmadi R, Seyed Reihani SM and Mahdavi A**,**(2007).** Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process, *Materials and Design*, 28, 850–856,
- **Sivarajan VV., Balachandran I. (1994)**. Ayurvedic drugs and their plant sources. In: Mohan P, editor. Oxford : IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.
- **Smith MW, Ambudkar IS, Phelps PC, Regec AL, and Trump BF(1987**). HgCl2-induced changes in cytosolic Ca2+ of cultured rabbit renal tubular cells. *Biochem. Biophys*. Acta 931: 130.
- **SOFOWORA Abayomi (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala Editions,
- **Soualeh N., Soulimani R. (2016)**. Huiles essentielles et composés organiques volatils,
- **Sousa,A.,Ferreira,I.C.F.R.,Calhelha,R.,Andrade,P.B., Valentão, P., Seabra, R., Estevinho,L.,Bento,A.,&Pereira,J.A., (2006)**. Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives « Alcaparra ».

- **Spichiger R E., Savolainen V., et al. (2004)**.Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes. Troisième édition. 2004. 413 pages.
- **Spilmont.M (2013).**intérêt de la grenade dans la prévention nutritionelle de l'ostéoporose : role des fractions lipidiques et polyphénoliques , approches physiologiques , cellulaires et moléculaires , Médecine humaine et pathologie.univversité d'auvergne-clermont-ferrand 1.
- **Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., & Upadhyay, S. N. (2016).** Green synthesis of silver nanoparticles: a review. Green and Sustainable Chemistry, 6(1), 34-56.Stabilität innerhalb der Teezubereitung. Thèse de doctorat: Lebensmittelchemie.
- **Stéphanie George, Nicolas Lamproye,(2012).** « Caractérisation des nano-objets ». Tech
- **Storey T (2007).**la grenade,le fuit médicament.NEXUS.n°51,pp.46-54.
- **Swamy MSL., Naveen S., Singsit D., Naika M., Khanum F.,(2011)**. Anti-fatigue effects of polyphenols extracted from pomegranate peel. International journal of integrative biology, vol. 11, n° 2, 69-72.
- **T. Textor, M.M.G. Fouda, B. Mahltig,(2010).** Appl. Surf. Sci. 256, 2337-2342.
- **Thomé O. W. (1885)**. - Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Gera.

- **Torreggiani A., Tamba M., Trinchero A. Et Bonora S. (2005).** Copper(II)–
- **Tran Q., Nguyen V.,** ***et al.,*** **(2013).** Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives.doi.org/doi:10.1088/2043-6262/4/3/033001. Adv. Nat. Sci. : Nanosci. Nanotechnol journal. ;033001 :20.
- **Tran Q., Nguyen V., et al., (2013).** Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives.doi.org/doi:10.1088/2043-6262/4/3/033001. Adv. Nat. Sci. : Nanosci. Nanotechnol journal. ;033001 :20.
- **Tsuyuki H., Itoh S. Et Nakatsukasa Y. (1981)**. Studies on the lipids in pomegranate
- **Tutin, T.G., V. HEYWOOD, and N. BURGES, Rosaceae to Umbelliferae. (1968)**.Universität Hamburg, 179 p.Université Mebtouri. Constantine. p. 21-100
- **Vidrih J., Hribar J., Pergomet Z., Poklar U N. (2013)**. The physico-chemical
- **VIRIOT ANNE-CLAIRE(2020).**Un point sur la gemmothérapie en 2012. 2015. Thèse de doctorat. WHO/2019-nCoV/Antigen_Detection/vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
- **Viuda-Martos M., J. Fernandez-Lopez. Et Perez-Alvarez J.A. (2010)**.Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9 (6), 635-654
- **Waheed S, Siddique N, Rahman A, Zaidi Jh, Ahmad S. (2004)**. INAA for dietary
- **Wald E. (2009).** le grenadier punica granatum :plante historique et evolution thérapeutique récentes.université Henri poincare.Thése.158p.
- **Wang and Gu BH(2012).** Preparation and Characterization of Silver Nanoparticles at High Concentrations, *ACS Symposium Series*, 878, Chapter 1, 1–14.
- **Wang Rf, Xie W.D., Zhang Z, Xing D.M., Ding Y., Wang W., Ma C. Et Du L.J.**warming. Environmental and Experimental Botany, 119 : p 75-86.
- **Welch K.D., Davis T. Z. Et Aust S.D. (2002).** Iron Autoxidation and Free Radical
- **Willner, R. Baron and B. Willner (2006).** Growing metal nanoparticles by enzymes, *Advance Material*, 18, 1109–1120
- **Wisam H *et al* (2017) : H.M. Wisam.,** T.K. Nahla**,.** Nahla Tariq**.** Antioxidant Activities of Thyme Extracts**.** Pakistan Journal of Nutrition.2017 **.**17(1):46
- **Zhang X., Liu Z., Shen W., et al., (2016).** Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. Int. J. Mol. Sci. ; 17 : 1534 ; doi :10.3390/ijms17091534
- **Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., & Benjelloun, W.(1997)**.Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of Ethnopharmacology, 58(1), 45-54.
- **Zoreky NS., (2009)**. Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatumL.) fruit peels. International Journal of Food Microbiology 134, 244-248.

ANNEXES

ANNEXE A :

1. Les milieux de culture utilisée :

- **Eau physiologique :**

Chlorure de sodium 8.5g

Peptone 0.5g

Eau distillé ..... 1000 ml

PH 7

- **Gélose Muller Hinton :**

Extraits de boeuf 2g

Hydrolysat de caséine ..... 17.5 g

Amidon mais 1.5g

Agar 17g

Eau distillé 1L

PH 7.5

- **Gélose de SABOURAUD :**

Peptone ..... 10 g

Dextrose ..... 20 g

Chloramphénicol ..... 0.5 g

Agar ..... 15 g

Eau distillé ..... 1 L

PH 5.7

2. Définitions :

Tween 80 Ou Polysorbate 80, Monolèate de sorbitane polyxyèthylène, le polysorbates 80 est un produit synthétique fabriqué à partir de sorbitol (E420), en effet est un tensioactif non ionique d'origine végétale utilisé comme un excellent solubilisant pour les huiles essentielles et a de bonnes fonctions en tant qu'agent mouillant, modificateur de viscosité, stabilisant et agent dispersant. Il est utilisé pour préparer une grande variété de produits dans les industries alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, textile et métallurgique

3. Les antibiotiques :

L'amoxicilline : C'est un antibiotique de la famille des bêta-lactamine, indiqué dans le traitement à des infections bactérienne à germe sensible, leur mécanisme d'action bactéricide en inhibant la transpeptidase, enzyme essentielle, présente sur la membrane cytoplasmique, qui commande la synthèse du peptidoglycane ou muréine, constituant essentiel de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

Diclofénac : Le diclofénac est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques. Il possède les propriétés suivantes : activité antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et inhibition de courte durée des fonctions plaquettaires.

ANNEXE B :

Matériels et produits chimiques

1- Matériel du laboratoire :

- Spectrophotomètre UV/visible type lambda 25 Perkin Elmer.
- Plaque chauffante avec Agitation de type Stuart UC 152 utilisé pour la préparation des milieux de culture.
- Autoclave pour la stérilisation des solutions et les milieux de cultures.
- Rotavapeur RE300 Cole-Parmer pour la séparation du solvant de l'extrait.
- Filtres stériles (whatmanfilterpapers) à porosité de diamètre de 150mm utilisé pour la filtration de homogénat/filtrat et la solution.
- Disque imbibé Schleicher &SchuellØ 9 mm pour l'antibiogramme.
- Toutes les pesées sont effectuées à l'aide d'un Balance à précision de type Denver avec l'incertitude de d=0,1 mg.
- Bain marie pour chauffer un récipient dans un bain d'eau en fonction de la température souhaitée
- Pour l'utilisation microbiologique on a utilisé Vortex de type VELP.
- Etuve utilisé pour l'incubation des microorganismes.
- Fisher-Lilly (Antibiotic Zone Reader) utilisé pour mesuré les zones d'inhibitions.
- Verreries : ballons, fioles, entonnoirs, béchers, tube à essai, Pipettes, erlenmeyer, ampoule à décanter,

- Homogénéisateur de type (IKA T 25 ULTRA-TURRAX) pour homogénéiser les compositions dans la formulation du gel buvable.
- Viscosimètre de type BROOK FIELD pour mesurer la viscosité du gel.
- pH-mètre pour mesurer le pH des pommades et gel.

2- Les produits chimiques et les solvants :

• Ethanol 96%	•DPPH
• Acétone	•Twin 80
• Eau distillée	• Gomme xanthane
• Mueller Hinton	•Soja Agar
• Eau physiologique 0.9%	•Saccharose
• Sulfate de magnésium (MgSO4)	•Arome d'orange
• Benzoate Sodium	• Para Hydroxybenzoate de Méthyl
• Acide ascorbique (vit C)	• Huile végétale de menthe poivrée
• Glycérol	• Gomme xanthane