



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Lakdhar- EL OUED- Université d'Echahid Hamma

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Biosynthèse verte de nanoparticules Ag/Ag₂O à partir de
Pimpinella anisum L et évaluation comparative de leurs activités
biologiques : Propriétés anti-inflammatoire, antibactérienne,
anxiolytique et antidépresseur**

Présenté Par :

M^{elle} : GUEDDA Soundes

M^{elle} : GUEDDA Nardjes

Devant le jury:

Président :

Président	Dr. HOUMRI Nawel	M.C.B	Université d'El Oued.
Examineur	Dr. MAHALLOU Zineb	M.C.B	Université d'El Oued.
Promotrice	Dr. LAIB Ibtissam	M.C.B	Université d'El Oued.
Co-Promoteur	Dr. BENALI Anis	Docteur	Université d'El Oued.

Année universitaire : 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Au début de ce travail, nous remercions Dieu Tout-Puissant pour la santé et le bien-être qu'il nous a accordés, et pour nous avoir donné la force, la détermination et la volonté qui nous ont aidés à mener à bien cet effort

Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude à nos estimés encadrants, Dr.Laib Ibtissam et Dr. Anis Ben Ali, de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université Martyr Hama Lakhdar à El Oued, pour leurs efforts inlassables dans le suivi de nos travaux, ainsi que pour les commentaires constructifs et les précieux conseils qu'ils nous ont fournis, qui ont été la pierre angulaire de ce travail. Nous exprimons également notre gratitude pour leur soutien et leur confiance continus, qui ont été pour nous une source de motivation

Nous tenons également à remercier les estimés membres du jury pour avoir pris le temps d'évaluer ce travail et pour leurs commentaires, que nous apprécions grandement

Nous ne devons pas oublier d'exprimer nos remerciements et notre reconnaissance à tous nos éminents professeurs qui ont été pour nous des phares de connaissances durant nos années universitaires

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui, directement ou indirectement, nous ont aidés, soutenus ou encouragés tout au long de la préparation de ce travail.



إهداء

وأخـر دعوهم أن الحمد لله رب العالمين

الحمد لله الذي يسر لي البدايات وأكمل لي النهايات وبلغني الغايات ما أنهي درب ولا خنر جهد ولا قر سعي إلا بفضل الله فالحمد لله عند البدء وعند الختام، الروح من فرط السعادة توهجت لحظة لظلمة انظر لها وحلمت لها اهدي هذا النجاح

إلى من جعل الله الجنة تحت قدميها، إلى من سهرت الليالي لراحتي، وأفنت عمرها بدعائها لي، إلى تلك الإنسانية العظيمة التي لظلمة منيت أن أقر عينها في يوم كهذا... إليك يا أمي، كل الحب، وكل الامتنان، وكل الفخر. واسأل الله أن تحفظك ويرزقك الصحة والعافية....

إلى من أحل اسمه بكل افخار إلى من كلله الله بالهبة والوقار والذي العزيز منعه الله بالصحة والعافية....

إلى الأعمدة الثابتة في الحياة، الداعمين الساندين أروحي الصلبة وجداري المنين إلى من مدت أياديهم في أوقات الضعف ويؤمنوا بشجاعتهم مهما ضعفت واقفين خلفي إلى من شد الله لهم عضدي فكانوا خير معي إلى اخوتي واخواتي

إلى زوجي الحبيب، رفيق الدرب، وداعمي الأول، من منحني الحب والصبر في كل لحظة وإلى عائلتي الثانية لم تكن مرحلة النضج سهلة لكنها أصبحت أجمل بكثير بوجودكم بجانبني. إلى شريكتي في هذا العمل، وصاحبة العزم والمثابرة، فلك مني كل التقدير والاحترام. إلى أصدقائي الأوفياء الذين شاركوني رحلة الجد والاجتهاد والذين كانوا دائما خير رفقة.

أقدم بجزيل الشكر والتقدير إلى الأساتذة العايب ابنسار على إشرافها الكريم، وتوجيهاتها السديدة، ومنابعها المستمرة التي كان لها بالغ الأثر في إنجاز هذا العمل، فلكم مني خالص الامتنان والتقدير. وأخيرا أسأل الله أن يجعل هذا النضج بداية خير لي في حياتي وأن يوفقي لما فيه صلاح ديني ودنياي

هـ سندس قرة





إهداء

الحمد لله الذي بعمنه تميز الصالحات أكرمني الله بتحقيق حلمٍ لطالما انظرته، وها أنا ألمس ثماره، وما كان ذلك إلا بفضل الله وكرمه، فهو السميع للدعاء، القريب من القلوب، وما خاب من دعاء بالبحاح، ولا من طرق بابه، برّ جاء. أهدي هذا النجاح لنفسي أولاً، ثم إلى كل من سعى معي في هذه المسيرة المباركة.

أمي العزيزة:

أعز وأغلى إنسانة في حياتي، التي أنارت دربي بصائحها، وكانت نورا صافيا تجري بفيض الحب، إلى من منحني القوة والعزيمة لمواصلة الدرب، إلى من علمني الصبر والاجتهاد، إلى من كانت الأمان في خوفي، والنور في ظلامي.

﴿وَقُلْ رَبِّ ارْحَمْهُمَا كَمَا رَبَّيَانِي صَغِيرًا﴾

والدي العزيز:

إلى من كلله الله بالهبة والوقار، إلى من علمني العطاء دون انظار، إلى من أفضى بحمل اسمه في كل حين، إلى قدوتي الأولى.

إخوتي وأختي الأعزاء:

الذين كانوا لي وطنًا، وسندًا لا يميل، وفرحة لا تنتهي، فما زادني الحياة فيكم إلا فخرًا ومحبة، فلكم في القلب مكان لا يُزاح.

أساتذتي الفاضلة:

التي كانت قبسًا من نور، وأثرًا لا ينسى، شكرًا لك على ما بذلته من علم، وعلى دفء التوجيه، وحسن العطاء رغم

تعدد مسؤولياتك

"وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ"

صديقتي الغالية:

رفيقة الحلم والدرب، ونصف الفرح، التي إن ذكر الوفاء ذكرت، وإن سئل عن الصبر كانت قدوته

فكانت نعم الرفيقة في الطريق، والثابتة في الزمان المقلّبة.

وفي الختام ما عسانا أن نقول: ﴿دَعَا هُمْ فِيهَا صُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ وَفَجَّيْنَاهُمْ فِيهَا سَلَامٌ ۖ وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ

العالمين﴾

هنا نرجس قرة



Table de matière

Remerciements	
إهداء.....	
إهداء.....	
Table de matière	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	1

Partie Théorique

Chapitre I : *Pimpinella anisum*. L

1. Généralités	6
2. Description botanique	7
3. Répartition géographique	8
4. Classification.....	9
5. Dénomination internationale.....	9
6. Composition biochimique de la graine d'anis vert	10
6.1 Lipids.....	10
6.2 Huile essentielle	10
6.3 Composés phénoliques.....	11
7. Activités Biologiques de <i>P.anisum</i> L.....	11
7.1 Activité parasiticide et insecticide.....	11
7.2 Activité antifongique	12
7.3 Activité antibactérienne.....	12
7.4 Activité antiulcéreuse	12
7.5 Activité antioxydant	12
7.6 L'effet bénéfique de <i>P.anisum</i> L sur le système nerveux	12
7.7 Toxicité de <i>P.anisum</i> L	13

Chapitre II : Nanoparticules d'argent et l'activité biologique

1. Nanotechnologie	16
2. Nanoparticules d'argent	16
2.1 Présentation générale de l'argent	16

2.2 Nanoparticules d'argent	17
3. Méthodes de synthèse des nanoparticules.....	17
3.1 Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules.....	18
3.2 Méthodes biologiques (Synthèse verte)	19
4. Synthèse verte des AgNPs	19
4.1. Mécanisme de la synthèse verte des NP par les plantes.....	20
4.2. Métabolites secondaires dans la synthèse verte des NP médiée par les extraits de plantes.....	21
5. Paramètres de fonctionnement pour la production de nanoparticules d'argent.....	21
5.1 Effets de la concentration.....	21
5.2 Effet du rapport volumique:	22
5.3 Effet du temps de contact et de la température	22
5.4 Effet du pH.....	23
6. Caractérisation des nanoparticules d'Argent :	23
6.1 UV Visible.....	24
6.2 La diffraction des rayons X (RDX).....	24
6.3 La spectroscopie Infrarouge à transformée de fourrier.....	24
6.4 La microscopie électronique à balayage (MEB)	25
6.5 Caractérisation structurale des nanoparticules métalliques par Microscopie Electronique à Transmission (MET)	25
7. Applications des nanoparticules d'argent	25
7.1 Activité antimicrobienne	26
7.2 Activité antifongique.....	26
7.3 Activité antivirale.....	27
7.4 Activité anti-inflammatoire	27
7.5 Anticancéreux.....	27
7.6 Textiles.....	28
7.7 L'industrie alimentaire	28
7.8 Activité catalytique	28

Partie expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes

1. Matériel	31
1.1. Matériel végétal.....	31
1.2. Animaux.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
1.3. Souches bactériennes	32

1.4. Produits chimiques et réactifs	32
2. Méthodes.....	32
2.1. Analyse phytochimique de <i>P.anisum L</i>	32
2.1.1. Extraction de l'extrait aqueux de <i>P.anisum L</i>	32
2.1.2. Rendement d'extraction.....	33
2.1.3. Analyse phytochimique	33
2.1.4. Quantification des composés phytochimiques.....	34
2.1.4.1. Estimation des composés phénoliques	34
2.1.4.2. Quantification des flavonoïdes	35
2.2. Synthèse verte des nanoparticules d'argent	35
2.2.1. Caractérisation des AgNPs	35
2.2.1.3 Diffraction des rayons X (DRX)	36
2.2.1.4. Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie dispersive en énergie (EDX).....	36
2.3. Activité <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux de <i>P.anisum L</i> , des nanoparticules d'argent	37
2.3.1. Activité antioxydante	37
2.3.1.1. Activité anti-radicalaire DPPH :.....	37
2.3.1.2. Dosage du pouvoir réducteur (RP):.....	37
2.3.1.3. Dosage du phosphomolybdate (capacité antioxydante totale)	37
2.3.2. Activité hémolytique	38
2.3.4. Activité anti-inflammatoire	39
2.3.5. Dosages de l'activité antibactérienne.....	39
2.4. Activité <i>in vivo</i> de l'extrait aqueux de <i>P.anisum L</i> et des AgNPs.....	40
2.4.1. Activité antidépressive	40
2.4.2. Évaluation du pouvoir analgésique	41

Chapitre II : Résultat et Discussion

I. Résultats et discussion.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
1. Analyse phytochimique de <i>P.anisum L</i>	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
1.1. Rendement de <i>P.anisum</i>	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
1.2. Criblage phytochimique.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
1.3. Composés phytochimiques	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
2. Caractérisation des nanoparticules d'argent	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
2.1. Analyse par spectroscopie FTIR.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
2.2. Structure cristalline et composition	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
2.3. Étude morphologique.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.

3. Activité antioxydante de l'extrait de <i>P.anisum L</i> et des nanoparticules d'argent biosynthétisées.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
3.1. Activité antioxydante (DPPH, RP, TAC)	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
3.2. Activité anti hémolytique.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
3.3. Dosage du facteur de protection anti solaire (Anti SPF)	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
3.4. Activité anti-inflammatoire.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
3.5. Tests antibactériens.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
4. Activité in vivo de l'extrait aqueux de <i>P.anisum L</i> et étude des AgNPs	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
	معرفه.
4.1. Activité antidépressive.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
4.1.2. Test de suspension arrière	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
4.2.2. Essai de torsion.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Conclusion.....	44
Références	71
Appendice.....	87

Liste des figures

Figure 01 : a: plante de <i>P.anisum</i> L , b : fleurs, c : la forme des graines sur la plante, d : graines séchées	8
Figure 02 : Répartition géographique de l'anis vert ou <i>P.anisum</i> L.....	9
Figure 03 : Composes majeurs de l'huile essentielle de graines de <i>P.anisum</i> L.....	11
Figure 04 : Synthèse des nanomatériaux (NPs) VIA approches top-down et bottom-up	17
Figure 05 : Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules	18
Figure 06 : Un schéma décrivant le mécanisme possible de la synthèse verte in vivo des NP	20
Figure 07 : Différentes méthodes biologiques pour la synthèse de nanoparticules d'argent...	24
Figure 08 : Applications des nanoparticules d'argent	26
Figure 09 : <i>P.anisum</i> L	31
Figure 10 : Spectre d'absorption UV-vis des Ag/Ag ₂ O.....خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 11 : Spectres FTIR des Ag/Ag ₂ O phytosynthétisés	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Figure 12 : Analyse XRD des Ag/Ag ₂ O photosynthétisées.	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Figure 13 : Étude morphologique.....خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 14 : Spectres MEB de nanoparticules d'argent (c) : Images au microscope électronique à balayage (MEB) d'échantillons (Ag/Ag ₂ O), (d) Distributions granulométriques des (Ag/Ag ₂ O) de biosynthèse.....خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 15 : Pourcentage d'hémolyse induite par <i>P.anisum</i> L et Ag/Ag ₂ O à différentes concentrations, par rapport au SDS comme norme.خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 16 : Durée de mobilité (S) dans le test de nage forcée chez les rats traités par <i>P.anisum</i> L et Ag/Ag ₂ O à différentes concentrations.....خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 17 : Durée de mobilité (S) dans le test de suspension de la queue chez les rats traités par <i>P.anisum</i> L et Ag/Ag ₂ O à différentes concentrations....خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 18 : Temps de réaction (s) au test de la plaque chauffante chez les rats traités par <i>P.anisum</i> L et Ag/Ag ₂ O à différentes concentrations.خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 19 : Taux d'inhibition (%) dans le test de contorsion chez les rats traités avec <i>P.anisum</i> L et des nanoparticules Ag/Ag ₂ O.خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de la plante	9
Tableau 02 : Rendements des extraits de <i>P. anisum</i>	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 03 : Dosages phytochimiques de l'extrait aqueux de <i>P.anisum</i> L. ..	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 04 : Composés phytochimiques de l'extrait aqueux de <i>P.anisum</i> L	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 05: Activité antioxydante de <i>P.anisum</i> L et Ag NPs à l'aide du dosage DPPH, RP et TAC.	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 06 : Évaluation du potentiel photoprotecteur <i>P.anisum</i> L et Ag NPs	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 07 : Niveaux d'IC ₅₀ de l'activité anti-inflammatoire de <i>P.anisum</i> L and Ag/Ag ₂ O	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Tableau 08 : Activité antibactérienne de l'extrait brut de <i>P.anisum</i> L et nanoparticules d'argent	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AgNPs	Nanoparticules d'argent
<i>P.anisum</i> L	<i>P.anisum</i> L
SPF	Sun Protection Factor (Facteur de protection solaire)
FT-IR	Fourier Transform InfraRed (Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier)
UV-Vis	Ultraviolet-Visible (Spectroscopie UV-Visible)
XRD	X-ray Diffraction (Diffraction des rayons X)
MEB	Microscopie électronique à balayage
IC50	Concentration inhibitrice à 50 %
TAC	Total Antioxidant Capacity (Capacité antioxydante totale)
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
COX	Cyclooxygénase
LOX	Lipoxygénase

Résumé

Cette étude examine la composition phytochimique et la bioactivité de *Pimpinella anisum* L (anis) et de ses nanoparticules d'argent biosynthétisées (Ag/Ag_2O). La recherche met en évidence la présence de divers composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des terpénoïdes, des alcaloïdes et des composés phénoliques, qui contribuent à ses activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antidépressives et analgésiques. La teneur totale en phénols a été déterminée à 109,1916 mg GAE/g d'extrait sec, et la teneur totale en flavonoïdes à 25,636 mg QE/g d'extrait sec. L'extrait et les AgNPs ont démontré une activité antioxydante notable, avec des valeurs d'IC₅₀ de 133,15 µg/mL et 178,88 µg/mL, respectivement. Le pouvoir réducteur et la capacité antioxydante totale (TAC) ont également été évalués, montrant des résultats prometteurs pour l'extrait et les Ag/Ag_2O . L'activité hémolytique de l'extrait et des Ag/Ag_2O a été évaluée, révélant de faibles taux d'hémolyse, indiquant une bonne biocompatibilité avec les érythrocytes humains. Les valeurs SPF de l'extrait de *P.anisum* L et des Ag/Ag_2O étaient respectivement de 17,535 et 14,480, suggérant des applications potentielles dans les formulations de crèmes solaires. L'extrait et les Ag/Ag_2O ont montré une activité anti-inflammatoire significative, avec des valeurs d'IC₅₀ de 724,65 µg/mL et 1263,96 µg/mL, respectivement. L'extrait et les Ag/Ag_2O ont tous deux montré des effets inhibiteurs contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, les Ag/Ag_2O affichant une efficacité antibactérienne supérieure. Le test de nage forcée et le test de suspension de la queue ont indiqué des effets antidépresseurs significatifs pour l'extrait et les Ag/Ag_2O . Le test de la plaque chauffante et le test de contorsion induite par l'acide acétique ont démontré le potentiel analgésique de l'extrait et des Ag/Ag_2O , avec des effets dose-dépendants notables. Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique de *P.anisum* L et de ses nanoparticules d'argent biosynthétisées, soulignant leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antidépressives et analgésiques. Ces résultats laissent entrevoir des applications prometteuses dans les domaines pharmaceutique et biomédical.

Mots-clés : *Pimpinella anisum* L., Analyse phytochimique, Nanoparticules d'argent (Ag/Ag_2O), Synthèse verte, Activité antioxydante, Anti-inflammatoire, Antibactérien, Facteur de protection solaire (FPS), Antidépresseur, Analgésique.

Abstract

This study investigates the phytochemical composition and bioactivity of *Pimpinella anisum* L (anise) and its biosynthesized silver nanoparticles (*Ag/Ag₂O*). The research highlights the presence of various bioactive compounds such as flavonoids, tannins, saponins, terpenoids, alkaloids, and phenolic compounds, which contribute to its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidepressant, and analgesic activities. The total phenolic content was determined to be 109.1916 mg GAE/g dry extract, and the total flavonoid content was 25.636 mg QE/g dry extract. The extract and *Ag/Ag₂O* demonstrated notable antioxidant activity, with IC₅₀ values of 133.15 µg/mL and 178.88 µg/mL, respectively. The reducing power and total antioxidant capacity (TAC) were also evaluated, showing promising results for both the extract and *Ag/Ag₂O*. The hemolytic activity of the extract and *Ag/Ag₂O* was assessed, revealing low hemolysis rates, indicating good biocompatibility with human erythrocytes. The SPF values for *P.anisum* L extract and *Ag/Ag₂O* were 17.535 and 14.480, respectively, suggesting potential applications in sunscreen formulations. The extract and *Ag/Ag₂O* exhibited significant anti-inflammatory activity, with IC₅₀ values of 724.65 µg/mL and 1263.96 µg/mL, respectively. Both the extract and *Ag/Ag₂O* showed inhibitory effects against Gram-positive and Gram-negative bacteria, with *Ag/Ag₂O* displaying higher antibacterial efficacy. The forced swim test and tail suspension test indicated significant antidepressant effects for both the extract and *Ag/Ag₂O*. The hot plate test and acetic acid-induced writhing test demonstrated the analgesic potential of the extract and *Ag/Ag₂O*, with notable dose-dependent effects. The findings underscore the therapeutic potential of *P.anisum* L and its biosynthesized silver nanoparticles, highlighting their antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, antidepressant, and analgesic properties. These results suggest promising applications in pharmaceutical and biomedical fields.

Keywords; *P.anisum* L , Phytochemical analysis, Silver nanoparticles (*Ag/Ag₂O*), Green synthesis, Antioxidant activity, Anti-inflammatory, Antibacterial, Sun Protection Factor (SPF).Antidepressant, Analgesic.

المخلص

تستكشف هذه الدراسة التركيب الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي لنبات *Pimpinella.anisum* L (اليانسون) وجسيمات الفضة النانوية المحضرة حيويًا. تسلط الدراسة الضوء على وجود مركبات نشطة بيولوجيًا مختلفة مثل الفلافونويدات، والعفص، والصابونينات، والترينويدات، والقلويدات، والمركبات الفينولية، والتي تساهم في أنشطتها المضادة للأكسدة، والمضادة للميكروبات، والمضادة للالتهابات، والمضادة للاكتئاب، ومسكنات الآلام. تم تحديد المحتوى الفينولي الإجمالي ليبلغ 109.1916 ملغ/GAE/غرام من المستخلص الجاف، والمحتوى الكلي للفلافونويدات ليبلغ 25.636 ملغ/QE/غرام من المستخلص الجاف. أظهر المستخلص وجسيمات الفضة النانوية نشاطًا مضادًا للأكسدة ملحوظًا، مع قيم IC_{50} تبلغ 133.15 ميكروغرام/مل و178.88 ميكروغرام/مل على التوالي. تم أيضًا تقييم القدرة الاختزالية والسعة المضادة للأكسدة الكلية (TAC)، مما أظهر نتائج واعدة لكل من المستخلص وجسيمات الفضة النانوية. تم تقييم النشاط التحليلي للمستخلص وجسيمات الفضة النانوية، مما كشف عن معدلات تحلل منخفضة، مما يشير إلى توافق حيوي جيد مع كريات الدم الحمراء البشرية. كانت قيم عامل الحماية من الشمس (SPF) للمستخلص وجسيمات الفضة النانوية 17.535 و14.480 على التوالي، مما يشير إلى تطبيقات محتملة في صياغة وإقيات الشمس. أظهر المستخلص وجسيمات الفضة النانوية نشاطًا مضادًا للالتهابات ملحوظًا، مع قيم IC_{50} تبلغ 724.65 ميكروغرام/مل و1263.96 ميكروغرام/مل على التوالي. أظهر كل من المستخلص وجسيمات الفضة النانوية تأثيرات تثبيطية ضد البكتيريا إيجابية الغرام وسالبة الغرام، حيث أظهرت جسيمات الفضة النانوية كفاءة مضادة للبكتيريا أعلى. أشار اختبار السباحة القسرية واختبار التعليق بالذيل إلى تأثيرات مضادة للاكتئاب ملحوظة لكل من المستخلص وجسيمات الفضة النانوية. أظهر اختبار اللوحة الساخنة واختبار التواء المستحث بحمض الخليك الإمكانات المسكنة للألم للمستخلص وجسيمات الفضة النانوية، مع تأثيرات ملحوظة تعتمد على الجرعة. تؤكد النتائج الإمكانات العلاجية لنبات *P.anisum* L وجسيماته النانوية المحضرة حيويًا، مع تسليط الضوء على خصائصها المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات، والمضادة للميكروبات، والمضادة للاكتئاب، والمسكنة للألم. تشير هذه النتائج إلى تطبيقات واعدة في المجالات الصيدلانية والحيوية الطبية.

الكلمات المفتاحية: *P.anisum* L (اليانسون) , التحليل الكيميائي النباتي , جسيمات الفضة النانوية (Ag/Ag_2O)

التخليق الأخضر , النشاط المضاد للأكسدة , مضاد للالتهابات , مضاد للبكتيريا , عامل الحماية من الشمس (SPF) ,

مضاد للاكتئاب , مسكن للألم.

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes médicinales connaît un regain d'intérêt à l'échelle mondiale, en raison de la reconnaissance croissante de leur efficacité thérapeutique et de leur innocuité en tant que remèdes naturels dans la prise en charge de diverses pathologies. Ce savoir traditionnel, profondément enraciné dans l'histoire de l'humanité, continue de jouer un rôle essentiel dans les soins de santé primaires, notamment dans les régions en développement. À ce titre, plus de 200 000 espèces végétales à potentiel médicinal sont recensées dans les zones tropicales, en particulier en Afrique, offrant ainsi une vaste réserve de composés bioactifs pour la découverte de nouveaux médicaments (Clément, 2005 ; Millogo *et al.*, 2005 ; Bouacheriene & Benrabia, 2017).

Parallèlement, la nanotechnologie s'impose comme une discipline révolutionnaire dans de nombreux domaines tels que la médecine, la biotechnologie et les sciences de l'environnement. Elle repose essentiellement sur la synthèse et la manipulation de matériaux à l'échelle nanométrique (1–100 nm), permettant l'élaboration de nanomatériaux innovants aux propriétés physicochimiques et biologiques améliorées. Parmi ces nanomatériaux, les nanoparticules d'argent (AgNPs) suscitent un intérêt croissant en raison de leurs caractéristiques remarquables, telles qu'un rapport surface/volume élevé, une stabilité chimique, des propriétés optiques uniques, ainsi que des activités antimicrobienne, anticancéreuse et antioxydante marquées (Siddharthan *et al.*, 2019 ; Verma *et al.*, 2016). La synthèse verte des AgNPs à l'aide d'extraits végétaux constitue une alternative écologique, économique et biocompatible aux méthodes chimiques et physiques conventionnelles, en évitant l'utilisation de réactifs toxiques et de conditions drastiques (Vorobyova *et al.*, 2020). Les composés phytochimiques présents dans les extraits de plantes — tels que les flavonoïdes, les phénols, les terpénoïdes, les sucres et les enzymes — agissent simultanément comme agents réducteurs et stabilisants, conférant ainsi une meilleure compatibilité biologique et des effets thérapeutiques accrus (Djemam *et al.*, 2020).

P.anisum L. (anis vert), appartenant à la famille des Apiacées, est une plante aromatique et médicinale bien connue, largement répandue dans le bassin méditerranéen et en Asie occidentale. Ses graines et huiles essentielles sont traditionnellement utilisées pour le traitement des migraines, troubles gastro-intestinaux, épilepsie et insomnie. Les graines d'anis sont aussi utilisées comme analgésique contre la migraine, ainsi que comme carminatif, aromatique, désinfectant et diurétique en médecine traditionnelle (Amin, 2005). Dans certains textes anciens, l'anis est mentionné pour la mélancolie, les cauchemars, ainsi que dans le

traitement de l'épilepsie et des crises convulsives (Mirheydar, 2001). (Shobha, Rajeshwari et Andallu 2013) ont observé que l'anis possède un fort potentiel antiperoxydant et antidiabétique, ce qui en fait une plante d'intérêt pour les industries pharmaceutique et alimentaire. (Cifti *et al.* 2005) ont montré que l'huile essentielle d'anis contient comme principaux constituants l'anéthole, l'eugénol, le méthylchavicol, l'anisaldéhyde et l'estragole. De plus, (Rebey *et al.* 2017) ont révélé que les graines d'anis peuvent constituer une source prometteuse d'antioxydants naturels et être utilisées comme additifs alimentaires. Cependant, (Acimovic *et al.* 2014) ont rapporté que la sécheresse réduit considérablement le poids des graines, le taux de germination et la teneur en huile essentielle, bien que le trans-anéthole soit plus concentré en conditions arides. Certaines croyances traditionnelles suggèrent que la consommation d'anis chez les jeunes garçons pourrait affecter le système reproducteur (Ibrahim, 2008). D'un point de vue pharmacologique, les extraits d'anis sont également utilisés pour leurs effets diurétiques, laxatifs, expectorants, antispasmodiques, ainsi que pour soulager les douleurs gastriques et les flatulences (Kreydiyyeh *et al.*, 2003 ; Ibrahim *et al.*, 2017).

Malgré cette richesse phytochimique et cette diversité pharmacologique, l'utilisation de *P.anisum L* pour la biosynthèse de nanoparticules d'argent et leur application dans le traitement des troubles neurocomportementaux reste largement inexplorée. Bien que de nombreuses études aient mis en évidence les propriétés biologiques de *P.anisum L* et le potentiel biomédical des AgNPs, très peu ont combiné ces deux approches dans une seule stratégie intégrée. De plus, il existe un manque de recherches englobant à la fois des évaluations des tests *in vivo* sur les effets neuroprotecteurs, anxiolytiques et antidépresseurs de ces nanomatériaux.

Sur la base de ce constat, l'objectif principal de notre travail de thèse était de synthétiser et de caractériser des nanoparticules d'argent à partir de *P.anisum L*, et d'étudier leurs activités biologiques *in vitro* et *in vivo*, notamment leurs effets neuroprotecteurs, anxiolytiques et antidépresseurs chez les rats Wistar.

La structure de cette thèse est divisée en deux parties. La première partie combine deux chapitres : le premier est un inventaire bibliographique sur *P.anisum L*, et le second sur les nanoparticules d'argent. La deuxième partie traite du travail expérimental et comprend deux sections différentes:

✓ Première partie : Basé sur l'étude *in vitro* :

Elle combine l'extraction des principes actifs de la plante et leur caractérisation quantitative et qualitative. Synthèse et caractérisation de nanoparticules d'argent. Enfin, des

tests biologiques sont réalisés pour les comparer selon leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, hémolytique et antibactériennes activités.

✓ **deuxième partie : Basé sur l'étude in vivo :**

Cette section vise à évaluer l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. et des nanoparticules composites d'argent/oxyde d'argent (Ag/Ag₂O) biosynthétisées dans le traitement de la dépression et des troubles anxieux chez les rats mâles Wistar

Partie Théorique

Chapitre I :

Pimpinella anisum. L

1. Généralités

L'anis, ou *P.anisum L* , est utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle *et* alternative, ainsi que dans le secteur pharmaceutique. L'espèce est originaire d'Asie du Sud-Ouest, du Moyen-Orient et du bassin méditerranéen. Les études actuelles ont révélé que *P.anisum L* sauvage et cultivé est riche en composés bioactifs, tels que les phénols, les tanins, les caroténoïdes et les acides gras. Différentes parties de *P.anisum L* sont utilisées pour traiter des maladies, des agents pathogènes et à des fins antivirales, antibactériennes et antifongiques.

L'anis (*P.anisum L*) est une plante herbacée annuelle aromatique, rustique, pubescente et haute de 60 cm, originaire de l'est de la Méditerranée et de l'ouest de l'Asie. Il appartient à la famille des ombellifères, principalement pour ses fruits (Sungur I *et al.*, 2023). Il est connu sous différents noms selon les pays, comme Annesella en Italie ; Anisa, Badiane, Saunf et Sop en Iran et en Inde ; et Boucage anis en Afrique du Nord (Khare C *et al.*, 2007). Il est cultivé dans divers endroits, notamment en Chine, au Japon, en Amérique du Sud, en Afrique du Nord et en Europe du Sud (Singletary KW *et al.*, 2022). Son petit fruit est appelé à tort « graine ». Pourtant, il est communément appelé « anis », une épice populaire une fois mûr et séché (Singletary KW *et al.*, 2022). La plante pousse de septembre à mars, avec une floraison et une fructification entre janvier et mars (Asad M *et al.*, 2022). Depuis l'Antiquité, les graines d'anis sont utilisées en alimentation et en médecine, deux domaines qui jouent un rôle essentiel dans la préservation de la santé humaine et l'amélioration de la qualité de vie. Grâce à sa diversité biologique et à ses conditions climatiques variées, la Chine dispose d'un potentiel important de production de plantes et d'herbes aromatiques et médicinales (Gülçin İ *et al.*, 2003). L'anis est utilisé en médecine traditionnelle chinoise depuis le Ve siècle (Dargahi T *et al.*, 2021) et dans d'autres médecines traditionnelles iraniennes et indiennes. Les graines d'anis sont traditionnellement utilisées comme analgésique contre les migraines, ainsi que comme carminatif, odorant, désinfectant et diurétique . En médecine populaire, elles sont utilisées pour favoriser la production de lait, les menstruations, la sécrétion d'urine et de transpiration, ainsi que pour un teint sain (Amin G *et al.*, 2005). De plus, dans certains ouvrages traditionnels, elles sont également utilisées pour polir les dents, traiter les cauchemars et traiter les crises d'épilepsie (Nasır.A *et al.*, 2021). La tisane d'anis est traditionnellement utilisée chez les enfants pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures et l'asthme bronchique (On l'utilise également comme expectorant et pastille, et

pour aider les femmes à produire plus de lait. Il est généralement utilisé pour faciliter l'accouchement et comme laxatif doux.

L'anis est utilisé comme agent aromatisant et aromatisant en cuisine pour les produits à base de poisson, les glaces, les bonbons et les chewing-gums (Salehi Surmaghi M, 2010). Plusieurs composés chimiques ont été isolés de l'anis, notamment les huiles essentielles (ERURJ, 2023), principalement l'anéthole, l'estragole et le limonène. Des composés phénoliques ont également été signalés, tels que l'acide gallique, la naringine et la quercitine. Plusieurs études pharmacologiques ont été menées sur l'anis : Antibactérien, antifongique, insecticide, antiviral, myorelaxant, antispasmodique et relaxant des muscles lisses, anticonvulsivant, antiulcéreux, antidiabétique, hypolipidémiant et analgésique dans la dysménorrhée, ce qui a assuré son utilisation traditionnelle (ShojaiiA *et al.*, 2012). Cette revue se concentre sur les activités pharmacologiques et les constituants phytochimiques de l'anis au cours des cinq dernières années.

2. Description botanique

P.anisum L est une plante aromatique herbacée , annuelle (Babulka , 2004), à tige grêles, creuses et très ramifiées peuvent atteindre de 50 à 70 cm (Polese , 2006)

Les feuilles inférieures ont une forme arrondie et réniforme, tandis que les feuilles pédonculées sont pennatifides à tri pennatifides et deviennent de plus en plus finement divisées à mesure qu'elles montent sur la tige.

Les tiges rondes et rainurées se ramifient dans la partie supérieure de la plante et forment des ombelles apicales composées avec des fleurs blanches.

Les fruits gris-vert, en forme de poire, sont densément couverts de poils et se composent de deux moitiés aux crêtes claires. La plante entière dégage une odeur aromatique d'anis.

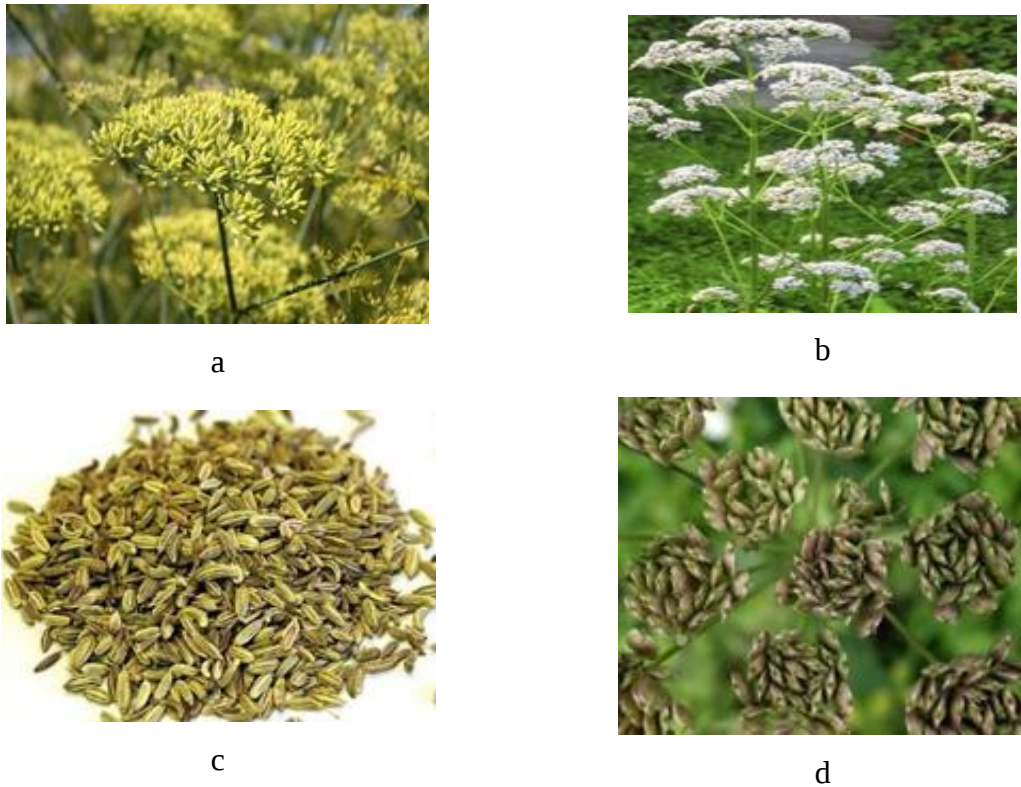


Figure 01 : a: plante de *P.anisum L* , b : fleurs, c : la forme des graines sur la plante, d : graines séchées(Bruneton Jean., 2009)

3.Répartition géographique

L'anis vert ou *P.anisum L* c'est une plante originaire du Moyen –Orient et elle est connue depuis l'Egypte ancienne (Gulçinet *al.*, 2003). Pour le moment elle est cultivé dans la région de l'est de Méditerranée, dans l'ouest de l'Asie, dans le Moyen Orient et en Amérique centrale (Shojaiiet *et al.*, 2012)

Les plantes d'anis poussent mieux dans un sol léger, fertile et bien drainé. Les graines doivent être plantées dès que le sol se réchauffe au printemps. Étant donné que les plantes ont une racine pivotante, elles ne se transplantent pas bien après la germination. Il faut donc les démarrer à leur emplacement final ou les planter alors que les semis sont encore petits.

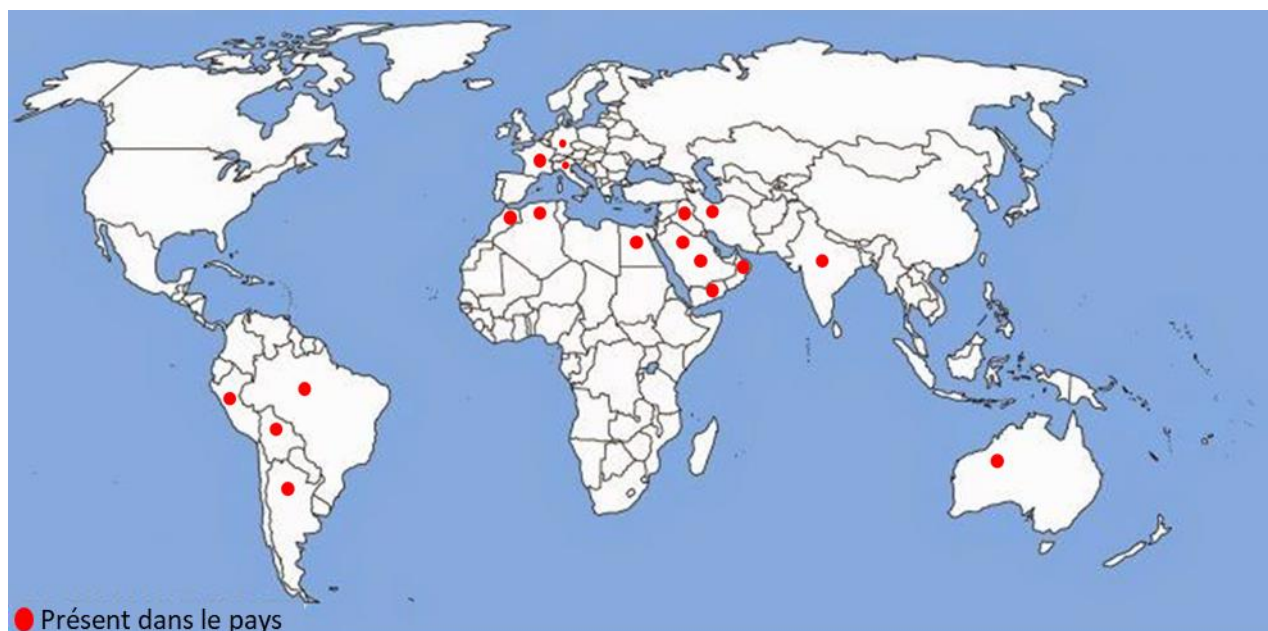


Figure 02 : Répartition géographique de l'anis vert ou *P.anisum* (Gulçinet *al.*, 2003).

4. Classification

La plante a été classée selon (Dupont *et.*, 2012) ; (Delille, 2007) Elle est la suivante :

Tableau 01 : Classification de la plante

Division	Plantes à graines
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-catégorie	Roisdae
Ordre	Apiales
Famille	Tentacules
Espèce	<i>P.anisum L</i>

5. Dénomination internationale

Nom commun : Anis-vert.

Nom usuel français : Anis vert, petit anis, anis d'Europe.

Nom anglais : Aniseed (Peter, 2001).

6. Composition biochimique de la graine d'anis vert

Les fruits de cette plante sont des petites graines composées de:

- Eau(%9)
- Glucides de l'ordre de 50%
- Protéines(%18)
- Polysaccharides(%35)
- phénoliques
- Lipides (8 – 16%
- Fibres brutes(%15)
- Cendre(%7)
- Polysaccharides, flavonoïdes, hétérosides de flavon
- Furcoumarins et hydrox-coumarines
- Ions essentiels (Potassium, calcium, phosphate et fer)
- Rendement d'huile essentielle qui représente peut varier de 1,5 à 6.%

6.1 Lipids

✓ Les graines d'anis vert contiennent 8 a 16 % (23,9 % d'huile contenant des acides gras satures et insaturés (Singh G *et al.*,2008) Le pourcentage des acides gras insaturés est nettement supérieur a celui des acides gras satures.

✓ L'acide pétroselinique est l'acide gras le plus important avec une contribution allant de 50 à 70 % de la composition totale en acides gras.

✓ D'autres acides gras sont également présents tels que l'acide oléique avec une contribution de 22 a 28 %, l'acide linoléique de 5 a 21 % et l'acide palmitique de 5 a 10 % (16 et 17) autre des acides gras.

6.2 Huile essentielle

De nombreux travaux sur *P.anisum L* . ont révèle que le constituant majoritaire de son huile essentielle est le transe-anéthol et que le γ -hima-halène et l'estragon y sont également

présents mais dans des proportions moindres. (Dupon F *et al.*, 2007),(Singh G *et al.*, 2008)
Figure 03:

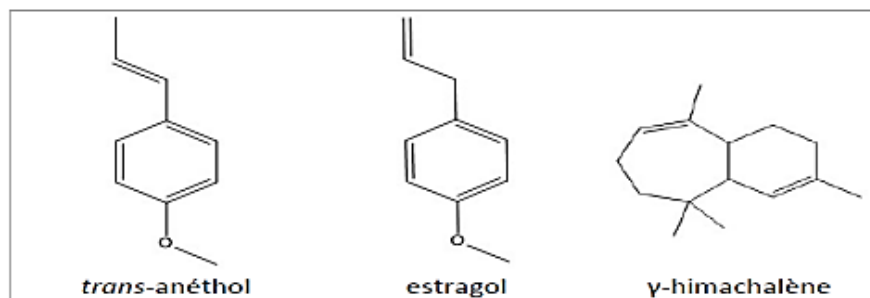


Figure 03 : Composés majeurs de l'huile essentielle de graines de *P.anisum L.*

Le p-anis aldéhyde, l'eugénol, le -caryophyllée sont des exemples de composés mineurs contenus dans l'huile essentielle de la graine d'anis vert.

6.3 Composés phénoliques

Attribuent aux graines d'anis vert une teneur en composés phénoliques Totaux de 3,539 mg équivalant à l'acide gallique/g (Ghouati Y *et al.*, 2008). Au niveau de la composition, la graine d'anis 0,016 $\pm$ vert contient différents flavonoïdes glycosylés tels que la quercitrine-3-glucuronide, le rutoside, la lutéoline-7-glucoside, l'isoorientine, l'isovitexine, l'apigénine-7-glucoside (Souri E *et al.*, 2008).

7. Activités Biologiques de *P.anisum L*

En plus de ces propriétés carminatives, expectorantes et anti-colique, l'huile essentielle des graines d'anis vert possède d'autres activités qui ont été étudiées par de nombreux chercheurs; dont on distingue:

7.1 Activité parasiticide et insecticide

Les composés actifs de l'H.E des graines d'anis vert tel que : l'anéthol, l'anisaldéhyde et le myristicin possèdent une légère activité contre les insectes, les parasites et les acariens dont les anciens avaient utilisé comme un traitement pour lutter contre la gale et les poux.

Cependant l'H.E de *P.anisum L* semble avoir une activité larvicide et ovicide dont elle a montré une toxicité au 4^{ème} stade de développement avec une DL₅₀ de 115 μ g/ ml. En outre elle possédait une forte activité nématocide contre *M.incognita*. (Mlle Bekara, 2008).

7.2 Activité antifongique

L'H.E des graines d'anis vert possède une activité antifongique importante dont elle est considérée comme un puissant inhibiteur contre *Penicillium* sp et *Aspergillus* sp avec une concentration inhibitrice minimale (CMI) de 40 μ l/ml et contre *P.chrysogenum* à 60 μ l. Cependant le principal constituant de cette huile qui est l'anéthol semble être efficace avec contre les levures particulièrement contre *Saccharomyces cerevisiae* avec une concentration fongicide minimale (MFC) de 200 μ g/l.

7.3 Activité antibactérienne

Il a été démontré que l'H.E d'anis est active contre plusieurs bactéries, dont elle inhibe la croissance de nombreuses espèces y compris *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

7.4 Activité antiulcéreuse

La suspension aqueuse des graines d'anis vert possède une activité cytoprotective et anti-ulcéreuse contre l'ulcère gastrique provoqué expérimentalement chez les rats, ainsi ont montrés que cette suspension réduit significativement la sécrétion gastrique et l'acidité, de plus elle inhibe complètement les ulcérations chez les rats. Cet effet produit probablement par la médiation des prostaglandines due à l'H.E d'anis vert. (Mlle Bekara, 2008).

7.5 Activité antioxydant

Certaines études établis suggèrent que l'H.E d'anis vert peut agir comme un antioxydant, ainsi les études de sur l'ulcère gastrique chez le rat étaient suivis par celle de qui ont conclu que l'effet anti-ulcéreux d'H.E d'anis était du probablement à ses propriétés antioxydants. D'autre part ont trouvés une forte corrélation entre le potentiel antioxydant et les fractions flavonoïdes qui représentent l'un des composés actifs de cette huile Essentielle (Dupont *et al.*, 2012).

7.6 L'effet bénéfique de *P.anisum L* sur le système nerveux

Dans la littérature on trouve que la famille des Apiécée renferme 08 genres et 08 espèces qui sont utilisés pour traiter les désordres neurologiques. Parmi elles, *P.anisum L*, qui est connue depuis les temps par ses vertus thérapeutiques, ainsi les extraits de cette espèce restent utilisés aujourd'hui où ils rentrent comme un ingrédient dans la production des médicaments de toux, de stress et les tranquillisants. Cette utilisation rentre le plus souvent

dans le cadre de la médecine traditionnelle qui a été très évoluée chez les Arabes et les Perses. En effet, la plante d'anis vert a été largement exploitée depuis plusieurs siècles notamment comme un remède pour traiter les convulsions et l'épilepsie dans la médecine persienne traditionnelle, en plus elle possédait un effet neuroprotecteur contre les maladies cérébro-vasculaires.

Le mécanisme d'action de cette plante sur le système nerveux reste encore mal connu, mais à travers l'ensemble des études établis sur ce sujet, ont constaté que l'effet anti convulsant de l'extrait et d'H.E d'anis vert pourrait être dû à l'activation des récepteurs GABAergique. En addition, de nombreuses études in vivo, ont démontré que l'extrait et l'H.E de *P.anisum* L , possédaient un potentiel d'action sur le système nerveux dont ils retardent (mais ne protègent pas) les crises induites par le picrotoxin (PTX) chez les rats (Mlle Bekara , 2008).

D'une part, suggéraient que l'H.E des graines d'anis peut agir sur le système nerveux par l'augmentation de seuil de convulsion et par l'inhibition de sa propagation. D'autres travaux de cette même équipe ont trouvé que l'H.E peut aussi inhiber les convulsions induites chez le rat suite à une administration d'une dose élevée de pentylenetetrazole (PTZ) ou suite à un choc électrique. (Singh G *et al.*, 2008)

D'autre part, trouvé que l'H.E de *P.anisum* L pourrait avoir une influence sur l'activité bioélectrique des neurones dans des conditions de contrôles (chez l'escargot) ou bien après l'induction d'une crise épileptique par PTZ. Tous les composés d'anis vert pourraient être responsables de l'effet neuroprotecteur exercé par l'H.E sur le système nerveux. En effet, le transe-anéthol-le composé majoritaire- est largement utilisé comme un substrat pour la synthèse d'une variété de substances d'intérêt neuropharmaceutique tel que les médicaments sédatifs et les anti convulsant. Exemple : l'anéthol est le substrat de la synthèse du Phénobarbital, qui est un médicament potentiellement anti convulsant (Dupont *et al.*, 2012) .

7.7 Toxicité de *P.anisum* L

Selon la classification des produits toxiques, les substances avec une Dose létale 50 (DL50) entre 1 et 5 g/kg sont considérées comme faiblement toxiques, ainsi les composés avec une valeur de DL50 supérieure à 5 g/Kg sont pratiquement considérées comme non toxiques .

Cependant a bien démontré l'absence de mortalité après une administration de l'extrait aqueux de *P.anisum* L à des doses de : 0,5, 2,8, 16 et 32 g/kg par voie orale. Ainsi la DL50

par voie intrapéritonéale de l'extrait aqueux et éthanolique de l'anis vert est de 4,93 g/kg et 3,77 g/kg respectivement. (Mlle Bekara, 2008).

Ils constaté que cette plante n'a aucun effet toxique lorsqu'elle a été administrée à des doses 10fois plus grandes que celles connue chez l'homme. En outre, ont trouvé que la DL50 de l'huile essentielle des graines d'anis vert obtenue par Hydrodistillation est de 0,847 ml/kg testée chez les souris albinos, ainsi la DL50 de l'huile fixe de cette même plante est de 3,152 ml/Kg. La voie d'administration et l'espèce animale peuvent influencer le seuil de toxicité de l'huile essentielle de *P.anisum* L dont la DL50 par voie orale est de 2,3g/kg chez les rats et par voie cutanée est de 5g/kg chez les lapins.

Le Trans anéthole, le composé majoritaire des graines d'anis vert, possède une DL50 de 2,1- 3,2 g/kg par voie orale, et de 0,64-1.41 g/kg par voie intrapéritonéale chez le rat. Aucun problème n'a été enregistré lors de la prise des graines d'anis vert pendant la gestation et la lactation. Cependant., l'inhalation de la poudre de ces graines une certaine allergie chez le sujet asthmatique avec un test de peau positive ainsi qu'un patient a présenté un taux élevé des IgE anti anise dans le sang. (Mlle Bekara, 2008).

A forte dose l'huile essentielle de *P.anisum* L., peut induire des nausées, des vomissements, des convulsions, œdèmes pulmonaires et elle peut entraîner l'ivresse, la paralysie et même un coma profond. Cette toxicité est attribuée aux : cis anéthole et Estragole qui sont similaires dans leurs structures avec le Safrole qui est un gent fortement hépatotoxique (Singh G *et al.*, 2008).

Chapitre II :

Nanoparticules d'argent et l'activité

biologique

1. Nanotechnologie

La nanotechnologie a été définie de diverses manières par différents scientifiques. Selon l'Initiative Nationale de Nanotechnologie (National Nanotechnology Initiative = NNI) aux États-Unis: «la nanotechnologie, c'est la recherche et le développement technologique aux niveaux atomique, moléculaire ou macromoléculaire (1 à 100 nm), la capacité à contrôler ou manipuler à l'échelle atomique et la création et l'utilisation de structures, dispositifs et systèmes qui ont de nouvelles propriétés et fonctions en raison de leur petite et moyenne taille (Roco, M.C., 2001). Une autre définition donnée par la société royale et l'académie royale d'ingénierie est «la nanotechnologie est la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, de dispositifs et de systèmes en contrôlant la forme et la taille à l'échelle nanométrique » (Stylios, G.Ket *al.*, 2005). Ainsi, l'amélioration des propriétés des matériaux par la maîtrise de leurs structures nanométriques est au cœur de la nanotechnologie (Nazeruddin, G.M *et al.*, 2015).

Cette définition suggère la présence de deux conditions pour la nanotechnologie. La première est l'échelle: la nanotechnologie a pour but d'utiliser les structures en contrôlant leur forme et leur taille à l'échelle nanométrique. La deuxième condition est liée à la nouveauté: la nanotechnologie doit traiter de petites choses d'une manière qui tire parti de certaines propriétés en raison de l'échelle nanométrique (Bayda *et al.*, 2020).

La nanotechnologie peut être classée en catégories. Ce sont des procédés de nanofabrication, des nanodispositifs pour de nouvelles fonctionnalités de haute performance, de nanomesure et des nanomatériaux (Yamamoto, K *et al.*, 2021).

2. Nanoparticules d'argent

2.1 Présentation générale de l'argent

L'argent est un élément chimique avec le symbole Ag de couleur gris blanc (M.chauvel Romain *et al.*, 2018). C'est un métal malléable, ductile et précieux qui a été connu depuis des temps anciens (ses premiers débuts vers 5000 avant notre ère) et est situé dans le groupe 11 (Ib) et la période 5 du tableau périodique. L'argent est largement distribué dans la nature. Mais son abondance dans la croûte terrestre est très faible (0.05 ppm) par rapport aux autres métaux. L'argent a le numéro atomique 47 et le poids atomique de 107.880, et sa configuration électronique à l'état fondamental est [Kr] 4d105s1. La plupart du temps, l'argent peut exister dans un mélange d'isotopes, ¹⁰⁷Ag et ¹⁰⁹Ag. L'Ag est visiblement diamagnétique et sa susceptibilité magnétique est presque indépendante de la température de la température ambiante à juste en dessous du point de fusion (Sivaguru p *et al.*, 2018).

2.2 Nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent ou nano-argent sont des molécules ayant une taille de 20-40 nm, composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions argent. Elles sont, devant les nanotubes de carbone et les NPs de titane, les NPs les plus vendues et relâchées dans l'environnement. Les AgNPs sont très prisés par l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, de part notamment leur propriété biocide. Néanmoins, l'utilisation de ces NPs reste controversée de par leur risque sur la santé et l'environnement (Hemmerlin, M., 2014).

3. Méthodes de synthèse des nanoparticules

Il existe deux approches différentes utilisées pour synthétiser les NPs, l'approche descendante «top-down», qui est basée sur des méthodes physiques, et l'approche ascendante «bottom-up», qui est basée sur des méthodes chimiques (Gulati, S *et al.*, 2018).

L'approche descendante part d'un matériau en vrac qui incorpore des détails nanométriques critiques. Dans cette approche, un biomatériau est conçu en réduisant une entité complexe en ses composants, comme la création de petits cristaux à partir d'un tissu dur minéralisé en vrac par gravure à l'acide. En revanche, l'approche ascendante assemble des matériaux à l'échelle nanoscopique, tels que des molécules et des atomes, pour former des structures plus grandes (Figure 04) (Liu, Y *et al.*, 2011).

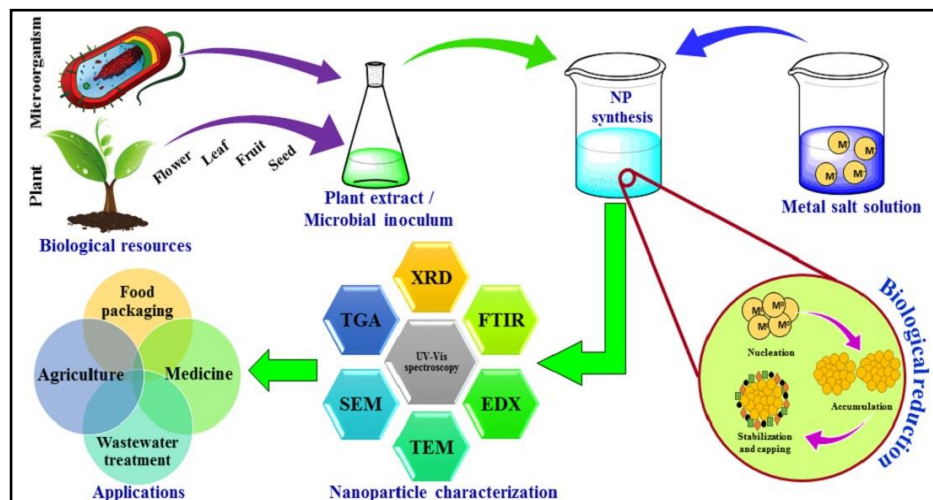


Figure 04 : Synthèse des nanomatériaux (NPs) VIA approches top-down et bottom-up (Khanna, P *et al.*, 2019)

La synthèse des nanoparticules fait appel à des méthodes chimiques, physiques et biologiques. Les procédures biologiques sont encore au stade de développement (Figure 05) (Ayesha Arshad., 2017).

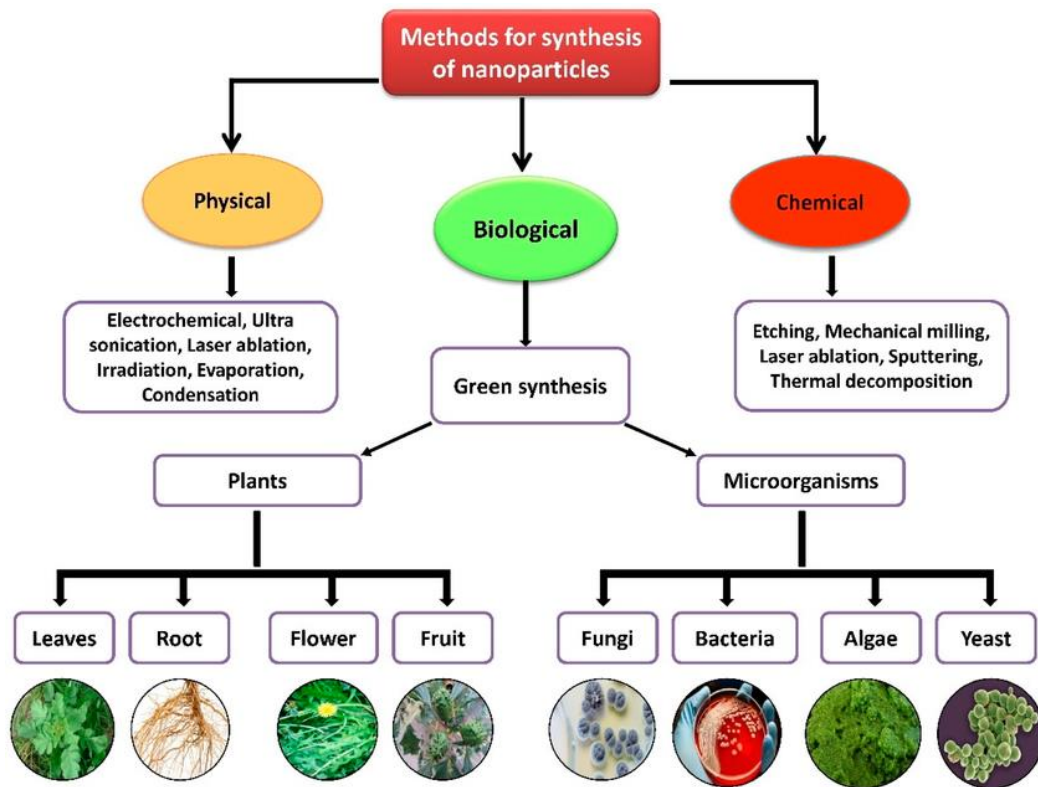


Figure 05 : Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules (Dhand. C *et al.*, 2015)

3.1 Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules

La réduction chimique, qui est la réduction d'un sel ionique dans un milieu approprié en présence de tensioactif à l'aide d'agents réducteurs. Certains des agents réducteurs couramment utilisés sont le borohydrure de sodium, l'hydrate d'hydrazine, le chlorate d'aura de potassium et le citrate de sodium.

- La synthèse solvothermique, qui est une voie polyvalente à basse température dans laquelle des solvants polaires sous pression et à des températures supérieures à leur point d'ébullition sont utilisés. Dans des conditions solvothermiques, la solubilité des réactifs augmente de manière significative, permettant à la réaction d'avoir lieu à une température plus basse.

- La technique sol-gel, qui est une technique chimique par voie humide utilisée pour la fabrication d'oxydes métalliques à partir d'une solution chimique qui agit comme un précurseur pour un réseau intégré (gel) de particules discrètes ou de polymères. Le sol

précurseur peut être soit déposé sur le substrat pour former un film, soit coulé dans un récipient approprié avec la forme souhaitée pour synthétiser des poudres.

- L'ablation au laser, qui consiste à retirer le matériau d'une surface solide par irradiation avec un faisceau laser. Le matériau est chauffé par l'énergie laser absorbée et s'évapore ou se sublime à faible flux laser. À flux plus élevé, le matériau est converti en plasma. La quantité de matière éliminée par une seule impulsion laser et la profondeur sur laquelle l'énergie laser est absorbée dépend des propriétés optiques du matériau et de la longueur d'onde du laser. Des nanotubes de carbone peuvent être produits par cette méthode.

- La condensation de gaz inerte, où différents métaux sont évaporés dans des creusets séparés à l'intérieur d'une chambre à ultra-vide rempli d'hélium ou d'argon gazeux à une pression typique de quelques 100 pascals. À la suite de collisions inter-atomiques avec des atomes de gaz dans la chambre, les atomes métalliques évaporés perdent leur énergie cinétique et se condensent sous la forme de petits cristaux qui s'accumulent sur un doigt froid rempli d'azote liquide. Par exemple, des nanoparticules d'or ont été synthétisées à partir de fils d'or (Manoj Singh, S *et al.*, 2011).

3.2 Méthodes biologiques (Synthèse verte)

En raison du taux élevé de produits chimiques toxiques et de l'environnement extrême utilisé dans la production physique et chimique de ces NPs, des méthodes vertes utilisant des plantes, des champignons, des bactéries et des algues ont été adoptées (Agarwal, H *et al.*, 2017).

4. Synthèse verte des AgNPs

La synthèse verte repose sur une réaction redox, au cours de laquelle les ions métalliques sont réduits en nanoparticules stables par les composants d'un organisme ou de son extrait. Bien que les organismes vivants, tels que les algues, les champignons, les bactéries et les plantes, puissent synthétiser des nanoparticules *in vivo* (Fayaz, A.M. *et al.*, 2010) la synthèse verte *in vitro* de nanoparticules, médiée par des extraits végétaux, a gagné en popularité grâce à sa simplicité, son faible coût, son caractère écologique et sa facilité de mise à l'échelle. Bien que la synthèse verte à base d'extraits végétaux soit une technologie récente, un procédé contrasté a été utilisé pour la préparation du Bhasma (cendre de métal) en Ayurveda, une médecine traditionnelle indienne pratiquée depuis plus de 2000 ans. Dans le premier cas, les ions métalliques sont réduits et stabilisés comme cela est pratiqué depuis plus de 2000 ans. Dans le premier cas, les ions métalliques sont réduits et stabilisés sous forme de

NP par les composants de l'extrait (approche ascendante) ; en revanche, dans le second cas, les NP sont des composants de l'extrait (approche ascendante) ; En revanche, dans ce dernier cas, les NP sont produites par calcination de feuilles métalliques (approche descendante), qui sont macérées avec des extraits de plantes médicinales pour obtenir un potentiel thérapeutique (Vineet, K *et al.*, 2009) (Marslin, G *et al.*, 2015)

4.1. Mécanisme de la synthèse verte des NP par les plantes

Un processus appelé bioaccumulation, qui confère aux plantes la capacité de détoxifier les ions métalliques, peut expliquer le mécanisme de synthèse des NP par les plantes. Lorsque les plantes absorbent des ions métalliques à un rythme plus rapide que celui de leur élimination par catabolisme, les ions métalliques excédentaires s'accumulent dans les tissus végétaux. La présence de métaux à des niveaux toxiques peut induire une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules et endommager les macromolécules cellulaires, entraînant de graves irrégularités morphologiques, métaboliques et physiologiques chez les plantes. Pour contrer la toxicité des métaux, les plantes sont équipées de mécanismes de chélation sophistiqués pour détoxifier les métaux. Les oligopeptides riches en cystéine,.

Les phytochélatines et les protéines de faible poids moléculaire appelées métallothionéines peuvent former des complexes avec les métaux et, à terme, éliminer les ions métalliques par séquestration vacuolaire . (Makarov *et al.*, 2014).



Figure 06 : Un schéma décrivant le mécanisme possible de la synthèse verte in vivo des NP (Anjum, N.A *et al.*, 2015)

4.2. Métabolites secondaires dans la synthèse verte des NP médiée par les extraits de plantes :

Plusieurs plantes ont été utilisées pour synthétiser des nanoparticules à partir d'extraits végétaux. Parmi les nombreuses molécules utilisées, on trouve des protéines, des substances de faible poids moléculaire comme les terpénoïdes, les alcaloïdes, les acides aminés, les alcools, les polyphénols (catéchine, flavones, taxifoline, procyanidines de différentes longueurs de chaîne formées par des unités de catéchine et d'épicatéchine, et les acides phénoliques), des glutathiones, des polysaccharides, des antioxydants et des acides organiques (acides ascorbique, oxalique, malique, tartrique et protocatéchuate). Les protéines, les sucres, les terpénoïdes, les polyphénols, les alcaloïdes, les acides phénoliques et d'autres substances peuvent également contribuer à la réduction des ions métalliques en nanoparticules.

Conserver leur stabilité une fois qu'ils ont atteint cet objectif. De plus, les flavonoïdes sont des composés de l'implication dans la synthèse verte a été la plus largement étudiée (Makarov *et al.*, 2014).

5. Paramètres de fonctionnement pour la production de nanoparticules d'argent

La synthèse de nanoparticules d'argent dépend de paramètres opérationnels importants. Quelle que soit la technique utilisée, certains facteurs opérationnels, tels que la concentration et le rapport volumique des substances réactives, le temps de réaction, la température et le pH, influencent la vitesse de synthèse, la taille et la forme des nanoparticules. Ces paramètres peuvent être modifiés pour contrôler leur taille, leur forme, leur morphologie générale, leur efficacité et leur applicabilité. Cette section présente un aperçu de ces paramètres opérationnels.

5.1 Effets de la concentration

La concentration en ions argent influence considérablement la synthèse des nanoparticules d'argent. Ce paramètre a été étudié afin d'identifier la quantité d'ions argent la plus adaptée à la génération de nanostructures d'argent. Pour étudier l'effet de la concentration initiale en ions argent, une gamme de concentrations a été préparée, les autres paramètres étant maintenus constants. La pratique courante consiste à faire varier la concentration en ions Ag^+ de 10^{-3} à 10^{-2} M. Des études bibliographiques ont établi et approuvé la concentration de 10^{-3} M comme la concentration la plus appropriée, permettant d'obtenir une meilleure

résonance plasmonique de surface. Dans la plupart des méthodes de chimie humide et de synthèse biologique, l'augmentation de l'intensité des ions argent augmente la vitesse d'obtention de la résonance plasmonique de surface. Les nanoparticules d'argent se forment dans la gamme de longueurs d'onde de 400 à 490 nm, avec la formation d'une forme en cloche idéale, caractéristique de la formation des nanoparticules d'Ag₀ (Pandey S *et al.*, 2012)

5.2 Effet du rapport volumique:

Le rapport volumique de la solution d'ions argent à l'extrait servant de réducteur et de stabilisant, ou borohydrure de sodium, joue un rôle important dans la synthèse des nanoparticules d'argent. Différentes publications ont montré que, dans les méthodes biologiques et les voies de synthèse verte, un excès d'ions argent est nécessaire à une meilleure formation des nanoparticules d'argent. Dans certains cas, un rapport de 9:1 (solution d'ions argent: extrait végétal/bouillon) a été utilisé, tandis que dans d'autres, un rapport de 4:1 a été utilisé. (Oluwaniyi *et al.*, 2016)

5.3 Effet du temps de contact et de la température

Un autre facteur important influençant la croissance des nanoparticules d'argent est le temps de contact, également appelé temps de réaction. Ce facteur a été déterminé en faisant varier le temps de formation des nanoparticules d'argent. Généralement, le changement de couleur vers le jaune ou le brun témoigne de la croissance des nanoparticules d'argent. Ce phénomène est surveillé à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis jusqu'à ce que la longueur d'onde d'absorption maximale soit atteinte, avec une excellente résonance plasmonique de surface (RPS). L'intensité du pic est fonction du temps de contact et augmente donc avec le temps. (Pandey S *et al.*, 2012) Le temps de contact est l'un des paramètres qui contrôlent la taille des nanoparticules d'argent en raison du décalage vers le bleu des pics d'adsorption. On peut en déduire qu'entre 0 et 20 minutes (au stade initial), la bande de RPS s'élargit en raison de la lente conversion des ions argent (Ag⁺) en nanoparticules d'argent zérovalentes (Ag₀). L'augmentation du temps de contact favorise une excellente formation de bandes plasmoniques, car une grande quantité d'Ag⁺ a été convertie en Ag₀. Cependant, une augmentation supplémentaire du temps de contact entraîne une diminution notable de l'intensité d'absorption et de la longueur d'onde, ce qui indique une certaine agrégation des nanoparticules d'argent, entraînant une diminution de la taille des particules (Wen C *et al.*, 2012).

5.4 Effet du pH

Plusieurs facteurs influencent la réduction des ions argent en nanoparticules d'argent. Le pH, l'un des paramètres opérationnels, joue un rôle majeur car il affecte la chimie de la synthèse des nanoparticules d'argent. Ceci est réalisé en ajustant le pH à l'aide d'acide phosphorique ou d'acide chlorhydrique et d'hydroxyde de sodium. En pratique, lors de la synthèse verte, le pH de l'extrait est ajusté de 2 à 11, et le processus de réduction est suivi par spectroscopie UV-Vis. Ce changement de nature chimique de l'extrait affecte ses performances ainsi que le taux de réduction. Dans une étude menée par Heydari et Rashidipour sur la synthèse verte de nanoparticules d'argent à partir d'extrait d'écorce de chêne, les résultats ont montré que le taux de synthèse des nanoparticules d'argent augmente avec le pH jusqu'à pH = 9, puis diminue (Heydari R *et al.*, 2015).

6. Caractérisation des nanoparticules d'Argent :

Les nanoparticules peuvent être classées en catégories quantitatives et qualitatives. Les différentes propriétés des nanoparticules telles que la taille, la géométrie, la forme, la cristallite et la surface peuvent être déterminées à l'aide de ces techniques. Par exemple, la technique de spectroscopie UV-vis est utilisée pour confirmer la formation de nanoparticules en montrant le pic de résonance plasmonique. La détermination de la cristallite est effectuée en utilisant la diffraction des rayons X. À l'aide de l'analyse TEM, AFM et SEM, la morphologie, la forme et la taille des particules des nanoparticules peuvent être trouvées. De plus, la hauteur et le volume des particules peuvent être mesurés à l'aide d'images AFM tridimensionnelles. De plus, la technique de diffusion dynamique de la lumière est utilisée pour déterminer la distribution granulométrique. La spectroscopie des restes de surface (SERS), champ noir annulaire à grand angle (HAADF), spectroscopie d'absorption atomique (AAS) et spectroscopie photoélectronique à rayons (XPS) et analyse thermogravimétrique (TGA). (Paramelle Dorian, *et al.*, 2014)

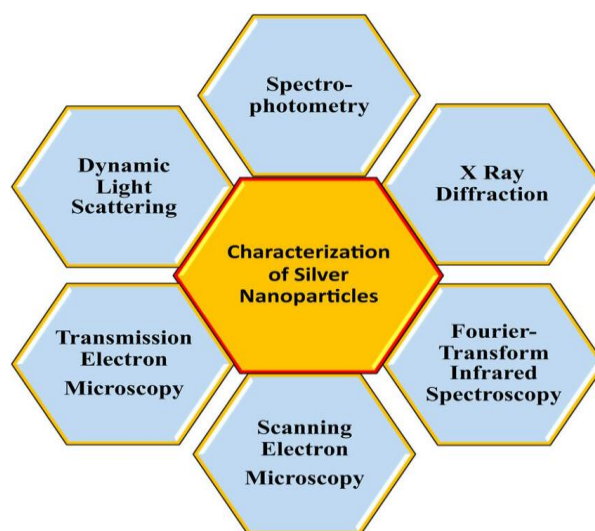


Figure 07 : Différentes méthodes biologiques pour la synthèse de nanoparticules d'argent (Hiester,A *et al.*, 2004)

6.1 UV Visible

La spectroscopie UV-Visible est une technique très utilisée pour les substances organiques et minérales, elle repose sur la transition d'électrons de valence qui passent de l'état fondamental à l'état excité grâce à une onde électromagnétique (Hiester, A *et al.*, 2004). Il a été utilisé pour vérifier les AgNPs biosynthétisés (Pirtarighat, S *et al.*, 2019). Outre l'analyse, identifier et caractériser de ces derniers. Il utilise une longueur d'onde comprise entre 200 et 800 nm et il est capable d'identifier des nanoparticules dont taille varie de 2 à 100 nm.

6.2 La diffraction des rayons X (RDX)

Le spectre DRX des AgNPs biosynthétisés indiquent la réduction du nitrate d'argent en AgNPs et l'état d'oxydation des particules, ainsi la cristallinité d'argent Ago. La taille cristalline moyenne des AgNPs s'est à peu près être de 12,95 nm à un visage cubique centré (Hazarika,S *et al.*, 2016)

6.3 La spectroscopie Infrarouge à transformer de fourrier

L'infrarouge est une méthode très utilisée pour la caractérisation et l'identification des composés ou de leurs groupements fonctionnels (liaisons chimiques) dans un mélange d'extraits. L'identification des liaisons se fait à l'aide du nombre d'onde correspondant et la détermination de groupe caractéristique par un spectre d'un composé inconnu qui sera identifié par comparaison à la bibliothèque des composés connus (Mollick, E *et al.*, 2014).

Puis, elle est utilisée pour confirmer l'interaction entre l'argent et les bioréducteurs (Rai, M. *et al.*, 2013)

6.4 La microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface des nanoparticules d'argent en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Des études montrent que les nanoparticules d'argent de taille environ 50 nm (Kalishwaralal, K *et al.*, 2008)

6.5 Caractérisation structurale des nanoparticules métalliques par Microscopie Electronique à Transmission (MET)

La microscopie électronique à transmission (MET) est une technique très utile pour la caractérisation des nanoparticules métalliques. Le contraste observé en MET provient de la différente capacité de l'échantillon à laisser passer ou à diffuser les électrons. Comme les nanoparticules métalliques ont une densité électronique très élevée, cela permet d'obtenir des images de très bonne qualité. Cette technique permet une observation directe de la morphologie de l'échantillon à l'échelle nanométrique (Ider M *et al.*, 2017).

7. Applications des nanoparticules d'argent

Ces dernières années, il y a eu diverses estimations de la production mondiale d'AgNPs. Il est prévu que l'industrie mondiale des nanotechnologies continuera de croître de manière significative, plus précisément, la production d'AgNPs. Plusieurs études ont montré que les AgNPs ont une plus grande valeur marketing que les autres NPs et que leur présence dans les produits de consommation est plus largement annoncée (Calderón-Jiménez, *et al.*, 2017)

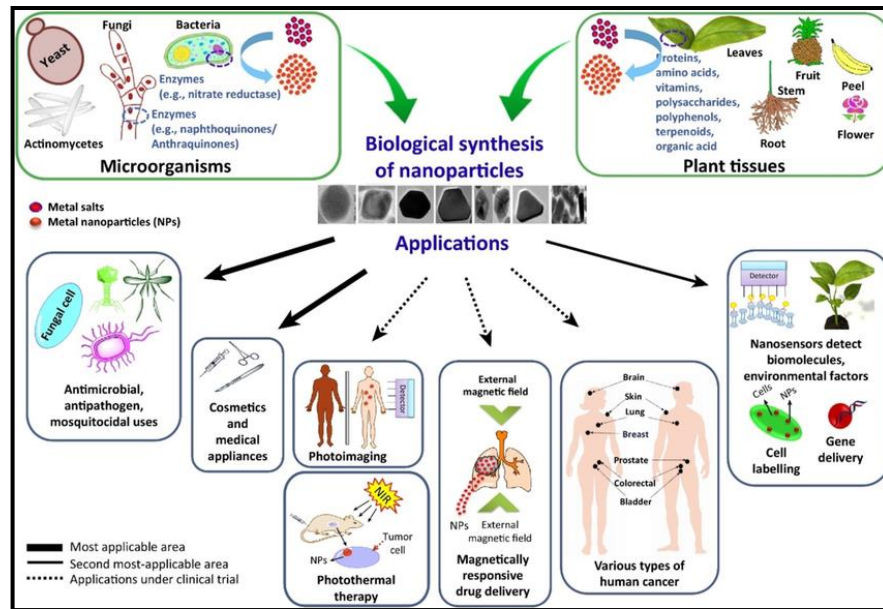


Figure 08 : Applications des nanoparticules d'argent (Calderón-Jiménez, *et al.*, 2017)

7.1 Activité antimicrobienne

De nombreuses études ont confirmé l'efficacité des nanoparticules d'argent (AgNPs) contre divers microbes, y compris les souches résistantes aux antibiotiques. (Verma *et al.*, 2010) ont montré une forte activité des AgNPs contre *Candida albicans*, *Pseudomonas fluorescens* et *E. coli*. (Adebayo-Tayo *et al.*, 2019) ont observé une inhibition significative de *Bacillus cereus*, *Citrobacter* sp. et *E. coli* par des AgNPs biosynthétisés. L'efficacité des antibiotiques a également été augmentée lorsqu'ils sont combinés aux AgNPs. Ces derniers ont démontré une action anti-biofilm, utile contre des infections oculaires comme la kératite, et les Gr-AgNPs issus de feuilles de goyave ont montré une meilleure activité contre *E. coli* que les AgNPs chimiques, grâce à une meilleure adsorption des biomolécules (Gurunatan S *et al.*, 2009).

7.2 Activité antifongique

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) présentent une activité prometteuse en tant qu'antifongiques sûrs et respectueux de l'environnement, en particulier contre *Candida albicans* et *C. glabrata*, et l'efficacité dépend de la taille des particules. Il a été démontré que les AgNPs biosynthétisés sont efficaces contre de multiples agents pathogènes végétaux à une concentration de 15 mg/mL (M.D.R *et al.*, 2012) et contre *Fusarium oxysporum* à une concentration de 8 µg/mL (G.V *et al.*, 2013). La combinaison d'AgNPs avec la nystatine ou la chlorhexidine a également amélioré l'effet anti-biofilm. De plus, il s'est avéré efficace contre les champignons endophytes tels qu'*Aspergillus* et *Penicillium* (O.A *et al.*, 2015).

7.3 Activité antivirale

Les maladies virales sont de plus en plus répandues, ce qui rend le développement d'agents antiviraux crucial. Parmi eux, les nanoparticules d'argent (AgNPs) se distinguent par leurs mécanismes antiviraux particuliers, influencés par leur taille et leur forme. Elles ont montré une efficacité inhibitrice contre le VIH et le virus de l'hépatite B. Une étude sur l'administration intra-nasale d'AgNPs chez la souris a révélé une amélioration notable de la survie après infection par le virus grippal H3N2, avec une réduction de la charge virale pulmonaire et des lésions tissulaires (X. D. X. *et al.*, 2013)

7.4 Activité anti-inflammatoire

Pour lutter contre l'inflammation, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont récemment émergé comme agents anti-inflammatoires prometteurs. Bien que leur action antimicrobienne soit bien connue, leurs effets anti-inflammatoires restent peu explorés. Bhol et Schechter (B. K. C. *et al.*, 2007) ont démontré que l'administration d'AgNPs chez le rat, par voie intracolonne (4 mg/kg) ou orale (40 mg/kg), réduit significativement l'inflammation du côlon. Les rats traités ont également présenté une guérison plus rapide et une amélioration esthétique dépendante de la dose. De plus, dans un modèle de dermatite de contact porcine, le traitement au nano-argent a augmenté l'apoptose des cellules inflammatoires et réduit les cytokines pro-inflammatoires (M.P. L *et al.*, 2010)

7.5 Anticancéreux

En raison de leur cytotoxicité, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont largement utilisées comme agents anticancéreux. Le degré de toxicité dépend de sa charge de surface ; Les particules chargées positivement présentent une persistance tissulaire plus élevée, ce qui les rend adaptées à l'administration de produits thérapeutiques. Il s'est avéré efficace contre divers types de cancer, tels que le cancer du foie, du poumon, du sein et du col de l'utérus, en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et en inhibant la croissance des vaisseaux sanguins et la division cellulaire. Cela entraîne également des dommages à l'ADN et des perturbations de l'équilibre calcique, ce qui stimule la mort cellulaire (apoptose) et arrête la division.

Azizi et son équipe ont développé un nouveau nanocomposite composé d'AgNPs recouverts d'albumine ciblant les cellules cancéreuses du sein MDA-MB 231. Ces cellules ont montré des signes d'apoptose et les particules de 90 nm chargées négativement (-20 mV) ont

été efficaces pour cibler les cellules cancéreuses, ce qui les rend prometteuses comme agent chimiothérapeutique potentiel à une concentration DL50 de 5 μ M (W.T *et al.*, 2011).

7.6 Textiles

Les nanomatériaux, notamment les nanoparticules d'argent (AgNPs), sont utilisés dans les textiles (vêtements de sport, sous-vêtements, etc.) pour leurs propriétés antimicrobiennes et de blocage UV. Des études ont montré leur efficacité contre des bactéries telles que *S. aureus*, *K. pneumoniae*, (*S. Onitsuka et al.*, 2018) *Corynebacterium* (*A. P.V et al.*, 2009), *P. aeruginosa* (*J.B.H et al.*, 2010) et *E. coli* (*W. H .J et al.*, 2010) . Les tissus traités présentent aussi des propriétés hydrofuges et oléofuges. ont démontré l'intégration efficace de ces nanoparticules dans les fibres textiles, les rendant adaptés aux applications biomédicales (*A. M.Othman et al.*, 2017).

7.7 L'industrie alimentaire

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés antibactériennes, permettant une meilleure conservation des aliments sans conservateurs (*C.M.K et al.*, 2012). Elles sont intégrées dans les emballages et revêtements alimentaires pour prolonger la durée de conservation et limiter la croissance microbienne . Plusieurs études ont démontré leur efficacité, notamment dans la réduction des microbes sur le melon, le jus d'orange et le poulet. Toutefois, certains résultats comme ceux de montrent une efficacité limitée selon les conditions d'entreposage et le type d'aliment (*L.Kuuliala et al.*, 2015).

7.8 Activité catalytique

Les AgNPs montrent une activité catalytique efficace dépendante de leur taille et de leur méthode de synthèse. Elles facilitent la réduction de colorants comme le bleu de méthylène (MB) avec NaBH_4 ou l'orange méthylique sous lumière visible (*Ulva lactuca*). Des extraits végétaux comme ont été utilisés pour synthétiser des AgNPs actives dans la dégradation de divers colorants. Un taux de dégradation élevé (jusqu'à 98,2 % en 60 min) a été observé (*Balaraman et al.* 2020). De plus, les AgNPs peuvent être récupérées et réutilisées efficacement jusqu'à trois fois (*D.Baruah et al.* 2019).

Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les graines d'anis ont été identifiées par le Professeur LAIB Ibtissam (Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université d'El Oued) après avoir collecté les parties aériennes de la plante *P.anisum L* au cours du mois de novembre 2024 dans le nord-est de l'Algérie, plus précisément dans la région d'El Eulma (36°09'54"N 5°41'25"E) dans la province de Sétif. La partie aérienne a été nettoyée sous l'eau courante du robinet pour éliminer la poussière et autres corps étrangers. Il a ensuite été broyé, séché et stocké pour une utilisation ultérieure.



Figure 09 : *P.anisum L* original (2024)

Vingt rats albinos mâles adultes, pesant entre 160 et 250 g, ont été collectées à l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été transférés à l'animalerie du Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université d'El Oued, Algérie, où ils ont été acclimatés pendant e, avec une humidité relative de 64 ± 2 % et une température ambiante nviron un mois dans les mêmes conditions environnementales du laboratoire. Le cycle lumineux (12 h de lumière/12 h d'obscurité) a été maintenu de 19 ± 1 °C. De la nourriture et de l'eau potable ont été fournies ad libitum tout au long des expériences. Toutes les procédures liées aux soins et à la manipulation des souris au cours des expériences ont été réalisées conformément aux pratiques éthiques recommandées par le comité d'éthique local. Toutes les expériences sur les animaux ont été menées à l'Université d'El Oued conformément aux directives éthiques et approuvées par le comité d'éthique de l'université (numéro d'approbation 04/S.C./FL/NS/EU/2025). L'étude a été enregistrée sous les références 4/2025.

1.3. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude, notamment *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Bacillus subtilis* (ATCC 25973) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13885) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), du laboratoire de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie.

1.4. Produits chimiques et réactifs

Tous les produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique et obtenus auprès de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, États-Unis). Le principal produit chimique utilisé était le nitrate d'argent (AgNO_3 , 99,9 %), qui a joué un rôle crucial dans la synthèse des nanoparticules d'argent. De plus, divers autres produits chimiques étaient nécessaires aux protocoles expérimentaux, notamment l'acide chlorhydrique (HCl , 36-38%), l'ammoniac dilué (NH_4OH , 25-30%), l'acide sulfurique (H_2SO_4 , 98%), le chloroforme (CHCl_3 , 99,8%), le chlorure ferrique (FeCl_3 , 99%), le carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 99,5%), le réactif de Folin-Ciocalteu ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40} + \text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, 99%), un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, le chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 99%), l'acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, 99%), le méthanol (CH_3OH , 99,8%) et le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$, 98%), diméthylsulfoxyde (DMSO) ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$, 99,9%), ferricyanure de potassium ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 99%), phosphate de sodium (Na_3PO_4 , 98%), molybdate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 99%), dodécylsulfate de sodium (SDS) ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$, 98,5%), ovalbumine ($\text{C}_{448}\text{H}_{704}\text{N}_{124}\text{S}$, 95%), la principale protéine du blanc d'œuf, acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, 98%), quercétine ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$, 98%), réactif de Wagner/Mayer, acide aspicique, hydroxyde de sodium (NaOH , 98-99%) et solution tampon phosphate plus Acide sulfurique (H_2SO_4 , 98%). Ces réactifs ont été utilisés dans de nombreuses expériences et analyses tout au long de l'étude pour garantir l'exactitude et la fiabilité des résultats.

2. Méthodes

2.1. Analyse phytochimique de *P.anisum* L

2.1.1. Extraction de l'extrait aqueux de *P.anisum* L

Pour réaliser l'extrait aqueux, 10 g de poudre sèche de *P.anisum* ont été mélangés à 100 mL d'eau distillée. Après macération pendant 24 heures à température ambiante, le mélange a été filtré à l'aide de papier Whatman et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait a été pesé et conservé à 4°C dans un réfrigérateur pour analyse ultérieure. (Murugan and Parimelazhagan, 2014).

2.1.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé comme suit : équation (1)

$$\text{Rendement (\%)} = W1/W2 \times 100 \text{ (1)}$$

Où W1 est le poids de l'extrait et W2 est le poids de la poudre séchée de matière végétale (Boutennoun *et al.*, 2017).

2.1.3. Analyse phytochimique

Sélection phytochimique on a identifié et détecté les composants actifs de l'extrait végétal de *P.anisum* L en réalisant des tests chimiques de la manière suivante:

2.1.3.1. Polyphénols

2mL de l'extrait ont été traités avec quelques gouttes de FeCl₃ à 2 % (p/v). Lorsque des dérivés de polyphénols sont présents dans le FeCl₃, la couleur vire au vert ou au bleu noirâtre (Sankhalkar and Vernekar, 2016).

2.1.3.2. Alcaloïdes

Verser 1 mL de l'extrait à analyser dans chacun des deux tubes à essai. Ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le deuxième tube après avoir acidifié le milieu avec quelques gouttes de HCl. Les alcaloïdes sont indiqués par le développement d'un précipité brun ou blanc, respectivement (Gontijo *et al.*, 2017).

2.1.3.3. Flavonoïdes

La présence de flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une teinte jaune dans le tube à essai après avoir ajouté 5 mL de l'extrait à tester, 5 mL d'ammoniaque dilué et 1 mL de H₂SO₄ (Ibtissam *et al.*, 2021).

2.1.3.4. Terpènes

Nous avons placé 5 mL d'extrait végétal dans un tube à essai, en y ajoutant 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. La présence de terpénoïdes donne lieu à une teinte brun rougeâtre (Harborne, 1998).

2.1.3.5. Saponines

Un tube de laboratoire renferme 10 mL de l'extrait aqueux. Après 15 secondes de secouage du tube, on l'a laissé tranquille pendant encore 15 minutes. La présence de saponines a été signalée par une hauteur de mousse soutenue supérieure à 1 cm (Edeoga *et al.*, 2005)

2.1.3.6. Recherche de tanins

Nous fusionnons 5 mL de l'extrait avec 1 mL d'une solution aqueuse à 2 % de chlorure ferrique (FeCl_3) dans un tube de laboratoire. Selon (Evans, 2009), un ton verdâtre ou bleuâtre signale la présence de tannins.

2.1.3.7. Glycosides du cœur

On a combiné 2 mL de chloroforme avec 1 mL de l'extrait. On a ensuite délicatement ajouté du H_2SO_4 à l'intérieur du tube à essai. La présence d'une partie glycone d'un glycoside cardiaque est signalée par une teinte brunâtre (Yam *et al.*, 2009)

2.1.3.8. Anthocyanes

On procède au traitement de l'extrait aqueux en y incorporant une modeste portion d'acide chlorhydrique, suivie par l'ajout d'une quantité réduite d'ammoniac (NH_4OH). Si des anthocyanes sont présents, la teinte se modifiera et le rouge se manifestera (Wadood *et al.*, 2013)

2.1.3.9. Stéroïdes

On a ajouté 5 gouttes d' H_2SO_4 concentré à 1 ml d'extrait. La couleur rouge signale la présence de stéroïdes (Trease et Evans, 1989)

2.1.4. Quantification des composés phytochimiques

2.1.4.1. Estimation des composés phénoliques

Totaux Les composés phénoliques totaux ont été déterminés par dosage de Folin-Ciocalteu. 0,2 ml d'extrait aqueux de *P.anisum* L a été ajouté à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 %. 800 μl de carbonate de sodium saturé (75 g/l) ont été ajoutés après 4 minutes. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Pour garantir la reproductibilité des résultats, les tests ont été répétés trois fois (Slinkard et Singleton, 1977). La teneur en composés phénoliques totaux a été calculée à partir de l'équation d'étalonnage linéaire de l'acide gallique standard en mg d'équivalent acide gallique par gramme.

2.1.4.2. Quantification des flavonoïdes

Totaux Nous avons utilisé l'analyse colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3) pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait de *P.anisum L* (Ahn *et al.*, 2007) de la manière suivante : 1 mL de la solution d' AlCl_3 a été combiné avec 1 mL de l'échantillon et 1 mL de l'étalon. À 430 nm, l'absorbance a été mesurée après 30 minutes en comparaison avec le blanc réactif préparé. Afin de trouver les résultats, une équation d'étalonnage linéaire avec l'utilisation de la quercétine comme étalon a été utilisée. Les résultats ont été exprimés en milligrammes de quercétine par gramme d'extrait.

2.2. Synthèse verte des nanoparticules d'argent

Les AgNPs ont été synthétisées en mélangeant 10 ml de partie aérienne de *P.anisum L* avec 90 ml d'une solution d' AgNO_3 à 10 mM. Une couleur brunâtre apparaît après quelques minutes, ce qui indique la synthèse des AgNPs. Les mélanges ont été conservés dans l'obscurité à 60 °C et pendant 24 heures. Après

La production d'AgNPs a été confirmée par des spectres UV-vis, elle a été centrifugée pour avoir une séparation complète, puis elle a été lavée plusieurs fois avec de l'éthanol et de l'eau distillée. Le précipité final a été recueilli avec soin et séché pour obtenir les nanoparticules finales d'AgNPs pour de futures expériences et caractérisations (Jha et Shimpi, 2018)

2.2.1. Caractérisation des AgNPs

Les nanoparticules d'argent ont été caractérisées par UV-Vis, FT-IR, XRD, SEM et EDX

2.2.1.1. Spectrophotomètre UV-visible

Les propriétés optiques des AgNPs ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV-1800 (Japon). Les données ont été collectées dans la gamme de longueurs d'onde de 200 à 800 nm.

2.2.1.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier

Un spectromètre FTIR Agilent Cary 630 (Agilent Technologies) a été utilisé pour étudier les caractéristiques de liaison des AgNPs. L'échantillon a été placé directement sur la plate-forme, une pression uniforme a été appliquée et les spectres ont été enregistrés sous la

forme d'une moyenne de 8 balayages à une résolution de 16 cm⁻¹ dans la plage (4000-400) cm⁻¹.

2.2.1.3. Diffraction des rayons X (DRX)

La structure cristalline des AgNPs a été étudiée à l'aide de la diffraction des rayons X sur poudre) PROTO AXRD Benchtop) en utilisant un rayonnement CuK α (30 kV, 20 mA) avec une longueur d'onde de 0,154281 nm et une vitesse de balayage de 0,05°.

Dans la plage 2 θ de 20 à 80°, nous avons pu effectuer l'analyse aux rayons X de solides distinctement mélangés. La taille des cristallites a été calculée à l'aide de la formule de Scherrer équation (02), en sélectionnant le pic dominant de la plus haute intensité.

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta}$$

Où D est la taille des cristallites, k est le facteur de forme (0,9), λ est la longueur d'onde (0,154281)nm, CuK α), β est la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) et θ est l'angle de diffraction

2.2.1.4. Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie dispersive en énergie (EDX)

La microscopie électronique à balayage permet de balayer une région de la surface de l'échantillon avec un faisceau d'électrons de quelques nanomètres de diamètre. La technique permet de visualiser les caractéristiques morphologiques à fort grossissement entre le faisceau d'électrons et les enveloppes atomiques des éléments du matériau à analyser. Le balayage crée un rayonnement de fluorescence X qui peut être rendu détectable par une spectroscopie dispersive en énergie (EDS) et peut être utilisé pour l'analyse.

La forme et la taille des particules de nanoparticules d'argent ont été examinées à l'aide du phenom Pro Microscope électronique à balayage de bureau (MEB) avec un grossissement optique de 20-134×, un grossissement électronique de 160-150 000×, un zoom numérique maximal de 12×, des tensions d'accélération de 5, 10 et 15 kV, un détecteur d'électrons rétrodiffusés. Détecteur d'électrons rétrodiffusés (BSD) et spectroscopie dispersive en énergie (EDX), résolution nominale de 6 nm ou moins. Le microscope est équipé d'un porte-échantillon à température contrôlée (plage de température -20°C à 50°C).

2.3. Activité *in vitro* de l'extrait aqueux de *P.anisum* L , des nanoparticules d'argent

2.3.1. Activité antioxydante

2.3.1.1. Activité anti-radicalaire DPPH :

1mL de la solution DPPH• est mélangé à 1 mL de chaque extrait (ou d'acide ascorbique comme témoin). Le mélange réactionnel est agité pendant quelques secondes et conservé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance du milieu réactionnel est enregistrée à 517 nm équation (03) (Mansouri *et al.*, 2005)

$$\text{Pourcentage d'inhibition (IP)} = [(\text{témoin Abs} - \text{échantillon Abs}) / \text{témoin Abs}] \times 100]$$

Où témoin Abs est l'absorbance du témoin (avec tous les réactifs sauf l'échantillon) et échantillon Abs est l'absorbance de l'échantillon.

2.3.1.2. Dosage du pouvoir réducteur (RP):

Le pouvoir réducteur a été déterminé par les procédures d'Oyaizu. L'échantillon a été mélangé avec un tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et une solution aqueuse à 1 % de ferricyanure de potassium (2,5 ml, K₃ [Fe (CN) 6]) avec des concentrations variées (mg/ml) dans de l'eau déionisée. Après ajout d'aliqotes d'acide trichloracétique (2,5 ml, solution aqueuse à 10 %), le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes et centrifugé à 10 minutes à 3 000 tr/min. Le surnageant (2,5 ml) et l'eau filtrée ont été ajoutés à une solution de FeCl₃ (0,5 ml, 0,1%) fraîchement préparée (2,5 ml) ; l'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 700 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif (Oraiza, 1986)

2.3.1.3. Dosage du phosphomolybdate (capacité antioxydante totale)

Le dosage est basé sur la capacité de l'extrait à réduire le Mo (VI)-Mo (V) puis à former un complexe phosphate vert/Mo (V) sous pH acide. Une aliquote de 0,3 mL de l'extrait a été ajoutée à 3 mL de solution réactive (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange réactionnel a ensuite été incubé dans des tubes pendant 90 minutes à 95 °C. Après refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance de la solution à 695 nm a été mesurée par un spectrophotomètre par rapport à un blanc. 0,3 mL d'eau distillée est utilisé comme blanc à la place de l'extrait (Islam *et al.*, 2013)

Un graphique AA typique a été utilisé pour estimer les équivalents d'acide ascorbique. L'expérience a été menée en triple et les résultats sont rapportés en mg/g d'extrait égal à l'acide ascorbique.

2.3.2. Activité anti hémolytique

L'expérience d'hémolyse a été réalisée comme indiqué ci-dessous, selon (Vinjamuri *et al* 5 ; 2015). ml de sang ont été centrifugés à 1 000 tr/min pendant 10 minutes à 40 °C dans des tubes avec 5,4 mg d'EDTA pour éviter la coagulation. Le test hémolytique a été réalisé sur des érythrocytes lavés stockés pendant 6 heures à 40 °C. Des échantillons de test avec 100 µL d'un composant *P.anisum* L des nanoparticules d'argent et diverses fractions ont été utilisés. Une suspension d'érythrocytes en 10 dilutions, 50 µL de chaque, et 100 µL de 1XPBS (témoins positifs et négatifs), 100 µL chacun de SDS à 1 % ont été utilisés. Ensuite, incubé pendant 60 minutes dans un bain-marie à 37 °C (Vinjamuri *et al.*, 2015). Au mélange réactionnel, 850 µL de XPB ont été ajoutés pour porter le volume à 1 mL. Le mélange a été centrifugé pendant 3 minutes à 300 tr/min et la concentration en hémoglobine a été déterminée en quantifiant la quantité d'hémoglobine présente dans le surnageant à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

La formule suivante a été utilisée pour déterminer le pourcentage d'hémolyse équation (04)

$$\%Hemolysis\ Inhibition = 100 - \frac{OD\ sample}{OD\ sample} \times 100$$

2.3.3. Calcul du facteur de protection anti solaire (Anti SPF)

L'efficacité photoprotectrice des nanoparticules d'argent (NPA), l'extrait aqueux total (AE), a été évaluée en mesurant leur anti FPS par analyse spectrophotométrique. Chaque échantillon a été préparé à 1 mg/mL dans de l'éthanol pour assurer l'homogénéité. L'absorbance a été mesurée entre 290 et 320 nm, avec des intervalles de 5 nm. L'Avène®, un écran solaire disponible dans le commerce, a été utilisé comme témoin positif. Les valeurs du SPF ont été calculées selon la formule décrite par (Rudrappa *et al.*, 2023) équation (05):

$$\bullet \text{ SPF Spectrophotométrique} = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times DO(\lambda)$$

où :

CF ; facteur de correction (10).

EE ; effet érythémateux du rayonnement à la longueur d'onde (λ) nm.

I ; spectre d'intensité solaire (λ) nm.

DO (λ) ; valeurs d'absorbance spectrophotométrique à la longueur d'onde. Les valeurs de EE (λ) $\times$ I (λ) sont des constantes. Pour garantir la précision, chaque test a été réalisé en triple.

2.3.4. Activité anti-inflammatoire

Le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf a été utilisé pour étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux brut, des nanoparticules d'argent et des fractions de *P.anisum* L . Le mélange réactionnel (5 ml) était composé de 200 μ l d'albumine d'œuf de poule fraîche, de 2,8 ml de tampon phosphate (pH 6,4) et a été additionné de 2 ml de diverses concentrations de notre échantillon médicament standard diclofénac sodique, également, 2 ml d'eau distillée ont été utilisés à la place de l'extrait ou du diclofénac pour préparer le témoin. Les mélanges réactionnels ont été incubés à 37 °C dans un bain-marie pendant un intervalle de 15 minutes. Ensuite, les mélanges réactionnels ont été soumis à un temps de chauffage de 5 minutes à 70 °C. L'absorbance des mélanges réactionnels a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible après refroidissement, et le tampon a servi de blanc (Dharmadeva *et al.*, 2018)

L'équation suivante a été utilisée pour obtenir le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf équation (06):

$$\text{inhibition percentage} = \frac{A \text{ control} - A \text{ sample}}{A \text{ control}} \times 100$$

2.3.5. Dosages de l'activité antibactérienne

La sensibilité des souches bactériennes de l'extrait aqueux brut, des nanoparticules d'argent et des fractions de *P.anisum* L a d'abord été établie par la méthode de diffusion en gélose citée par (Belhaoues *et al.*, 2020)

2.3.5.1. Test antibactérien utilisant la méthode de diffusion en gélose

Comme mentionné ci-dessus, le test de diffusion en gélose a été utilisé pour tester l'activité antibactérienne des matériaux. Les souches bactériennes ont été, avant l'application, sous-cultivées sur gélose nutritive à 37°C pendant 24 heures en phase de croissance stationnaire. La suspension de cellules bactériennes est un autre paramètre (10⁶ unités formant colonie/mL), ont été étalées sur des boîtes de Petri Mueller Hinton agar à l'aide

d'écouvillons stériles). Des disques de 6 mm ont ensuite été immergés dans 10 microlitres de divers extraits de plantes, d'AgNPs et de fractions d'*P.anisum* L qui ont été solubilisés dans du DMSO (5 %, v/v) à différentes concentrations. L'amoxicilline (10 µg/mL), la céphalexine (30 µg/mL) et (DMSO 5 %, v/v) ont été utilisées comme contrôle positif et négatif, respectivement, et conservées à 24 heures d'incubation à 37 °C.

2.4. Activité *in vivo* de l'extrait aqueux de *P.anisum* L et des AgNPs

2.4.1. Activité antidépressive

2.4.1.1. Test de nage forcée

Le test de nage forcée (FST) a été utilisé comme outil de laboratoire courant pour évaluer les comportements liés à la dépression chez les animaux, en particulier les rongeurs (Commons *et al.*, 2017). Dans ce test, les animaux sont exposés à des facteurs de stress inévitables à court terme en étant placés dans un récipient cylindrique rempli d'eau (Tabassum *et al.*, 2010). La période d'immobilité, pendant laquelle l'animal cesse d'essayer et flotte à la surface de l'eau, est considérée comme un indicateur de désespoir comportemental associé à la dépression (Porsolt *et al.*, 1977).

Le récipient cylindrique utilisé pour le test mesurait 30 cm de haut et 20 cm de diamètre, et était rempli d'eau à 26°C jusqu'à une profondeur de 15 cm. Pour augmenter la sensibilité du test, une séance de pré-test de 10 minutes a été réalisée 24 heures avant l'expérience principale pour induire le désespoir chez les animaux.

Le jour de l'expérience, les souris ont été traitées avec des injections intrapéritonéales de solutions d'extrait de plante *P.anisum* L à des doses de 40 ou 80 mg/kg et de nanoparticules d'argent à des doses de 0,1 et 0,2 mg/kg dissoutes dans du sérum physiologique, en plus d'une dose de 10 mg/kg de sulpiride comme standard de comparaison positive et standard de contrôle. Ces substances ont été administrées 30 minutes avant que les souris ne soient soumises à un test de nage forcée. Après le prétraitement, chaque souris a été placée dans un cylindre rempli d'eau et forcée à nager pendant 6 minutes. L'hypothèse de base était que les substances ayant des effets antidépresseurs réduiraient la durée d'immobilité par rapport à un groupe témoin de souris.

2.4.1.2. Test de suspension arrière

Le test de suspension de la queue (TST) est un outil permettant d'évaluer le désespoir comportemental chez les rongeurs. Il est basé sur le principe selon lequel les rongeurs exposés à un stress inévitable lors de la suspension de la queue présentent un état d'immobilité

comportementale qui est utilisé comme indicateur de désespoir comportemental. On s'attend à ce que les médicaments ayant des effets antidépresseurs (Cryan *et al.*, 2005) réduisent la durée d'immobilité dans ce test.

Dans cette étude, des souris ont été traitées avec des injections de solutions d'extrait de plante et de nanoparticules d'argent. À des doses de 40 ou 80 mg/kg et 0,1 ou 0,2 mg/kg dissous dans du sérum physiologique par voie intrapéritonéale. De plus, le sulpiride à une dose de 10 mg/kg a été utilisé comme standard de comparaison positive, avec un groupe témoin. Ces substances ont été administrées 60 minutes avant le test.

Au cours du test, les souris ont été suspendues individuellement par la queue à l'aide d'un support spécial pendant 6 minutes. La première minute était considérée comme une période d'acclimatation, suivie de 5 minutes d'observation attentive pour enregistrer le temps total passé par l'animal dans un état d'immobilité. Ces procédures visaient à évaluer l'efficacité des substances testées pour réduire la durée d'immobilité, suggérant des effets antidépresseurs (Agbaje *et al.*, 2014).

2.4.2. Évaluation du pouvoir analgésique

2.4.2.1. Test de la plaque chauffante

Le test de la plaque chauffante est basé sur l'évaluation de la réponse à la douleur induite en plaçant des souris sur une surface chauffée et est utilisé pour estimer l'effet analgésique de différents traitements. Dans cette étude, l'extrait d'anis (*P.anisum* L) et l'extrait de nanoparticules d'argent ont été utilisés pour évaluer leur activité analgésique, sur la base du protocole rapporté dans (Zeghad *et al.*, 2016).

Le jour de l'expérience, les animaux ont reçu une injection de sérum physiologique (groupe témoin) et un autre groupe de paracétamol à une concentration de 10 mg/kg comme contrôle positif. Les groupes expérimentaux ont reçu des échantillons d'essai (40 et 80 mg/kg) de *P.anisum* L et (0,1 et 0,2 mg/kg) de nanoparticules d'argent dissoutes dans une solution saline physiologique

Après 30 minutes de traitement avec les extraits ou les composés de référence, les souris ont été placées sur une plaque chauffante réglée à 55°C. Le temps de réponse en secondes (temps de latence) a été enregistré à partir du moment où l'animal a été placé sur la plaque jusqu'à l'apparition de la première réponse douloureuse, comme le léchage des membres postérieurs ou le saut. Le temps de réponse maximal autorisé est fixé à 30 secondes, afin d'éviter tout dommage thermique potentiel.(Ferreira, J ;*et al.*2002).

2.4.2.2. Essai de torsion

Le test de sédation induite par l'acide de poids corporel. Le score de douleur a été mesuré en comptant le nombre total de crampes observées sur une période de 30 minutes 5 minutes après l'injection d'acide acétique. Avant l'injection d'acide acétique, les animaux ont reçu une dose d'extrait de plante à des doses de 40 et 80 mg/kg de poids corporel, une dose de (0,1 et 0,2 mg/kg) de nanoparticules d'argent et une solution physiologique (groupe témoin). L'indométhacine a été utilisée comme substance de référence pour déterminer le seuil de référence (groupe témoin positif), à une dose de 10 mg par kg de poids corporel (Koster, 1959).

L'étendue de l'inhibition de la torsion a été calculée à l'aide de la formule suivante , équation (07).(Chouikh, 2020) :

$$I\% = \left[\left(\frac{\text{Mean } c - \text{Mean } s}{\text{Mean } c} \right) \right] \times 100$$

I%: de Pourcentage d'inhibition de contorsion

Meanc : Moyenne des gribouillis en l'absence d'échantillons.

Means : La moyenne des variances de l'échantillon dont les effets doivent être connus.

Analyse statistique

Les données ont été analysées avec Microsoft Excel (v2007). Le traitement et l'analyse des images ont été réalisés avec le logiciel ImageJ, les valeurs de l'écart-type étant calculées le cas échéant. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ erreur type de la moyenne (ETM). Une ANOVA à un facteur avec test post-hoc de Tukey a été utilisée pour les comparaisons entre les groupes.

Conclusion

Conclusion

La présente étude documente la synthèse et la caractérisation de nanoparticules d'argent/oxyde d'argent à partir d'un extrait de *P.anisum L*. L'activité biologique de l'extrait de *P.anisum L* et des nanoparticules d'argent synthétisées en vert a été évaluée par des tests *in vitro* et *in vivo*. Les résultats obtenus permettent de conclure que *P.anisum L* est une source très riche en composés bioactifs, principalement des flavonoïdes et des polyphénols, qui ont joué un rôle efficace dans l'amélioration de la bioactivité des nanoparticules d'argent préparées. Ces particules ont montré des propriétés prometteuses pour le soutien des systèmes de défense biologique, grâce à leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires, ouvrant des perspectives pour leur utilisation dans des applications médicales et pharmaceutiques préventives et thérapeutiques.

Les résultats d'analyses par FT-IR, UV-Vis, DRX et MEB ont démontré la synthèse réussie de nanoparticules d'argent, indiquant que les parties aériennes de *P.anisum L* contiennent des composés à l'activité biologique efficace, contribuant à la réduction du nitrate d'argent et à la stabilisation des nanoparticules obtenues.

Les nanoparticules d'argent et l'extrait de *P.anisum L* ont démontré une puissante activité antioxydante et anti-inflammatoire, suggérant leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules du stress oxydatif. Leur capacité à réduire l'inflammation ouvre également des perspectives prometteuses quant à leur potentiel thérapeutique ou thérapeutique pour les problèmes de santé associés à ces mécanismes.

Les nanoparticules d'argent/oxyde d'argent et *P.anisum L* ont montré une forte activité contre certaines bactéries, ce qui en fait des options prometteuses. Ainsi, ces deux approches thérapeutiques, en particulier les nanoparticules d'argent, qui se sont avérées très efficaces, pourraient être utilisées à l'avenir comme nano-antibiotiques pour lutter contre les bactéries infectant l'homme.

Le test d'hémolyse a montré que l'extrait brut de *P.anisum L* présentait la meilleure tolérance membranaire, soulignant ainsi son innocuité potentielle.

Il a été démontré que l'extrait de *P.anisum L* possède un meilleur facteur de protection anti solaire (Anti FPS) contre les rayons UV.

Les effets de type antidépresseur ont été évalués par des tests de nage forcée et de suspension caudale. L'extrait de *P.anisum L* et les nanoparticules d'argent ont montré une plus

grande efficacité pour réduire le temps d'immobilité, suggérant un effet antidépresseur.

Les effets analgésiques de l'extrait de *P.anisum L* et des nanoparticules d'argent/oxyde d'argent (Ag/Ag₂O) ont été évalués par le test de la plaque chauffante et le test de contorsion. Les résultats ont montré une efficacité significative des deux traitements dans la réduction de la réponse à la douleur, témoignant de leurs fortes propriétés analgésiques et de leur capacité potentielle à soulager efficacement la douleur.

Perspectives d'avenir :

- ✓ Développement pharmaceutique : Les extraits de plantes et les nanoparticules d'argent peuvent être utilisés dans le développement de nouveaux médicaments plus efficaces et présentant moins d'effets secondaires.
- ✓ Recherches en cours : Des études cliniques et des expériences en laboratoire supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action et améliorer l'efficacité thérapeutique.
- ✓ Applications industrielles : L'utilisation de ces matériaux dans l'industrie cosmétique et les formulations de crèmes solaires peut être explorée, compte tenu de leurs propriétés antioxydantes et de leur FPS.

Références

Références

1. A. P. V., M. G. L. K., H. M. P., & V. S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*, 3, 279–290.
2. A.Vogel. *Pimpinella anisum L./Anise/Plant Encyclopaedia*. www.avogel.ch
3. Acimovic, M. G., Korac, J., Jacimovic, G., & Oljaca, S. (2014). *Influence of ecological conditions on seeds traits and essential oil contents in anise (Pimpinella anisum L.)*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1), 232–238. doi:10.15835/nbha4219492
4. Adebayo-Tayo, B., Salaam, A., & Ajibade, A. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using *Oscillatoria* sp. extract: its antibacterial, antibiofilm potential, and cytotoxicity activity. *Heliyon*, 5, e02502. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02502>
5. Agarwal, H., Kumar, S.V., & Rajeshkumar, S. (2017). *A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach*. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406–413.
6. Agbaje, E.O., et al. (2014). *Antidepressant, anxiolytic, and anticataleptic effects of aqueous leaf extract of Antiaris toxicaria Lesch. in mice: possible mechanisms of actions*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25(4), 429–438. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2013-0054>
7. Ahn, M.-R., et al. (2007). *Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China*. *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392.
8. Amin, G. R. (2005). *Popular medicinal plants of Iran*. Vice Chancellorship of Research. Tehran, Iran: Tehran University of Medical Science Press.
9. Anand, K.K.H., & Mandal, B.K. (2015). *Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants*. *Spectrochim. Acta Part A*, 135, 639–645.
10. Anjum, N.A., et al. (2015). *Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants—An overview*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 192.
11. Asad, M., Ashraf, N., Rahman, S., Ahmad, K., Minhajuddin, A., Zakir, M. (2022). *Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities of anisun (Pimpinella anisum L.): A comprehensive review*.
12. Ayesha Arshad. (2017). *Bacterial Synthesis and Applications of Nanoparticles*. *Nano Science & Nano Technology: an Indian Journal*, 11(2), p.119.

13. Azzi, M., et al. (2024). *Antimutagenic and anticoagulant therapeutic effects of Ag/Ag₂O nanoparticles from Olea europaea leaf extract: mitigating metribuzin-induced hepato-and nephrotoxicity*. Front. Pharmacol., 15, 1485525.
14. B. K. C. and S. P. J. (2007). Effects of nanocrystalline silver (NPI 32101) in a rat model of ulcerative colitis. Dig. Dis. Sci., 52, 2732–2742.
15. Babulka P. (2004). *Les plantes de nos tisanes : l'anis vert (Pimpinella anisum L.)*. Phytothérapie, 2(2), 57-59.
16. Balaraman, P., Balasubramanian, B., Kaliannan, D., & Durai, M. (2020). Phyco-synthesis of Silver Nanoparticles Mediated from Marine Algae Sargassum myriocystum and Its Potential Biological and Environmental Applications. Waste and Biomass Valorization, 11, 5255–5271. doi: 10.1007/s12649-020-01083-5.
17. Balasundram, N., et al. (2006). *Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses*. Food Chemistry, 99(1), 191–203.
18. Baruah, D., Narayan, R., Yadav, S., Yadav, A., & Moni, A. (2019). Alpinia nigra fruits mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial and photocatalytic activities. J. Photochem. Photobiol. B Biol., 201, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111649.
19. Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani M., Rizzolio F. (2020). *The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine*. Molecules, 25(1), 112.
20. BEKARA AMINA. *Évaluation de l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux d'anis vert (Pimpinella anisum L) chez les jeunes rats exposés à l'acétate de plomb pendant la gestation et la lactation : étude neurocomportementale et évaluation de statut oxydatif*. Univ. Oran 1 Science et Technologie.
21. Belhaoues, S., et al. (2020). *Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of Anthemis praecox Link aerial parts*. South African Journal of Botany, 131, 200–205.
22. Benhammou, N., et al. (2009). *Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of Atriplex halimus*. Comptes Rendus Chimie, 12(12), 1259–1266.
23. Bezić, N., et al. (2003). *Composition and antimicrobial activity of Achillea clavennae L. essential oil*. Phytotherapy Research, 17, 1037–1040.
24. Bogdanova, O.V., et al. (2013). *Factors influencing behavior in the forced swim test*. Physiology & Behavior, 118, 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.05.012>

25. Bonina, F., Saija, A., et al. (1996). *Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage*. International Journal of Pharmaceutics, 145, 87–94.
26. Borgi, W., et al. (2008). *Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from Zizyphus lotus (L.) Lam.* South African Journal of Botany, 74(2), 320–324.
27. Borsato, M.L., et al. (2000). *Analgesic activity of the lignans from Lychnophora ericoides*. Phytochemistry, 55(7), 809–813. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00388-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00388-5)
28. Bouacheriene R, Benrabia H. 2017. *Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de BEN SROUR (M'sila)*. Mémoire de master. Université Mohamad Boudiaf - M'SILA. Algérie.
29. Boutennoun, H., et al. (2017). *In vitro cytotoxic and antioxidant activities of phenolic components of Algerian Achillea odorata leaves*. Arabian Journal of Chemistry, 10(3), 403–409.
30. Bruneton, Jean. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4e éd., Lavoisier, p. 514.
31. Calderón-Jiménez, B., Johnson, M.E., Montoro Bustos, A.R., Murphy, K.E., Winchester, M.R., & Vega Baudrit, J.R. (2017). *Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges*. Frontiers in Chemistry, 5, 6.
32. Chan, E. W. C., et al. (2007). *Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia*. Food Chemistry, 104, 1586–1593.
33. Chen, L. Q., et al. (2015). *Nanotoxicity of silver nanoparticles to red blood cells: size dependent adsorption, uptake, and hemolytic activity*. Chemical Research in Toxicology, 28(3), 501–509.
34. Chouikh, A. (2020). *Phytochemical profile, antioxidant, analgesic and hypolipidaemic effects of Ephedra alata Decne. female cones extract*. Farmacia, 68(6), 1011–1020. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2020.6.7>
35. Cifti, M., Guler, T., Dalkilic, B., & Nihat Ertas, O. (2005). *The effect of anise oil (Pimpinella anisum L.) on broiler performance*. International Journal of Poultry Science, 4(11), 851–855. doi:10.3923/ijps.2005.851.855
36. Clément R.P. 2005. *Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1ère partie)*. Législation. 4, 171-5.
37. Collier, H., et al. (1968). *The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse*. British Journal of Pharmacology and Chemotherapy, 32(2), 295.

38. Commons, K.G., et al. (2017). *The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior*. ACS Chemical Neuroscience, 8(5), 955–960. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00042>
39. Cryan, J.F., et al. (2005). *The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 29(4–5), 571–625.
40. Dargahi T., Ilkhani R., Ghiaee A., Arbabtafti R., Fahimi S., Jafari F., et al. (2021). *Anti-inflammatory effect of Pimpinella anisum extract in a mouse model of allergic asthma*. Research Journal of Pharmacognosy, 8(3), 41–49.
41. Davis, J.M., et al. (2003). *Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue*. American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.
42. Delille L. (2007). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Alger : Éditions Berti.
43. Dent, M., et al. (2013). *The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (Salvia officinalis L.) extracts*. Food Technology and Biotechnology, 51(1), 84–91.
44. Dhand, C., et al. (2015). *Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview*. RSC Advances, 5(127), 105003–105037.
45. Dharmadeva, S., et al. (2018). *In vitro anti-inflammatory activity of Ficus racemosa L. bark using albumin denaturation method*. Ayu, 39(4), 239.
46. Djemam, N., Lassed, S., Gül, F., Altun, M., Monteiro, M., Menezes-Pinto, D., Benayache, S., Benayache, F., Zama, D., & Demirtas, I. (2020). *Characterization of ethyl acetate and n-butanol extracts of Cymbopogon schoenanthus and Helianthemum lippii and their effect on the smooth muscle of the rat distal colon*. Journal of Ethnopharmacology, 252, 112613.
47. Dupon F., Guignard J.L. (2012). *Botanique : les familles de plantes*. Issy-les-Moulineaux.
48. Edeoga, H. O., Okwu, D., & Mbaebie, B. (2005). *Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants*. African Journal of Biotechnology, 4(7), 685–688.
49. Ejaz, M., Khalid, H., & Noor, S. (2024). *Biogenic synthesis of silver nanoparticles using P. anisum L. extract and their biomedical applications*. Advances in Green Nanotechnology, 8(2), 90–105.
50. El Jemli, M., et al. (2016). *Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of Juniperus species and Tetraclinis articulata*. Adv. Pharmacol. Sci., 2016.

51. El-Kersh, D.M., et al. (2022). *GC-MS metabolites profiling of anethole-rich oils by different extraction techniques: Antioxidant, cytotoxicity and in-silico enzymes inhibitory insights*. J. Enzym. Inhib. Med. Chem., 37, 1974–1986.
<https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2097445>
52. Evans, W. C. (2009). Trease and Evans' Pharmacognosy (16th ed.). Saunders Elsevier.
53. Ezeja, M.I., Anaga, A.O., & Asuzu, I.U. (2011). *Evaluation of the analgesic activity of the methanolic stem bark extract of Dialium guineense (Wild)*. Annals of Medical and Health Sciences Research, 1(1), 55–62.
54. Fayaz, A.M., et al. (2010). *Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 6, 103–109.
55. Fellah, K., et al. (2019). *Phenolic profile, antioxidants and kinetic properties of flavonoids and tannins fractions isolated from Prunus persica L. leaves growing in Southwest Algeria*. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(9), 4365–4370.
56. Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006). *Extraction et étude des huiles essentielles de la Salvia officinalis L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie*. Journal de la Société Algérienne de Chimie, 16(2), 193–202.
57. Ferreira, J., et al. (2002). *The use of kinin B1 and B2 receptor knockout mice and selective antagonists to characterize the nociceptive responses caused by kinins at the spinal level*. Neuropharmacology, 43(7), 1188–1197.
58. G. V. and V. P. (2013). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using Bacillus sp GP-23 and evaluation of their antifungal activity towards Fusarium oxysporum. Spectrochim. Acta A., 106, 170–174.
59. Ghouati Y., Belaiche T., Ouhssine M., Amechrouq A., Tahiri A., Chakir S. *Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de fruits d'anis vert marocain*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 151(1–4), 25–34.
60. Goddard, A.W., et al. (2010). *Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression*. Depression and Anxiety, 27(4), 339–350.
<https://doi.org/10.1002/da.20642>
61. Gontijo, D. C., et al. (2017). Identification of phenolic compounds and biologically related activities from Ocotea odorifera aqueous extract leaves. Food Chemistry, 230, 618–626.
62. Gulati, S., Sachdeva, M., & Bhasin, K. K. (2018). *Various synthetic routes for the preparation of nanoparticles*. AIP Conference Proceedings, 1953(1), p.030215.

63. Gulçin I., Oktay E., Kireççi E., Kufreevioglu I. (2003). *Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts*. Food Chemistry, 83(3), 371-382.
64. Gülçin İ., Oktay M., Kireççi E., Küfrevioğlu Öİ. (2003). *Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts*. Food Chemistry, 83(3), 371-382.
65. Harborne, A. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Science & Business Media.
66. Hazarika, S.N., et al. (2016). *One-pot facile green synthesis of biocidal silver nanoparticles*. Materials Research Express, 3(7), 075401.
67. Heim, K.E., et al. (2002). *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. J. Nutr. Biochem., 13(10), 572–584.
68. Heister, A., et al. (2004). *Studies of QCD at $\sqrt{s}$ centre-of-mass energies between 91 and 209 GeV*.
69. Hemmerlin, M. (2014). *Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la Cyanobactérie modèle: Synechococcus elongatus PCC 7942* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
70. Hensler, J.G. (2012). *Serotonin*. In: Basic Neurochemistry. Elsevier, pp. 300–322.
71. Heydari, R., & Rashidipour, M. (2015). *Green synthesis of silver nanoparticles using extract of oak fruit hull (Jaft): Synthesis and in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells*. International Journal of Breast Cancer, Article ID 846743.
72. Ibrahim, A. A. E. M. (2008). *Correlation between fennel- or anise-oil administration and damage to the testis of adult rats*. Egyptian Journal of Biology, 10, 62–76.
73. Ibrahim, M. K., Mattar, Z. A., Abdel-Khalek, H. H., & Azzam, Y. M. (2017). *Evaluation of antibacterial efficacy of anise wastes against some multidrug resistant bacterial isolates*. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 10, 34–43.
doi:10.1016/j.jrras.2016.11.002
74. LAIB.I Samir, D., & Wiam, Z. (2021). *Aristolochia longa (Aristolochiaceae) Spice Alleviates Nickel-Induced Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Rats*. Austin J Pharmacol Ther, 9(6), 1151.
75. Ider, M. (2017). *Élaboration et caractérisation des nanomatériaux à base de métaux nobles*.

76. Ikeda, Y., et al. (2001). *Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice*. Life Sciences, 69(24), 2911–2919.

[https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01374-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01374-1)
77. Islam, E., et al. (2013). *Estimation of total phenol and in vitro antioxidant activity of Albizia procera leaves*. BMC Research Notes, 6(1), 1–7.
78. J. B. H. et al. (2010). Multifunctional silver-embedded magnetic nanoparticles as SERS nanoprobe and their applications. Small, 6, 119–125.
79. Jamil, T., Ahmad, N., & Yaseen, R. (2024). *Phyto-mediated synthesis of silver nanoparticles: Size distribution and stabilization mechanisms*. International Journal of Nanoscience and Biotechnology, 10(3), 120–132.
80. Jha, M., & Shimpi, N. G. (2018). *Green synthesis of zero valent colloidal nanosilver targeting A549 lung cancer cell: in vitro cytotoxicity*. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 16(1), 115–124.
81. K.K., K.B.M.S.P.S.R., D.V., & Gurunathan, S. (2009). Silver nanoparticles impede the biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 79, 340–344.
82. Kakesse, M.A.G., et al. (2022). *Evaluation phytochimique, potentiels antioxydants et anti-inflammatoires in vitro des extraits des feuilles de Commelina benghalensis Linn*. Int. J. Biol. Chem. Sci., 16(6), 2673–2684.
83. Kalishwaralal, K., et al. (2008). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture supernatant of Bacillus licheniformis. Materials Letters, 62(29), 4411–4413.
84. Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2016). *Phytochemical studies, antioxidant activities and identification of active compounds using GC–MS of Dryopteris cochleata leaves*. Arabian J. Chem., 9, S1435–S1442.
85. Kennedy, J.D. (2007). *Neuropathic pain: molecular complexity underlies continuing unmet medical need*. Journal of Medicinal Chemistry, 50, 2547–2556.
86. Kesharwani, R.K., Singh, D.V., Misra, K., & Rizvi, S.I. (2012). *Plant polyphenols as electron donors for erythrocyte plasma membrane redox system: validation through in silico approach*. Org Med Chem Lett, 2, 12.
87. Khan, H., et al. (2018). *Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: current therapeutic standing and future prospects*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 101, 860–870.

88. Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D. (2019). *Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications*. Journal of Microbiological Methods, 163, p.105656.
89. Khare, C. (2007). *Carica papaya* Linn. *Indian Medicinal Plants (An Illustrated Dictionary)*. Springer, New York, NY, USA. pp. 122-123.
90. Kim, S., et al. (2009). *Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells*. Toxicology In Vitro, 23(6), 1076–1084.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.06.014>
91. Kimondo, J.W. (2020). *An Evaluation of Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Natural Foods and Medicinal Plants of the Ilkisonko Maasai Community, Kenya*. [Online] <http://erepository.uonbi.ac.ke/handle/11295/154650>
92. Kosalec, V., et al. (2005). *Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (Pimpinella anisum L., Apiaceae)*. Acta Pharmaceutica, 55, 377–385.
93. Koster, R. (1959). *Acetic acid for analgesics screening*. Fed Proc, 18, 412–414.
94. Kreydiyyeh, S. I., Usta, J., Knio, K., Markossian, S., & Dagher, S. (2003). *Aniseed oil increases glucose absorption and reduces urine output in the rat*. Life Sciences, 74(5), 663–673. doi:10.1016/j.lfs.2003.07.013
95. Kulkarni, Y.A., Agarwal, S., & Garud, M.S. (2015). *Effect of Jyotishmati (Celastrus paniculatus) seeds in animal models of pain and inflammation*. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine, 6(2), 82.
96. Kumar, J.P., & Shankar, N.B. (2009). *Analgesic activity of Mollugo pentaphylla Linn. by tail immersion method*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2, 61–63.
97. Kumar, P.V., et al. (2014). *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their antibacterial activity*. Industrial Crops and Products, 52, 562–566.
98. Küpeli, E., & Yesilada, E. (2007). *Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from Cistus laurifolius L. leaves*. Journal of Ethnopharmacology, 112(3), 524–530.
99. Kuuliala, L., et al. (2015). *Preparation and antimicrobial characterization of silver-containing packaging materials for meat*. Food Packag. Shelf Life, 6, 53–60.
100. Lan, J., et al. (2008). *Cerebral ischemia reperfusion exacerbates and pueraria flavonoids attenuate depressive responses to stress in mice*. Tsinghua Science and Technology, 13, 485–491.

- 101.Liu, Y., et al. (2011). *Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds*. Acta Biomaterialia, 7(4), 1742-1751.
- 102.Lockridge, A., et al. (2013). *Head movement: a novel serotonin-sensitive behavioral endpoint for tail suspension test analysis*. Behavioural Brain Research, 246, 168–178. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.02.032>
- 103.M. Chauvel Romain. (2018). *Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique*. Université Claude Bernard – Lyon 1, thèse de doctorat, p. 31.
- 104.M.D.R., et al. (2012). Silver nanoparticles: Influence of stabilizing agent and diameter on antifungal activity against Candida albicans and Candida glabrata biofilms. Letters in Applied Microbiology, 54, 383–391.
- 105.Makarov, V.V., et al. (2014). *“Green” nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants*. Acta Naturae, 6, 35–44.
- 106.Manoj Singh, S., Manikandan, S., & Kumaraguru, A.K. (2011). *Nanoparticles: A New Technology with Wide Applications*. Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 1, 1-11.
- 107.Mansouri, A., et al. (2005). *Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera)*. Food Chemistry, 89(3), 411–420.
- 108.Marambio-Jones, C., & Hoek, E. M. V. (2010). *A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment*. Journal of Nanoparticle Research, 12, 1531–1551. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-9900-y>
- 109.Marslin, G., et al. (2015). *Antimicrobial activity of cream incorporated with silver nanoparticles biosynthesized from Withania somnifera*. International Journal of Nanomedicine, 10, 5955–5963.
- 110.Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O., Traore A. S. (2005). *Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés*. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire – Lyon. France.
- 111.Mirheydar, H. (2001). *Herbal information: Usage of plants in prevention and treatment of diseases*. Tehran, Iran: Islamic Culture Press Center.
- 112.Mollick, E. (2014). *The dynamics of crowdfunding: An exploratory study*. Journal of Business Venturing, 29(1), 1-16.
- 113.Montenegro-Landívar, M.F., et al. (2021). *Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview*. Science of the Total Environment. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149719>

114. Morones, J. R., et al. (2005). *The bactericidal effect of silver nanoparticles*. Nanotechnology, 16(10), 2346–2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>
115. Murugan, R., & Parimelazhagan, T. (2014). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn.—An in vitro approach. *Journal of King Saud University-Science*, 26(4), 267–275.
116. N. P. L., L. B. K., W. J., T. E. E., and B. R. E. (2010). Does nanocrystalline silver have a transferable effect? *Wound Repair Regen*, 18, 254–265.
117. Nasir A., Yabalak E. (2021). *Investigation of antioxidant, antibacterial, antiviral, chemical composition, and traditional medicinal properties of the extracts and essential oils of the Pimpinella species from a broad perspective: a review*. *Journal of Essential Oil Research*, 33(5), 411–426.
118. Nazeruddin G.M., Prasad S.R., Shaikh Y.I., Prasad N.R. (2015). *A Brief Review: Science at Nanoscale*. *International Journal of Nanomaterials and Nanostructures*, 1(1), 16–32.
119. O. A., T. G., and T. K. (2015). Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth. *Sci. Total Env.*, 521, 305–314.
120. Oluwaniyi, O.O., et al. (2015). *Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of Thevetia peruviana Juss and its antimicrobial activities*. *Applied Nanoscience*. DOI: 10.1007/s13204-015-0505-8
121. Onitsuka, S., Hamada, T., & Okamura, H. (2019). Preparation of antimicrobial gold and silver nanoparticles from tea leaf extracts. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 173, 242–248. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.09.055.
122. Oraiza, M. (1986). *Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine*. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
123. Othman, A. M., Elsayed, M. A., Al-Balakocy, N. G., Hassan, M. M., & Elshafei, A. M. (2019). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles induced by fungal proteins and its application in different biological activities. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 17(8).
124. Pal, S., et al. (2007). *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle?* *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712–1720. <https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06>
125. Pandey, S., Goswami, G.K., & Nanda, K.K. (2012). *Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 583–589.

126. Paramelle, D., et al. (2014). *A rapid method to estimate the concentration of citrate capped Silver nanoparticles from UV-visible light spectra*. Analyst, 139(19), 4855–4861.
127. Peter K.V. (2001). *Manuel d'herbes et d'épices*. Édition de Tête de Bois Limitée, p. 325.
128. Pirtarighat, S., Ghannadnia, M., & Baghshahi, S. (2019). *Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of Salvia spinosa and their antibacterial activity assessment*. Journal of Nanostructure in Chemistry, 9(1), 1-9.
129. Ploese J.M. (2006). *La culture des plantes aromatiques*. Artémis. 94p.
130. Porsolt, R.D., et al. (1977). *Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments*. Nature, 266(5604), 730–732. <https://doi.org/10.1038/266730a0>
131. Ragab, F.A., et al. (2014). *Design, synthesis and structure-activity relationship of novel semi-synthetic flavonoids as antiproliferative agents*. Eur. J. Med. Chem., 82, 506–520. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.06.007>
132. Rai, M., & Posten, C. (2013). *Green biosynthesis of nanoparticles: mechanisms and applications*. CABI.
133. Rai, M., et al. (2009). *Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials*. Biotechnology Advances, 27(1), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
134. Raj, S., et al. (2018). *Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Enicostemma axillare leaf extract*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 503(4), 2814–2819.
135. Rebey, I. B., Bourgou, S., Aidi Wannes, W., Hamrouni Selami, I., Saidani Tounsi, M., Marzouk, B., Ksouri, R. (2017). *Comparative assessment of phytochemical profiles and antioxidant properties of Tunisian and Egyptian anise (Pimpinella anisum L.) seeds*. Plant Biosystems, 11, 01.
136. Redrobe, J.P., et al. (2005). *Role of serotonin (5-HT) in the antidepressant-like properties of neuropeptide Y (NPY) in the mouse forced swim test*. Peptides, 26(8), 1394–1400.
137. Roco M.C. (2001). *From vision to the implementation of the US National Nanotechnology Initiative*. Journal of Nanoparticle Research, 3(1), 5-11.
138. Rubio, L., Motilva, M.J., & Romero, M.P. (2013). *Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53, 943–953.
139. Rudrappa, M., et al. (2023). *Myco-nanofabrication of silver nanoparticles by Penicillium brasilianum NP5 and their antimicrobial, photoprotective and anticancer effect on MDA-MB-231 breast cancer cell line*. Antibiotics, 12(3), 567. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030567>

- 140.Salehi Surmaghi M. (2010). *Medicinal plants and phytotherapy*, Vol. 1. Donyay Taghziah Press, Tehran, Iran.
- 141.Sankhalkar, S., & Vernekar, V. (2016). Quantitative and Qualitative analysis of Phenolic and Flavonoid content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 16.
- 142.Saranyaadevi, K., et al. (2014). *Green synthesis and characterization of silver nanoparticle using leaf extract of Capparis zeylanica*. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 7, 44–48.
- 143.Sati, R., Kumar, A., & Sharma, P. (2025). *Green synthesis and morphological characterization of Ag/Ag₂O nanoparticles using plant extracts*. *Journal of Nanomaterials and Green Chemistry*, 12(1), 45–58.
- 144.Shojaii A., Fard M.A. (2012). *Review of pharmacological properties and chemical constituents of Pimpinella anisum*. *ISRN Pharmacology*.
- 145.Shobha, R. I., Rajeshwari, C. U., & Andallu, B. (2013). *Anti-peroxidative and anti-diabetic activities of aniseeds (Pimpinella anisum L.) and identification of bioactive compounds*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1(5), 516–527.
- 146.Shobha, R.I., & Andallu, B. (2018). *Antioxidant, anti-diabetic and hypolipidemic effects of aniseeds (Pimpinella anisum L.): in vitro and in vivo studies*. *J. Complement Med. Alt. Healthcare*, 5, 1–2.
- 147.Shojaii A., Abdollahi Fard M. (2012). *Review of pharmacological properties and chemical constituents of Pimpinella anisum*. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- 148.Siddharthan, N., Kalaivani, G., Poongothai, E., Arul, M., & Hemalatha, N. (2019). *Characterization of silver nanoparticles synthesized from Catheranthus roseus (Vinca rosea) plant leaf extract and their antibacterial activity*.
- 149.Singh G., Kapoor I., Singh P., Heluani C., Catalan C. (2008). *Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and oleoresins from anise seeds (Pimpinella anisum L.)*. *Int. J. Essent. Oil Ther.*, 2(September), 122–130.
- 150.Singletary, K. W. (2022). *Anise: Potential Health Benefits*. *Nutrition Today*, 57(2), 96-109.
- 151.Sivaguru, P., & Bi, X. (2018). *Introduction to Silver Chemistry*. *Silver Catalysis in Organic Synthesis*, pp.132.

- 152.Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). *Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods*. American Journal of Enology and Viticulture, 28(1), 49–55.
- 153.Souri E., Amin G., Farsam H., Barazandeh Tehrani M. (2008). *Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts*. DARU J. Pharm. Sci., 16(2), 83–87.
- 154.Stylios G.K., Giannoudis P.V., Wan T. (2005). *Applications of nanotechnologies in medical practice*. Injury, 36(4), S6-S13.
- 155.Sungur, I., Muluk, N. B., Sezer, C. V., Kutlu, H., Cingi, C. (2023). *Efficacy and toxicity of anise oil as a potential topical wound healer: a cell culture study*. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 27(2 Suppl):14-20.
- 156.Tabassum, I., et al. (2010). *Effects of Ocimum sanctum and Camellia sinensis on stress-induced anxiety and depression in male albino Rattus norvegicus*. Indian Journal of Pharmacology, 42(5), 283–288.
- 157.Telli, A., et al. (2010). *Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (Phoenix dactylifera L.) variété Ghars*. Annales des Sciences et Technologie, 2, 107–114.
- 158.Tiwari, A. K. (2011). *Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy*. Current Science, 81(9), 1179–1181.
- 159.Trease, G., & Evans, W. (1989). *Pharmacognosy*. 13th ed., ELBS/Bailliere Tindall, London, 345–346.
- 160.Tsai, C.-S.S., et al. (2009). *Acetylsalicylic acid regulates MMP-2 activity and inhibits colorectal invasion of murine B16F0 melanoma cells in C57BL/6J mice: effects of prostaglandin F2α*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 63(7), 522–527.
- 161.Verma, A., & Mehata, M. S. (2016). *Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity*. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 9(1), 109-115.
- 162.Verma, D.K., et al. (2016). *Photo-catalyzed and phyto-mediated rapid green synthesis of silver nanoparticles using herbal extract of Salvinia molesta and its antimicrobial efficacy*. J. Photochem. Photobiol. B, 155, 51–59.
- 163.Verma, V.C., Kharwar, R.N., & Gange, A.C. (2010). *Biosynthesis of antimicrobial silver nanoparticles by the endophytic fungus Aspergillus clavatus*. Nanomedicine, 5(1), 33–40.

- 164.Vineet, K., & Kumar, Y.S. (2009). *Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 84, 151–157.
- 165.Vinjamuri, S., et al. (2015). *Evaluation of hemolytic activity, ATPase inhibitory activity and antitumor activity of TLC extract of lemon grass (Cymbopogon citratus)*. Int J Pharmacogn Phytochem Res, 7(4), 785–788.
- 166.Vorobyova, V., Vasyliiev, G., & Skiba, M. (2020). *Eco-friendly “green” synthesis of silver nanoparticles with the black currant pomace extract and its antibacterial, electrochemical, and antioxidant activity*. Applied Nanoscience, 10(12), 4523–4534.
- 167.W. H. J. et al. (2010). Antineoplastic activities of protein-conjugated silver sulfide nanocrystals with different shapes. J. Inorg. Biochem., 104, 87–91.
- 168.W. T., D. E., L. D. J., and H. S. (2011). Prospective environmental life cycle assessment of nanosilver t-shirts. Environ. Sci. Technol., 45, 4570–4578.
- 169.Wadood, A., et al. (2013). Phytochemical analysis of medicinal plants occurring in local area of Mardan. Biochem Anal Biochem, 2(4), 1-4.
- 170.Wen, C., et al. (2012). *Silver/graphene nanocomposite: thermal decomposition preparation and catalytic performance*. Materials Chemistry and Physics, 135, 780-785.
- 171.Wigdor, S., & Wilcox, G.L. (1987). *Central and systemic morphine-induced antinociception in mice: contribution of descending serotonergic and noradrenergic pathways*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.
- 172.Winola, O.A., & Afolayan, A.J. (2015). *The antibacterial, phytochemicals and antioxidants evaluation of the root extracts of Hydnora Africana Thunb*. BMC Complement Altern Med, 15, 307.
- 173.X. D. X. et al. (2013). Inhibition of A/Human/Hubei/3/2005 (H3N2) influenza virus infection by silver nanoparticles in vitro and in vivo. Int. J. Nanomed, 8, 4103–4113.
- 174.Yam, M. F., et al. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of Elephantopus tomentosus ethanolic extract. Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 2(4), 280-287.
- 175.Yamamoto, K. *Nanomaterials*. Review 8, Hitachi Chemical Technical, Report No.55.
- 176.Yin, X., et al. (2015). *Portulaca oleracea L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects*. BioMed Research International, 2015, Article ID 925631.
- 177.Zakaria, Z., et al. (2008). *Anti-inflammatory and analgesic activity of various medicinal plant extracts*. Raden Mohd. Nor. J., 179–187.

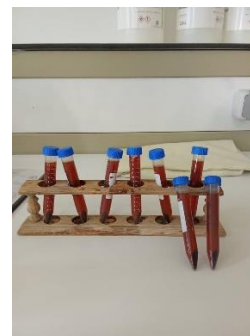
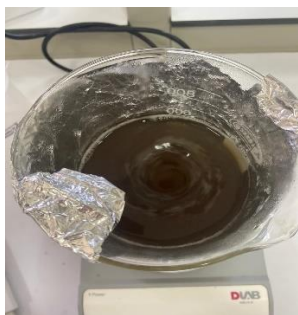
178. Zeghad, N., et al. (2016). *In vivo analgesic activity and safety assessment of Vitis vinifera L. and Punica granatum L. fruits extracts*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 15(9), 1915–1921.
179. Zhang, K., et al. (1997). *Inhibition of glutathione reductase by plant polyphenols*. Biochemical Pharmacology, 54, 1047–1053.

Appendice

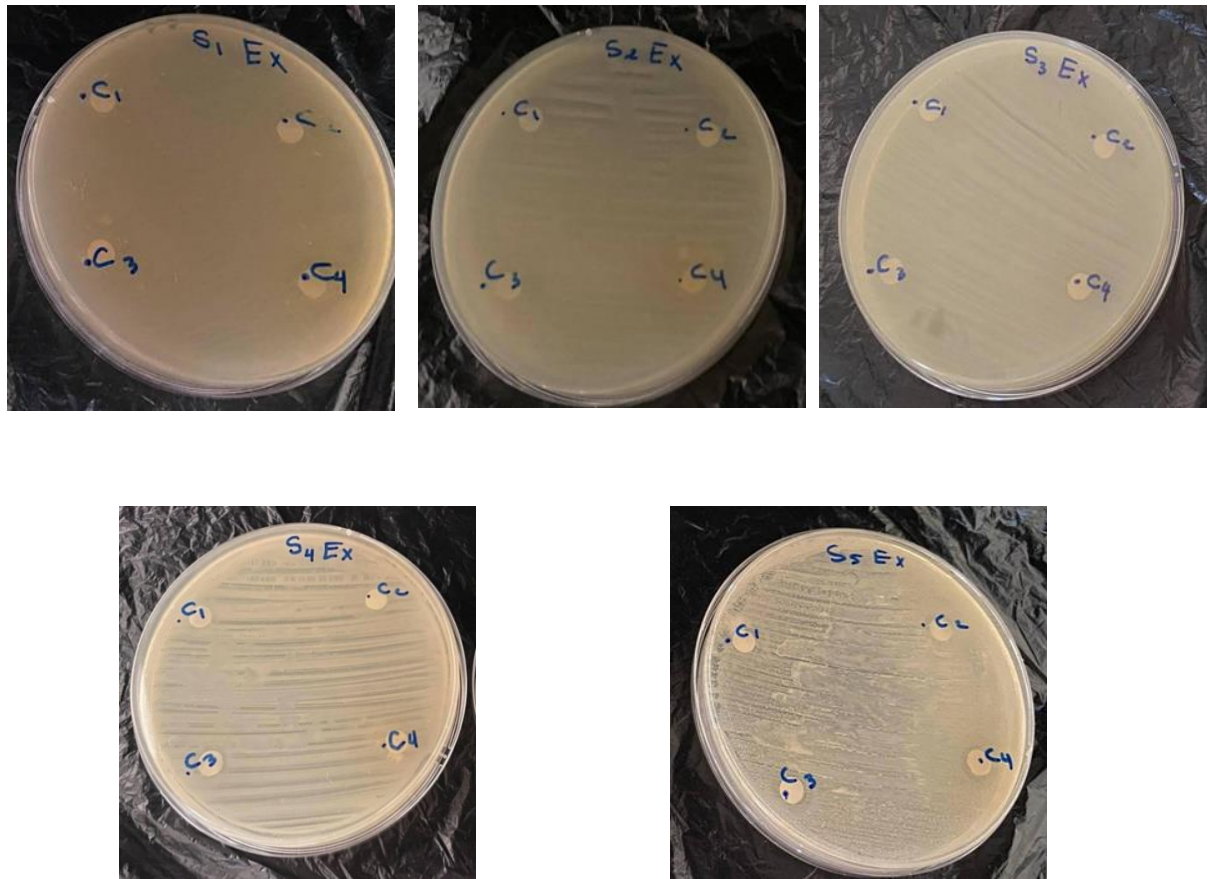
Appendice 01 : Les appareils utilisé dans vitro



Appendice 02: Les étapes du nano particule d'argent



Appendice 03 : Zones d'inhibition de *P.anisum* L contre diverses souches bactériennes



Appendice 04 : Activité antibactérienne des AgNPs synthétisées sur différentes souches bactériennes indiquées aux numéros 1 à 5 : 1 : *Pseudomonas aeruginosa*, 2 : *Staphylococcus aureus*, 3 : *Bacillus subtilis*, 4 : *Klebsiella pneumoniae*, 5 : *Escherichia coli*

