

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة محمد بوضياف/المسيلة
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

par

REGUIG Fatima ; OUALHI Siham

Intitulé

**Etude de quelques activités biologiques de
Helianthus annuus L.**

Soutenu devant le jury composé de

SARRI Djamel

MCA- UMB –M'sila

Président

HENDEL Noui

MCA- UMB –M'sila

Rapporteur

SELLOUM Mounir

MAA- UMB –M'sila

Examineur

Année universitaire : 2021-2022

DEDICACE

*Alhamdolillah , d'abord et avant tout, car il a redressé mon esprit,
illuminé mon chemin et m'a guidé vers le succès.
Qui a été pendant des années le regard d'un rêve dans les yeux de **mon**
père. et le sourire d'espoir toujours dessiné sur les traits de **ma mère.**
Aujourd'hui, je leur dédie le résultat de la patience et de la lutte dans
l'honneur et la gratitude pour le soutien et le soutien qui m'ont été
constants.
Au cœur de l'ange, **ma grand-mère** et toute la famille et les amis.
A tous mes amis ainsi qu'aux amis des sites de réseaux sociaux*



Reguig fatima

DEDICACE

*A mon bonheur dans la vie, ma famille, ma mère, mon père et mes sœurs ;
Je suis très reconnaissante pour ,votre encouragement et vos prières qui
m'ont fortifiés pour toujours*

*A mon amie **REGUIG Fatima** , merci pour ta patience et ton soutien
A toutes mes amies, pour votre soutien moral , votre amour et amitié
A toute qui personne m'a aidé de près ou de loin , pendant tous mon
parcours scolaire.
Merci d'être près de moi*



Oualhi siham

Remerciements



Alhamdolillah , d'abord et avant tout,

*Tous nos remerciements et gratitude au professeur superviseur Dr.
Noui HENDEL pour les conseils et l'orientation.*

*Et aux laborantins, notamment au chef des laboratoire,
Kamel SEGHIRI.*

*Ainsi que le jury pour discuter notre thème de mémoire de fin d'études.
Avec le plus grand respect et appréciation :*

*Dr. **Djamel SARRI** , membre président du jury*

*Dr. **Mounir SELLOUM**, membre examinateur*

.....

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Listes de tableaux	
Introduction	1
1.1 Les activités biologiques	3
1.2 Activités antioxydantes	3
1.2.1 Stress oxydatif	3
1.2.2 Antioxydants	3
1.2.3 Radicaux libres	3
1.3 Activité anti-inflammatoire	4
1.4 Activité anticancéreuses	4
1.5 Activités antimicrobiennes	4
1.5.1 Activité antifongique	5
1.5.2 Résistance bactérienne	5
1.5.2.1 Mécanismes de résistance	6
1.6 Plante étudiée	6
1.6.1 Classification	7
1.6.2 Nom commun	8
1.6.3 Description	8
1.6.4 Utilisation	8
2. Matériels et méthodes	9
2.1. Matériel végétal	9
2.2. Procédés d'extraction	9
2.2.1. Extraction par macération au méthanol	9
2.2.2. Extraction par décoction à l'eau distillée	9
2.6. Analyse statistique	14
3. Résultats et discussion	15
3.1 Rendement de la plante	15
3.2 Dosage des polyphénols et flavonoïdes	15
3.3 Activité antioxydante	16
3.3.1 Test au DPPH	16
3.4 Activité antimicrobienne	17
3.4.1 Activité antibactérienne	17
3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	19
3.6 Activités antifongiques	20
Conclusion	22
Références bibliographique	24
Annexes	

ملخص

يتبع نبات *Helianthus annuus* L. الى عائلة *Asteraceae* و يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. كان الهدف من هذا العمل هو تحديد محتوى البوليفينول و الفلافونويد في المستخلص الميثانولي والمستخلص المائي لهذا النبات وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والبكتيريا و الأعفان. كان مردود مستخلص أوراق الميثانولي بالنقع حوالي 10% أما مردود مستخلص أوراق المائي بالغلي فكان حوالي 28.08%. حددت محتويات المستخلص الميثانولي والمائي بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة ثلاثي كلوريد الالمنيوم بنحو 77.614 ± 0.85 ، 44.447 ± 0.81 ملغ / مكافئ حمض الجاليك من المستخلص و 81.45 ± 0.62 ، 8.535 ± 0.19 ملغ / الكرسيتين خلاصة ، على التوالي . تم تطبيق النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH ، وكانت قيم IC_{50} للمستخلص الميثانولي 278.701 ± 3.21 ميكروغرام / مل و المستخلص المائي 77.614 ± 0.08 ميكروغرام / مل ، على التوالي . تم تطبيق النشاط المضاد للميكروبات لأربع سلالات بكتيرية غرام+ و غرام- و 04 فطريات بطريقة انتشار من الآبار وظهر أن نشاط المستخلص الميثانولي لنبات *H. annuus* ضد للميكروبات أعلى من المستخلص المائي لنفس النبات. كما هو الحال مع الفطريات ، كان للمستخلص الميثانولي تأثيرا مثبطا مقبولا على الفطريات ، بنسب تثبيط تتراوح من 33.30 ± 1.71 % الى 14.27 ± 2.05 %.

الكلمات المفتاحية : *Helianthus annuus*، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ،

Abstrac

Helianthus annuus L. is a plant belonging to the *Asteraceae* family. It is widely used in traditional medicine. The objective of this work was to determine the polyphenol and flavonoid contents of the methanolic ME and aqueous AqE extracts of this plant and to evaluate their antioxidant and antibacterial activities. The yield for the methanol extraction of leaves by maceration was about 10% (w/w). The aqueous extraction of the leaves by decoction gave yielded in about 28.08% (w/w). The polyphenol and flavonoid contents of ME and AqE determined by Folin-Ciocalteu and aluminium chloride methods were 77.61 ± 0.85 ; 44.44 ± 0.81 mg GAE/g of extract and 45.81 ± 0.62 ; 8.53 ± 0.19 mg QE/g extract, respectively. The antioxidant activity was carried out by the DPPH method, and the IC_{50} of the ME and AqE were 278.70 ± 3.21 µg/ml and 77.61 ± 0.08 µg/ml, respectively. The antimicrobial activity against 4 bacterial strains (Gram+ and Gram-) and 05 fungi was evaluated by the well diffusion method. ME from *Helianthus annuus* appears to have higher antimicrobial activity than AqE from the same plant. As with fungi, *H. annuus* ME had a significant inhibitory effect on the tested fungi, with inhibition rates ranging from 33.30 ± 1.71 % to 14.27 ± 2.05 %.

Key words: *Helianthus annuus*, antioxidant activity, antibacterial activity,

Résumé

Helianthus annuus L est une plante de la famille des *Asteraceae*. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle. L'objectif de ce travail était de déterminer la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique (EM) et l'extrait aqueux (EAq) de cette plante et d'évaluer leur activités antioxydante et antibactérienne. Le rendement des feuilles pour l'extraction méthanolique par macération est d'environ 10 % (w/w). L'extraction aqueuse des feuilles par décoction a donné un rendement d'environ 28,08 % (w/w). Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'EM et de l'EAq déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode du trichlorure d'aluminium étaient de $77,61 \pm 0,85$; $44,44 \pm 0,81$ mg EAG/g d'extrait et $45,81 \pm 0,62$; $8,535 \pm 0,19$ mg EQ/g d'extrait, respectivement. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode DPPH, et l'IC₅₀ d'EM et EAq était de $278,70 \pm 3,21$ µg/ml et $77,61 \pm 0,08$ µg/ml, respectivement. L'activité antimicrobienne contre 4 souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et 05 champignons a été évaluée par la méthode de puits de diffusion et de microdilution. L'EM de *H. annuus* semble avoir une activité antimicrobienne plus élevée que l'EAq de la même plante. Comme pour les champignons, l'EM du *H. annuus* a eu un effet inhibiteur significatif sur les champignons testés, avec des taux d'inhibition allant de 33.30 ± 1.71 % à 14.27 ± 2.05 %

Les mots clés : H. Annuus, Activité antioxydant, activité antibactériennes,

Liste des abréviations

ATCC	American Type Culture Collection
BHT	Butylhydroxytoluène
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMB	Concentration minimale bactéricide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNA	Désoxyribonucléic acid
DPPH	2,2-diphényl-1picrylehydrazile
EAG	Equivalent d'acide gallique
EM	Extrait méthanolique
EAq	Extrait aqueux
EQ	Equivalent de quercétine;
GN	Gélose nutritive
TFT	teneur en flavonoïdes totaux
TPT	teneur en polyphénols totaux
I%	Pourcentage d'inhibition
IC₅₀	Concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition
MHA	Mueller-Hinton Agar
PDA	Potato Dextrose Agar

Liste des figures

Figure 1. Mécanisme de résistance (Duval & Cossart, 2019)

Figure 2. *Helianthus annuus* (Braden, 2017)

Figure 3. *Helianthus annuus* au site de récolte.

Figure 4. Montage de l'extraction : a) macération au méthanol, b) filtration.

Figure 5. Série de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Figure 6. Série d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Figure 7. Série du test au DPPH après 30 min d'incubation.

Figure 8. Courbes étalons des standards Acide gallique (A), et Quercétine (B).

Figure 9. Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de : (A) l'EM de *H annuus*, (B) l'EAq de *H annuus* et (C) le BHT.

Figure 10. Zones d'inhibition provoquées par l'effet de l'EM de *H annuus* sur les différentes souches testées (A) *E. coli* (B) *B. cereus* (C) *S. aureus*

Figure 11. L'effet de l'EM des feuilles de *H. annuus* sur les moisissures : (A) *A. flavus* (B) *Alt alternata* (C) *F. culmorum* (D) *A. niger* par la technique des puits de diffusion.

Figure 12. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures causé par l'EM et l'EAq des feuilles de *H. annuus* L.

Liste des tableaux

Tableau 1 Teneurs en TPT et en TFT de l'EM et l'EAQ de *Helianthus annuus* L.

Tableau 2. Les valeurs IC_{50} de l'EM, de l'EAQ de *H. annuus* et du standard BHT dans le test de DPPH.

Tableau 3. Zones d'inhibition (mm) des extraits EM et EAQ des feuilles de *H. annuus* vis-à-vis des souches bactériennes.

Tableau 4. CMI et CMB (mg/ml) de l'EM des feuilles de *H. annuus* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

INTRODUCTION

Introduction

L'utilisation des plantes médicinales est connue depuis longtemps pour améliorer et guérir la santé humaine. Actuellement, les plantes médicinales sont utilisées à tous les niveaux, notamment thérapeutiques. Au cours des dernières décennies, la recherche scientifique n'a fait que confirmer l'efficacité des propriétés curatives de la plupart des plantes médicinales utilisées de manière empirique depuis des milliers d'années. Aujourd'hui, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a toujours sa place en raison de leur efficacité dans divers procédés thérapeutiques. Il s'agit d'un énorme groupe numérique contenant des ingrédients actifs utilisés pour traiter diverses affections. En plus d'être utilisés comme remèdes directs, ils sont également utilisés dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques (Lazli *et al.*, 2019)

Au cours des dernières décennies, la découverte abondante de composés organiques polyphénoliques dans les plantes est devenue un domaine de la nutrition préoccupant. Un nombre croissant de recherches suggèrent que l'apport en polyphénols peut jouer un rôle vital dans la santé en régulant le métabolisme, le poids corporel, les maladies chroniques et la prolifération cellulaire. À ce jour, plus de 8000 polyphénols ont été identifiés, bien que leurs effets sur la santé à court et à long terme ne soient pas entièrement établis. Des études animales, humaines et épidémiologiques ont montré que divers polyphénols possèdent des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires pouvant avoir des effets préventifs et/ou thérapeutiques sur les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le cancer et l'obésité (Cory *et al.*, 2018)

La plupart de flavonoïdes présents dans les aliments sont liés aux acides, aux alcools ou aux sucres. Les non-flavonoïdes comprennent les acides phénoliques, en particulier les acides hydroxybenzoïques (c'est-à-dire les acides vanillique et gallique) et les acides cinnamiques (c'est-à-dire les acides férulique et caféique). Toutes ces molécules se sont avérées biologiquement actives. Cependant, la plupart d'entre elles ont été démontrées à l'aide de modèles *in vitro* et de composés purs, dans lesquels les effets métaboliques et matriciels ne sont pas pris en compte. En effet, les méthodes *in vitro* peuvent identifier le mécanisme d'action spécifique de chaque molécule/groupe de molécules à un coût relativement faible. Malheureusement, les études *in*

vitro n'ont pas pris en compte la transformation métabolique et les concentrations physiologiques (Di Lorenzo *et al.*, 2021)

Les extraits botaniques, d'épices et d'herbes jouent un rôle important dans la promotion de la santé humaine grâce à leur propriétés anticancéreuse, antioxydantes, anti-inflammatoires, ainsi qu'en tant que conservateurs dans le secteur alimentaire. La plupart des huiles essentielles d'origine végétale sont connues pour avoir des activités insecticide, antifongique, acaricide, antibactérienne et cytotoxique. Par conséquent, elles sont largement sélectionnées et appliquées dans les domaines de la pharmacologie, de la botanique médicinale, de la phytopathologie et de la conservation des aliments (Hendel *et al.*, 2019).

Le but de notre travail était d'évaluer certaines activités biologiques de la plante *Helianthus annuus* L. de la famille des *Asteraceae*. Cette étude cible la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique et aqueux de cette plante et leur activités, antioxydante par la méthode du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), antibactérienne et antifongique.

CHAPITRE I
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Les activités biologiques

Le règne végétal contient une large gamme de composés aux activités biologique variées. Les polyphénols sont considérés parmi les grands antioxydants naturels. Ils sont largement distribués dans les végétaux et peuvent être considérés comme des métabolites secondaires bioactifs les plus abondants, avec un large éventail de structure et d'activités (Saidi, 2019).

1.2 Activités antioxydantes

1.2.1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la formation d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et la capacité anti-oxydante cellulaire (Migdal & Serres, 2011)

Le stress oxydatif a été lié au vieillissement et à la physiopathologie de diverses maladies, notamment, les maladies cardiovasculaires (dues à des dommages aux parois des vaisseaux sanguins), le cancer et le diabète. Les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants pour se protéger contre le stress oxydatif comprennent (super oxyde dismutase , glutathion peroxydase et catalase) des vitamines (A,E et C) (Baudin, 2020).

1.2.2 Antioxydants

Les antioxydants sont un groupe de composés capables de neutraliser les radicaux libres, évitant ainsi l'apparition de maladies liées au stress oxydatif. Les plantes médicinales traditionnelles et une alimentation équilibrée étaient les principales sources d'antioxydants qui protégeaient nos ancêtres des dommages des radicaux libres. Les antioxydants peuvent être de nature enzymatique ou non enzymatique. Les antioxydants enzymatique comprennent les caroténoïdes, les vitamines, les composés phénoliques, les minéraux et les composés organosoufrés (Sarr *et al.*, 2015).

1.2.3 Radicaux libres

Un radical libre est un ensemble d'atomes ou un atome avec un ou plusieurs électrons qui n'apparaissent pas sous forme libre. Les radicaux libres sont produits par une variété de processus, y compris les réactions hétérolytiques homolytiques et redox (Zeb, 2021).

1.3 Activité anti-inflammatoire

La réponse naturelle des organismes supérieurs face aux agressions extérieures (infection, dommage) est l'inflammation (agression mécanique, etc.). Sa première fonction est d'éliminer l'agent pathogène et de cicatrifier les tissus lésés. L'augmentation du flux sanguin, l'augmentation de la perméabilité capillaire permettant aux nutriments, aux anticorps et aux cytokines de franchir la barrière endothéliale et la migration des leucocytes vers les tissus endommagés pour la réparation des lésions présentent quatre signes cardinaux d'inflammation (rougeur, œdème, chaleur, douleur). De nombreuses enzymes sont impliquées dans la réponse inflammatoire, notamment les lipoxygénases et les cyclooxygénases (COX I et COX 2), qui produisent des médiateurs pro-inflammatoires dont les leucotriènes (Yougbaré-Ziébrou *et al.*, 2016).

1.4 Activité anticancéreuses

Le cancer est une tumeur maligne définie comme une prolifération cellulaire excessivement élevée dans un tissu normal du corps qui conduit à l'invasion des tissus voisins par une croissance, une invasion et des métastases sans restriction. Le cancer est la cause la plus fréquente de décès dans le monde (Bayala *et al.*, 2014).

La protection contre le cancer est l'une des caractéristiques biologiques intrigantes des polyphénols. Des études épidémiologiques ont montré qu'une alimentation riche en fruits et légumes réduisait l'incidence de certaines tumeurs malignes. Les polyphénols naturels ont été blâmés pour certains des effets. Les polyphénols naturels se sont révélés efficaces dans la prévention et le traitement du cancer dans diverses études *in vitro* et *in vivo* (Stagos *et al.*, 2012).

Les polyphénols peuvent bloquer ou inverser la progression du cancer en agissant sur les molécules du réseau de signalisation intracellulaire impliquées dans le déclenchement et/ou la promotion du cancer. Ils peuvent également induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses en influençant diverses molécules de signalisation cellulaire importantes (Link *et al.*, 2010).

1.5 Activités antimicrobiennes

Un microbe est un organisme, infiniment petit, visible uniquement au microscope." Les microbes sont très répandus dans la nature, ils existent non seulement dans les organismes, l'environnement qui nous entoure, dans l'air, l'eau, le sol. Ils prospèrent lorsqu'ils trouvent les conditions vitales favorables (Camille, 2014)

1.5.1 Activité antifongique

Les mycoses sont définies comme des maladies infectieuses causées par le développement et la reproduction de champignons pathogènes dans différents tissus et organes de l'homme et de l'animal. Les molécules antifongiques actuellement disponibles ne répondent pas aux critères permettant de définir un agent antifongique idéal: toxicité spécifique vis-à-vis des champignons pathogènes, bonne diffusion dans l'organisme, action à large spectre dans l'organisme, absence de problèmes liés à l'émergence de souches résistantes et effets secondaires. Compte tenu de la gamme limitée de molécules utilisées en thérapie antifongique et avec l'émergence de la multirésistance, l'industrie pharmaceutique et les chercheurs se sont tournés vers la recherche de nouvelles molécules antifongiques plus puissantes. Les plantes forment une source ancienne de molécules actives, mais cela reste prometteur pour trouver et identifier de nouveaux médicaments antifongiques (Merghache *et al.*, 2012).

1.5.2 Résistance bactérienne

La résistance aux antimicrobiens est un terme relatif. En effet, l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques » regroupe un grand nombre de définitions reposant sur des critères différents (génétiques, microbiologiques, biochimiques, et cliniques), qui ne se recoupent pas nécessairement. Les définitions les plus couramment utilisées reposent sur des critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est considérée comme résistante lorsqu'elle est cultivée en présence de concentrations plus élevées. Les antibiotiques sont plus liés phylogénétiquement que les autres souches. L'une d'entre elles est une souche de référence, communément appelée souche sauvage, qui est cultivée au laboratoire à partir de la même espèce ou d'individus sauvages de la même espèce dans les mêmes conditions. De plus, dans des conditions *in vivo*, la sensibilité ou la résistance d'une souche au traitement antibactérien administré dépendra de divers paramètres tels que la localisation, le dosage et le mode d'action des antibactériens. Il existe de nombreuses situations dans le système immunitaire d'un individu dans lesquelles les composés sont incapables de pénétrer ou d'agir sur le site de l'infection, ce qui entraîne des états cliniques résistants aux médicaments, tels que des abcès ou des conditions hydrotiques, pH ou pression partielle d'oxygène trop faible (Muylaert & Mainil, 2012).

1.5.2.1 Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques ont été largement étudiés, et de nombreuses cibles fonctionnelles cellulaires sont impliquées dans ces mécanismes. Les sites de résistance varient d'une espèce bactérienne à l'autre et appartiennent à plusieurs voies. Dans certains cas, au sein d'une même souche bactérienne, plusieurs mécanismes de résistance différents peuvent être retrouvés. Des mécanismes de résistance ont été décrits dans plusieurs souches bactériennes, tels que l'inhibition par les antibiotiques, l'empêchent de l'entrée d'antibiotiques, basé génétiquement de résistance, modification des cibles des antibiotiques, mutation chromosomiques, hypermutation et transfère des gènes (Bouyahya *et al.*, 2017).

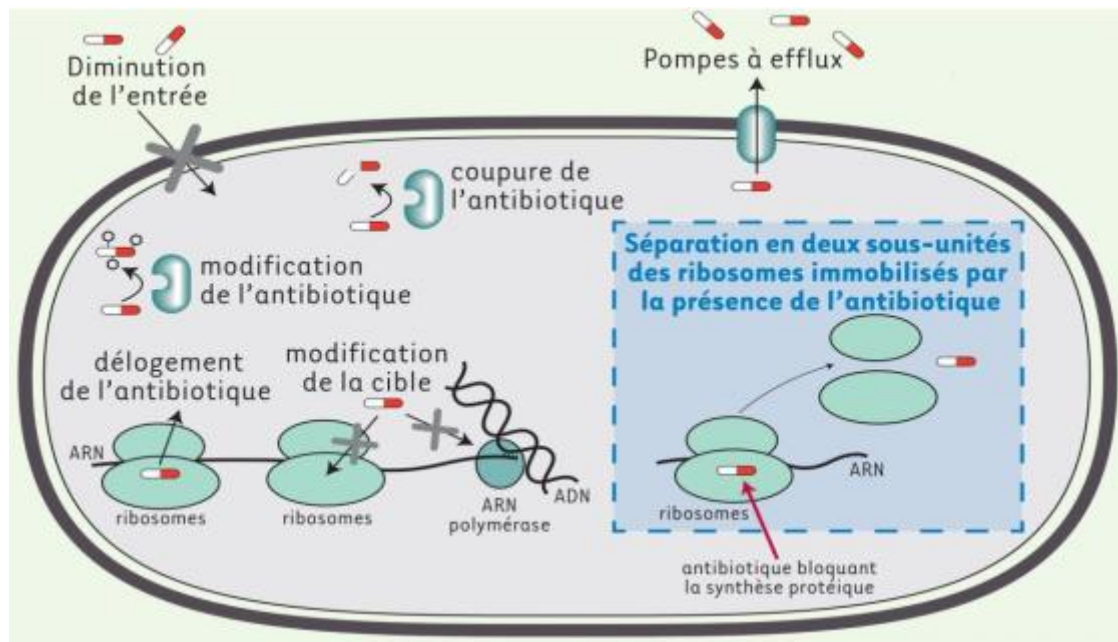


Figure 1 Mécanisme de résistance (Duval & Cossart, 2019)

1.6 Plante étudiée

Le genre *Helianthus* contient 66 espèces dont 14 hybrides, de la famille *Astéraceae* sont originaires d'Amérique du Nord ; principalement de ce qui est aujourd'hui les États-Unis (mais certaines espèces vivent dans le sud du Canada, tandis que d'autres dans le climat tropical (du nord du Mexique). Certaines espèces ont été naturalisées dans diverses parties du monde, y

compris en France. Les deux tournesols les plus connus sont *Helianthus annuus* et le topinambour *Helianthus tuberosus* (Couplan, 2012).



Figure 2 *Helianthusannuus* (Braden,2017)

1.6.1 Classification

Selon ITIS "Integrated Taxonomic Information System" (ITIS, 2022), la taxonomie de la plante étudiée est comme suit :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsider
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Helianthus L</i>
Espèce	<i>Helianthus Annuus</i>

1.6.2 Nom commun

Selon Lim (2014), la plante prends les noms suivants:

Anglais: sunflower, Annual sunflower, hopi sunflower, common sunflower.

Arabe: Abbadeshshams, Azriyun, Azaryun.

Français: Tournesol, soleil, Hélianthe Annuel, Grand soleil.

1.6.3 Description

Helianthus annuus L. est une plante annuelle commune dure et succulente, de 1 à 3 m. Elle a initialement des racines pivotantes, mais à mesure que la plante mûrit, elle développe de grandes racines latérales fibreuses. Les tiges de cette plante mesurent de 1 à 6 pieds de haut, sont hirsutes, rondes et non ramifiées. La longueur de la tige est déterminée par le nombre d'entre-nœuds. Les feuilles sont disposées de manière à ce que les feuilles inférieures soient généralement opposées le long de la tige et que les feuilles supérieures alternent le long de la tige. Les feuilles sont pour la plupart ovales, de 4 à 20 cm de long et de 3 à 15 de large. Les fleurs des rayons sont stériles, de 0,6 à 1,6 pouces de long, avec des ligules jaunes. Fleurons en forme de disque parfaits, corolle à 5 lobes, de 0,2 à 0,3 pouce de long, tubulaires, brun violet à jaune. Le pappus est 2 et caduc et l'ovaire est inférieur en fleur de disque. Le fruit de *H. annuus* est un akène. Les akènes mesurent 7 à 25 mm de long et 14 à 3 mm de large (Bashir *et al.*, 2021).

1.6.4 Utilisation

Aujourd'hui, c'est l'une des cultures oléagineuses les plus importantes de Russie. En tant que plante oléagineuse, le tournesol occupe la troisième place après le soja et l'huile de palme (Krist, 2020). Les tournesols sont cultivés comme plantes ornementales ou de jardin, les fleurs sont appréciées pour leur beauté et les graines sont comestibles pour les humains et la faune: oiseaux et rongeurs. Les usages médicaux du tournesol utilisés par les Européens incluent comme remède contre les maladies pulmonaires ; les préparations à base de graines sont largement utilisées contre le rhume et la toux, dans le Caucase, les graines sont utilisées comme substitut de la quinine pour le traitement du paludisme, et les graines de tournesol sont utilisées comme diurétiques et expectorants ainsi comme pommade pour les brûlures (Stevens, 2000).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les plante étudiée a été récoltée en 2022 dans la zone de M'sila (figure 3). Elle a été séchée dans un endroit sec et aéré pendant 10 à 15 jours. Les parties aériennes ont été stockées dans des sacs en papier et conservées à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à leur utilisation.



Figure 3 *Helianthus annuus* au site de récolte.

2.2. Procédés d'extraction

2.2.1. Extraction par macération au méthanol

La macération a été réalisée à température ambiante par immersion de 50g des feuilles d'*H. annuus* dans 500ml de méthanol pendant 24 heures avec agitation continue (figure 4). L'extrait obtenu dans le méthanol a été filtré à travers du papier filtre Whatman N°1, puis concentré par évaporation sous vide. L'extrait sec a été stocké à 4°C pour une utilisation ultérieure (Bouabid *et al.*, 2020).

2.2.2. Extraction par décoction à l'eau distillée

L'obtention de l'extrait aqueux a été effectuée par décoction en ajoutant 50mg de poudre de feuilles de *H. annuus* à 100 ml d'eau distillée puis les faire bouillir pendant 20 minutes sous

agitation. Après refroidissement, le mélange a été filtré à travers du papier filtre Whatman N°1. Le filtrat obtenu a été concentré et séché à 40°C dans une étuve. L'extrait sec a été récupéré et stocké à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation (yougbaré-ziébrou *et al.*, 2016).

Le rendement est calculé selon la formule :

$$\text{Rendement}_{\text{Ext}\%} = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100$$

Où

M_{Ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.



Figure 4 Montage de l'extraction : a) macération au méthanol, b) filtration.

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFT)

La détermination des flavonoïdes totaux comprends la formation de complexes entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium. Le procédé consiste en l'ajout de 600 μl d' AlCl_3 (2%, w/v) à 600 μl de l'extrait méthanolique (EM) ou l'extrait aqueux (EAQ). Le mélange est incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 415nm. Une série du standard quercétrine est préparée et soumise aux mêmes conditions, pour réaliser une courbe étalon (figure 5). La teneur de l'extrait en flavonoïdes est exprimée en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait (μg EQ/mg d'extrait) (Ghazghazia *et al.*, 2013).



Figure 5 Série de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

2.3.2. Dosage des polyphénols totaux (TPT)

Le test de Folin–Ciocalteu (FC) est la méthode adoptée pour l'estimation des composés phénoliques totaux. En bref, à 0.6 ml (1mg/ml) de l'échantillon, 0.6 ml du réactif FC (10 fois dilué dans de l'eau distillée) a été ajouté et le mélange résultant a été vortexé. Après 5 minutes de repos, 0.48 ml d'une solution à 7% (w/v) de Na_2CO_3 a été ensuite ajouté. La solution a été incubée pendant 120 min à la température ambiante, après quoi l'absorbance est lue vis-à-vis d'un contrôle contenant le solvant à 760nm. Le dosage des polyphénols totaux est fait par la préparation d'une courbe étalon de l'acide gallique (figure 6). Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait) (Mahmoudi *et al.*, 2013).



Figure 6 Série d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

2.4. Evaluation de l'activité Antioxydante

2.4.1. Test au DPPH

Brièvement, une solution 0.004% de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazile) a été préparée dans méthanol. Un volume de 50 μl d'extraits (de concentrations croissantes) ou de solutions

standard (BHT) est ajoutée à 1.95ml de DPPH. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min (figure 7). L'absorbance à 517nm est ensuite mesurée contre un contrôle à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage d'inhibition du DPPH est calculé par la formule :

$$I(\%) = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100$$

Où

$I(\%)$ est le pourcentage d'inhibition; A_c est l'absorbance du contrôle; et A_t est l'absorbance de l'échantillon. La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC_{50}) est calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'EM ou de l'EAQ (Ghedadba *et al.*, 2015)



Figure 7 Série du test au DPPH après 30 min d'incubation.

2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

2.5.1. Microorganismes testés

Il s'agit des bactéries de référence *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ; *Bacillus cereus* ATCC108776 ; *Escherichia coli* ATCC25922 disponibles au laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie; et les moisissures *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium culmorum* et *Alternaria alternata* fournis par Dr HENDEL.

2.5.2. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h, pour optimiser leur croissance. A l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester sont prélevées. L'anse est

déchargée dans 9ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et son opacité est ajustée à 0.5 de l'échelle de McFarland.

Les champignons sont cultivés sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) pendant 7 jours, à 25°C. A partir de ces cultures sont prélevés des disques (l'inoculum) pour effectuer les tests d'activité antifongique.

2.5.3. Activité antibactérienne

2.5.3.1. Test des puits de diffusion

Des volumes de 15µl de chaque concentration (300mg/ml) de l'EM ou EAQ (dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO)) sont ajoutés aux puits de 6mm de diamètre effectués dans le milieu de gélose nutritive (GN)ensemencé préalablement avec 100µl de suspension bactérienne. Chaque boîte sert d'un triplicata. Le témoin est supplémenté de 15µl de DMSO dans chaque puits. Le diamètre d'halo d'inhibition autour de chaque puits est mesuré après l'incubation des boîtes à 37°C pendant 24h. Les zones d'inhibition aux diamètres inférieurs à 8mm indiquent que les souches testées sont résistantes ; entre 9 et 14mm sont sensibles, entre 15 et 19 mm sont très sensibles et supérieurs à 20 mm sont extrêmement sensibles (Ouattara *et al.*, 2017).

2.5.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI se définit comme étant la concentration la plus faible d'un échantillon qui inhibe la croissance visible des microorganismes. La méthode des microdilutions dans le bouillon nutritif (BN) a été adoptée. Dans chaque puits 95 µl de BN et 5 µL d'inoculum sont déposés. Dans les premiers puits, on a ajouté des aliquotes de 100µl de chaque extrait (dissout dans le BN à 10% de DMSO). Ensuite, 100 µl de leurs dilutions en série ont été transférés dans les huit puits consécutifs. Le dernier puits contenant 195µl de bouillon nutritif sans extrait et 5 µl d'inoculum a été utilisé comme témoin négatif. La plaque était recouverte et scellée, puis incubée à 37°C pendant 24 h. Les puits présentant un trouble due à la croissance microbienne ont été considérés comme positifs (Diatta *et al.*, 2022).

2.5.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB correspond à la plus faible concentration en EM capable de tuer plus de 99.9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0.01 % de survivants). Afin de déterminer cette concentration, 0.1ml de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée estensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Les concentrations, dans les

boîtes qui ne présentent aucune croissance, sont considérées comme CMB (Bouharb *et al.*, 2014).

2.5.4. Activité antifongique

Le procédé consiste à transférer des disques (Ø6mm) de champignons âgés de 7 jours aux centres de boîtes de Pétri contenant le PDA et 3 puits (Ø6mm) (à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte) contenant l'EM ou L'EAQ et à incuber les boîtes à 25°C pendant 07 jours. L'extrait a été remplacé par le DMSO dans les témoins.

La lecture des résultats a été faite après 5 à 7 jours d'incubation à 25°C par mesure des diamètres de la colonie en croissance et le taux d'inhibition est mesuré selon la formule suivante (Yaici *et al.*, 2019)

$$I\% = [(Dc-Dt) / Dc] \times 100$$

Où

I%: Taux d'inhibition de la croissance du champignon en pourcentage.

Dc: Diamètre de la colonie témoin du champignon (mm).

Dt: Diamètre de la colonie fongique traitée par l'EM ou L'EAQ (mm).

2.6. Analyse statistique

Toutes les analyses de l'activité antioxydante sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA), permettant de calculer les moyennes et les écarts types. Les comparaisons statistiques ont été faites au moyen du test de Tukey. Pour l'ensemble des données, la significativité a été admise avec une erreur de 5% ($P \leq 0.05$)

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

3. Résultats et discussion

3.1 Rendement de la plante

L'opération de l'extraction par décoction de *Helianthus annuus* dans l'eau distillée a permis d'obtenir une matière sèche d'extrait brute qui montre un aspect poudreux à faible odeur, une couleur marron foncé et un rendement de 14.04% par contre, le rendement en extrait méthanolique par macération était de 6.25 % avec un aspect visqueux de couleur vert foncé et une forte odeur. Le rendement en extrait aqueux est supérieur que le rendement en extrait méthanolique.

Le rendement est dépendant de la méthode d'extraction utilisée, les conditions dans lesquelles l'extraction est réalisée (outils imprécis d'extraction, température, le choix des solvants...). Ces conditions peuvent affecter le rendement d'une part, et avoir un impact sur les activités biologique de l'extrait d'autre part (Cheurfa *et al.*, 2017).

3.2 Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Les composés polyphénoliques standards utilisés pour le dosage polyphénols totaux et flavonoïdes totaux étaient l'acide gallique et la quercétine respectivement. L'évaluation des teneurs en composés polyphénoliques s'est basée sur la méthode colorimétrique et la détermination des teneurs des extraits ME et EAQ s'est faite au moyen de courbes étalons des composés standards (figure 8). Les résultats obtenus montrent que la TPT et TFT de l'extrait méthanolique sont plus élevé que ceux de l'extrait aqueux (tableau 1).

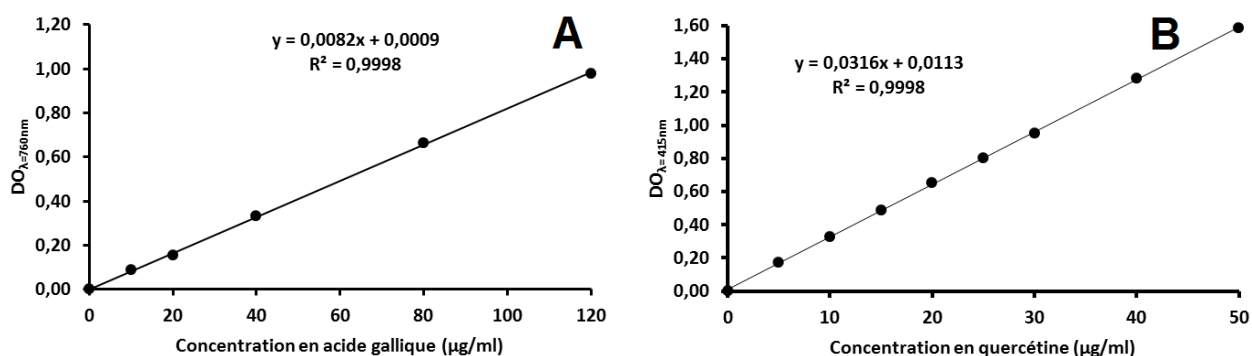


Figure 8 Courbes étalons des standards Acide gallique (A), et Quercétine (B).

Tableau 1 Teneurs en TPT et en TFT de l'EM et l'EAQ de *Helianthus annuus* L.

	EM	EAQ
TPT (μg EAG/mg d'extrait)	77.61 ± 0.85	44.74 ± 0.81
TFT (μg EQ/mg d'extrait)	45.81 ± 0.62	8.53 ± 0.19

Les TPT obtenus dans notre étude sont inférieurs à ceux obtenus par Fatrcová-Šramková *et al.* (2013) qui étaient de l'ordre de 763.67 ± 5.56 . Les TFT obtenus sont proches à ceux obtenus par Kim *et al.* (2013) qui étaient de l'ordre de $49.4\text{mg} / \text{g}$ d'extrait. Plusieurs facteurs influent sur la teneur en composés polyphénoliques de la plante : les facteurs géographiques , génétiques et climatiques , la maturation des espèces végétales , des organes, des conditions de séchage et de temps de stockage. En effet, la solubilité des polyphénols est liée aux propriétés du solvant utilisé et les conditions gouvernent le procédé d'extraction (Bamba *et al.*, 2021).

3.3 Activité antioxydante

3.3.1 Test au DPPH

La méthode de DPPH repose sur la décoloration; mesurable par spectrophotométrie; indiquant la transformation de DPPH stable de couleur violette en sa forme réduite de DPPH-H de couleur jaune. L'activité de piégeage du DPPH par les extraits ME et EAQ de *H. annuus* ainsi que par le BHT est exprimée en IC_{50} (tableau) et les résultats de la variation de l'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait sont illustrés dans la figure 9.

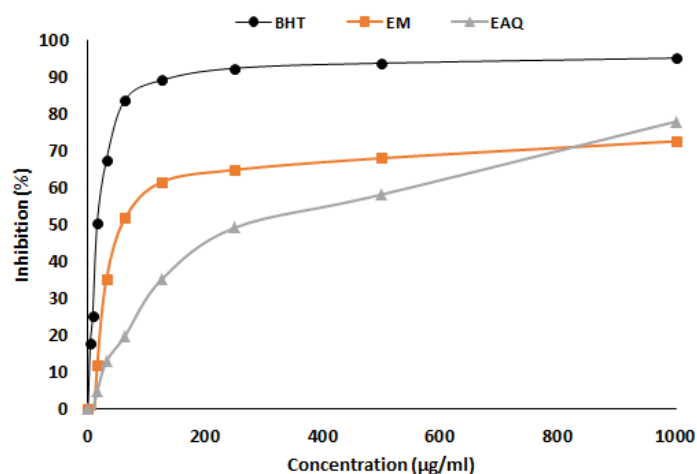


Figure 9. Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de : (A) l'EM de *H annuus*, (B) l'EAQ de *H annuus* et (C) le BHT.

Les résultats montrent que l'EM des feuilles de *H. annuus* a une capacité de piégeage du radical libre DPPH plus importante que celle de l'EAq, mais faible par rapport au BHT (tableau 2).

Tableau 2. Les valeurs IC₅₀ de l'EM, de l'EAq de *H. annuus* et du standard BHT dans le test de DPPH.

	BHT	EM	EAq
IC ₅₀ µg/ml.	7.667 ± 0.10	77.614 ± 0.8	278.701±3.21

Les propriétés biologiques des polyphénols ont été attribuées à leur propriétés antioxydantes à travers plusieurs mécanismes possibles, y compris leur capacité à piéger les radicaux libres, réduire directement les peroxydes et stimuler l'activité enzymatique dans les défenses antioxydantes. L'extrait est constitué d'un certain nombre de molécules différentes avec des quantités variables ; les faibles valeur d'IC₅₀ indiquent un haut niveau d'activité antioxydante (Bencheikh *et al.*, 2021)

3.4 Activité antimicrobienne

3.4.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de L'EM et l'EAq des feuilles de *H. annuus* vis-à-vis 04 souches bactériennes a été appliquée par la méthode des puits de diffusion en milieu GN. Elle est évaluée en termes de diamètre du halo formé autour du puits.

Tableau 3. Zones d'inhibition (mm) des extraits EM et EAq des feuilles de *H. annuus* vis-à-vis des souches bactériennes.

Bactéries	EM	EAq
<i>S. aureus</i>	24 ± 1.63	+
<i>E. coli</i>	27.5 ± 2.08	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+
<i>B. cereus</i>	27.25 ± 2.75	+

+ : croissance totale

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *H. annuus* a un effet inhibiteur très important sur les bactéries à Gram positif *S. aureus*, *B. cereus* et à Gram négatif *E. coli* : la zone d'inhibition dépasse 20mm , ce qui qualifie que ces bactéries sont extrêmement sensibles (tableau 3 ; figure 10). *Pseudomonas aeruginosa* étant résistante. L'extrait aqueux de la plante n'a présenté aucun effet inhibiteur à l'encontre de toutes les bactéries testées.

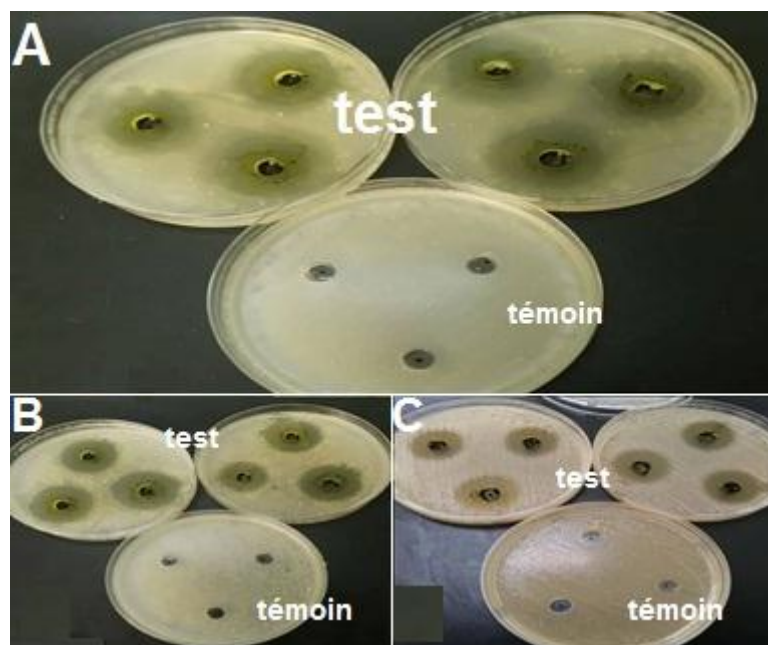


Figure 10. Zones d'inhibition provoquées par Effet de l'EM de *H annuus* sur les différentes souche testées (A) *E. coli* (B) *B. cereus* (C) *S. aureus*

L'extrait méthanolique des feuilles de notre plante a présenté une très bonne activité antibactérienne par rapport à l'extrait méthanolique des fleurs de la même plante dans une étude menée par Al-Shukaili & Hossain (2019) ; les diamètres des zones d'inhibition des bactéries testées varient entre 9 mm et 15 mm mais à la concentration de 500µg/ml d'extrait.

De nombreuses études ont rapporté que les plantes médicinales sont la source de plusieurs composés actifs antibactériens, tels que les huiles essentielles, les flavonoïdes, les composés phénoliques et les terpènes, qui sont classés comme composés antibactériens actifs. L'analyse phytochimique des extraits végétaux a montré la présence d'un ou plusieurs groupes de composants botaniques tels que les phénols, les tanins, les flavonoïdes, les glycosides, les saponines, etc. , qui sont responsables de l'activité antimicrobienne seuls ou en combinaison. Le mécanisme antimicrobien implique l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines, des parois cellulaires et des membranes cellulaires (Benslama *et al.*, 2018).

3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique des feuilles de *H. annuus* sont déterminées par exposition des bactéries aux concentrations croissantes de l'EM. Les CMI correspondent à l'absence de croissance visuelle des bactéries, alors que les CMB correspondent aux concentrations de l'EM dont l'absence totale de croissance est enregistrée après transfert d'un volume du bouillon, où les CMI sont observées, à un bouillon exempt d'extrait et incubation pour une seconde période. Les résultats des CMI et CMB sont présentés au tableau 4.

Tableau 4. CMI et CMB (mg/ml) de l'EM des feuilles de *H. annuus* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Bactéries	CMI	CMB
<i>S. aureus</i>	0.0725	1.17
<i>E. coli</i>	0.0725	0.29
<i>P. aeruginosa</i>	0.0725	0.58
<i>B. cereus</i>	1.17	2.34

+ : croissance totale

Les résultats montrent que l'EM a une activité antimicrobienne contre l'ensemble des bactéries testées dans le milieu liquide. La CMI est comprise entre 1.17 mg/ml et 0.0725 mg/ml. Les souches *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* sont les plus sensibles à l'extrait méthanolique avec une CMI de 0,0725 mg/ml, alors que la CMI de *P. aeruginosa* est de 1.17 mg/ml. La CMB de *P. aeruginosa*, *S. aureus*; *B. cereus*, et *E. coli* sont de 2.34 mg/ml, 1.17 mg/ml, 0.29 mg/ml, 0.58 mg/ml, respectivement. Alexandrino *et al.* (2021) a mentionné que la CMI de l'extrait éthanolique de la même plante pour les bactéries *P. aeruginosa*, *S. aureus*, et *B. subtilis* est au-dessus de 11.6 mg/ml ; *E. coli* étant la plus sensible avec (CMI = 11.6 mg/ml). La nature de la paroi bactérienne joue un rôle important dans la résistance de la cellule bactérienne. La paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines, alors que celle des Gram- est majoritairement assemblée en lipopolysaccharide (LPS) dont la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, du fait de sa charge de surface négative, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, tandis que les protéines empêchent le passage des molécules hydrophiles de haut

poils moléculaire. Les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les antimicrobiens, le peptidoglycane ne gêne que la diffusion des molécules supérieures à 50000D (Basli *et al.*, 2012).

3.6 Activités antifongiques

L'activité antifongique de l'EM et l'EAq des feuilles de *H. annuus* a été étudiée vis-à-vis 04 champignons par la méthode de puits de diffusion en milieu PDA. Elle a été évaluée par le calcul du diamètre de la colonie du champignon soumis à l'action de l'extrait par rapport son témoin. Les résultats montrent que les extraits avaient un effet de faible à modéré ou important selon le champignon et l'extrait testé (figure 11).

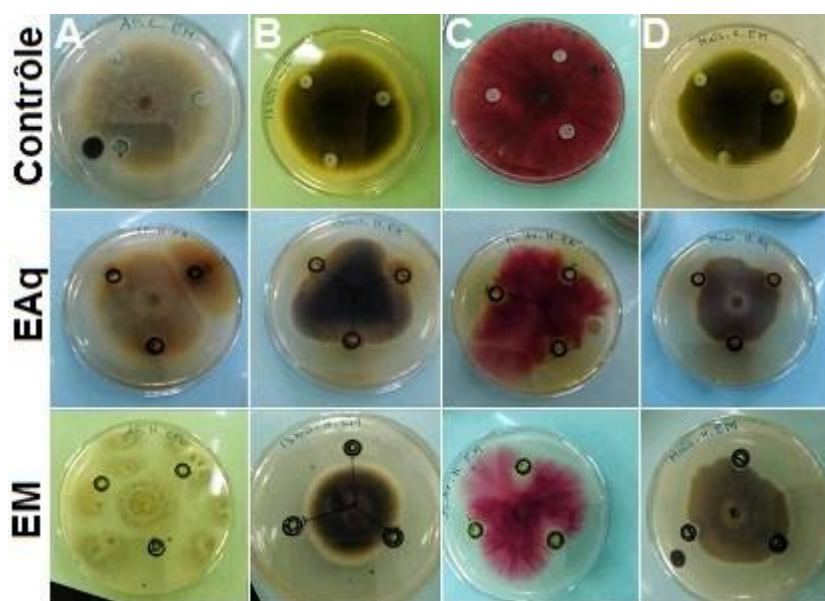


Figure 11. L'effet de l'EM et de l'EAq des feuilles de *H. annuus* sur les moisissures : (A) *A. flavus* (B) *Alt. alternata* (C) *F. culmorum* (D) *A. niger* par la technique des puits de diffusion.

Les résultats du taux d'inhibition montrent que l'extrait méthanolique de feuilles de *H. annuus* a un effet inhibiteur significatif sur toutes les moisissures ; les valeurs sont comprises entre 14.27 % pour *A. niger* étant la plus résistante à 33.30 % étant la plus sensible. L'extrait aqueux avait un

effet inhibiteur faible sur les souches d'*Aspergillus* ($\approx 4\%$) voire important ($\approx 30\%$) sur *Alt. Alternata* et *F. culmorum* (figure 12).

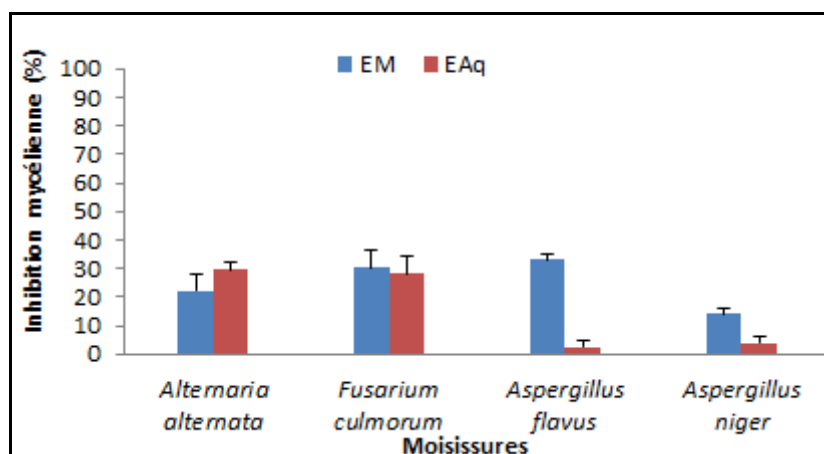


Figure 12. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures causé par l'EM et l'EAq des feuilles de *H. annuus* L.

Le mode d'action de l'extrait dépend du type de microorganisme, du type d'extrait et de sa concentration. La variabilité de l'efficacité des extraits des plantes peut également dépendre de leur composition chimique. Elle peut être liée à la polarité des substances biologiquement actives ; par exemple les composés les moins polaires sans groupement hydroxyle sont plus actifs contre les agents microbiens que ceux avec des groupements hydroxyles. L'effet de l'extrait peut-être dû à la synergie entre les nombreux composants, dont chacun devient inactif lorsque ces composants sont séparés (Fertout *et al.*, 2016)

CONCLUSION
ET
PRESCRIPTIVES

Conclusion

Le règne végétal a fourni une grande variété de médicaments à travers l'histoire et à travers le monde. Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, épices à base de plantes, etc. , ont des propriétés biologiques très intéressantes, qui peuvent être utilisées en médecine , pharmacie, cosmétologie et agriculture. Actuellement, la recherche sur les plantes médicinales est basée sur des études des propriétés thérapeutiques des plantes tels que les antioxydants et les antibactériens.

Dans cette étude, la teneur en polyphénols et en flavonoides, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de *Helianthus annuus* ont été évaluées. Les résultats ont montré que la plante étudiée est riche en polyphénols. En revanche, la plante a un effet antiradicalaire modéré sur le DPPH. Néanmoins, la plante a montré une forte activité antibactérienne contre les souches bactériennes et une faible à intéressante activité antifongique contre les champignons, au moyen de la technique des puits de diffusion. Les MI et les CMB des bactéries testées ont été déterminées.

Cette étude a ciblé uniquement les feuilles de *Helianthus annuus* ; d'autres études peuvent être réalisées pour évaluer d'autres extraits ou huiles essentielles des fleurs, ainsi que pour rechercher d'autres activités biologiques intéressantes telles que l'activité anticancéreuse, anti inflammatoire, antidiabétique, etc.

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Al-Shukaili, N. B. M. B. A., & Hossain, M. A. (2019). Antimicrobial and cytotoxic potential of seeds and flowers crude extracts of sunflower. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(4), 103-108.
2. Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Bezerra, R. M. N., & Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current research in food science*, 4, 662-669.
3. Bamba, B., Benie, C. K. D., Ouattara, A., Doukourou, D. N., Kamou, R. K., & Ouattara, K. (2021). Teneurs en phenols totaux, activités antioxydantes des macérés et décocté des feuilles de *Uvaria chamae* P. Beauv.(Annonaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 54-67.
4. Bashir, T., Zia-Ur-Rehman Mashwani, K. Z., Haider, S., & Shaista Tabassum, M. (2021). 02. Chemistry, pharmacology and ethnomedicinal uses of *Helianthus annuus* (Sunflower): A Review. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 4(2), 226-235.
5. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
6. Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.
7. Bayala, B., Bassole, I. H. N., Gnoula, C., Nebie, R., Yonli, A., Morel, L., Figueredo, G., Nikiema, J.-B., Lobaccaro, J.-M. A., & Simporé, J. (2014). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PLoS one*, 9(3), e92122.
8. Bencheikh, D., Gueddah, A., Soualat, K., Ben-aissi, H., Benslama, A., Harrar, A., & Khennouf, S. (2021). Polyphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* L. and *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Applied Biological Sciences*, 15(1), 53-63.
9. Benslama, A., Harrar, A., Gul, F., & Demirtas, I. (2018). In vitro antioxidant, antibacterial activities and HPLC-TOF/MS analysis of *Anvillea radiata* (Asteraceae) extracts. *Curr Nutr Food Sci*, 14, 1-8.

10. Bouabid, K., Lamchouri, F., Toufik, H., & my el abbes, F. (2020). Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 253, 112640. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112640>
11. Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., Chakir, S., & Alaoui, T. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6685-6693.
12. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
13. Camille, D. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier.
14. Cheurfa, M., Allem, R., Zabel, K., Aichouni, W., & Medjkane, M. (2017). Étude des effets des extraits des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et *Zizyphus lotus* L. sur quelques bactéries pathogènes de l'Homme. *Phytothérapie*, 1-7.
15. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A mini-review. *Frontiers in nutrition*, 5, 87.
16. Couplan, F. (2012). Les plantes et leurs noms: Histoires insolites. *Les plantes et leurs noms*, 1-224.
17. Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273.
18. Diatta, B. D., Niass, O., Gueye, M., Houël, E., & Boetsch, G. (2022). Diversité Et Activité Antimicrobienne Des Plantes Impliquées Dans Le Traitement Des Affections Dermatologiques Chez Les Peul Et Les Wolof Du Ferlo Nord (Sénégal). *Journal, ESJ*, 18(8), 73.
19. Duval, M., & Cossart, P. (2019). [A new mechanism of antibiotic resistance: ribosome recycling]. *Med Sci (Paris)*, 35(8-9), 613-615. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019117> (Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques - Le recyclage des ribosomes.)
20. Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., & Stričík, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(2), 133-138.

21. Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Antibacterial activity of four extracts of *Teucrium polium* L. of Tessala mount (western Algeria). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*.
22. Ghazghazia, H., Chediab, A., Abderrazakb, M., & Brahim, H. (2013). Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol Hyg Alim*, 25(73), 37-41.
23. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
24. Hendel, N., Napoli, E., Sarri, M., Saija, A., Cristani, M., Nostro, A., Ginestra, G., & Ruberto, G. (2019). Essential oil from aerial parts of wild Algerian rosemary: Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1), 1-17.
25. Kim, J.-W., Kim, J.-K., Song, I.-S., Kwon, E.-S., & Youn, K.-S. (2013). Comparison of antioxidant and physiological properties of Jerusalem artichoke leaves with different extraction processes. *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(1), 68-75.
26. Krist, S. (2020). *Vegetable fats and oils*. Springer Nature.
27. Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*.
28. Lim, T. (2014). *Helianthus annuus*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (pp. 372-396). Springer.
29. Link, A., Balaguer, F., & Goel, A. (2010). Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: promising role for epigenetics. *Biochemical pharmacology*, 80(12), 1771-1792.
30. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*(9), 35.
31. Merghache, D., Boucherit-Atmani, Z., & Boucherit, K. (2012). Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). *Phytothérapie*, 10(4), 215-221.

32. Migdal, C., & Serres, M. (2011a). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
33. Muylaert, A., & Mainil, J. (2012). Bacterial antimicrobial resistances: the mechanisms and their contagiousness. *Annales de Médecine Vétérinaire*,
34. Ouattara, L. H., Kabran, G. R. M., Guessennnd, N. K., Konan, K. F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., & BEKRO, Y.-A. (2017). Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata*: 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18, 31-40.
35. Saidi, I. (2019). *Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives*
36. Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
37. Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M., & Kouretas, D. (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 2155-2170.
38. Stevens, M.(2000). Annual sunflower *Helianthus annuus* L. USDA, NRCS, National Plant Data Center.
39. Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2019). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L.(Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*.
40. Yougbaré-Ziébrou, M., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W., & Guissou, I. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.
41. Zeb, A. (2021). Concept of Antioxidants in Foods. In *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis* (pp. 3-23). Springer.

Sites internet

1. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=36616#null

ANNEXES

Annexe I

Matériels et produit chimiques

Appareillage	Petits matériel et Verrerie	Solutions et réactifs
- Clevenger	- Anse de platine	- 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH)
- Agitateur	- Tubes à essai	- Réactif de folin-ciocalteu (FCR)
- Autoclave	- Béchiers	- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Bain marie	- Boîtes en verre	- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Balance de précision	- Boîtes de pétri stériles de 90mm de diamètre	- Méthanol
- Bec Bunsen	- Ecouvillons stériles	- Diméthyl sulfoxyde (DMSO)
- Etuve	- Eprovettes	- Chlorure ferrique(FeCl_3)
- Incubateur bactériologique (25°C,37°C)	- Erlenmeyer	- Acide chlorhydrique(HCl)
- Réfrigérateur	- Fioles	- Acide sulfurique (H_2SO_4)
- Spectrophotomètre UV	- Flacon avec bouchon	- PDA
- Vortex		- Muller Hinton
		- Eau distillée
		- Eau physiologique
		Standards utilisés
		- BHT
		- Acide gallique
		- Quercétine

Annexe II

Préparation des milieux de culture et solutions

▪ **Bouillon nutritif (BN)(g/l)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000ml
pH	7.3

▪ **Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	18 g
Eau distillée	1000ml
pH	7.3

▪ **Potato Dextrose Agar (PDA)(g/l)**

Filtrat de pomme de terre	200g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000ml
pH	5.6

▪ **Eau physiologique**

Eau distillée	1000ml
NaCl	09 g

يتبع نبات *Helianthus annuus* L. الى عائلة *Asteraceae* و يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي . كان الهدف من هذا العمل هو تحديد محتوى البوليفينول و الفلافونويد في المستخلص الميثانولي والمستخلص المائي لهذا النبات وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والبكتيريا و الأعفان. كان مردود مستخلص أوراق الميثانولي بالنقع حوالي 10% أما مردود مستخلص أوراق المائي بالغلي فكان حوالي 28.08% . حددت محتويات المستخلص الميثانولي والمائي بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة ثلاثي كلوريد الالمنيوم بنحو 77.614 ± 0.85 ، 44.447 ± 0.81 ملغ / مكافئ حمض الجالليك من المستخلص و 81.45 ± 0.62 ، 8.535 ± 0.19 ملغ / الكرسيتين خلاصة ، على التوالي . تم تطبيق النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH ، وكانت قيم IC_{50} للمستخلص الميثانولي 278.701 ± 3.21 ميكروغرام / مل و المستخلص المائي 77.614 ± 0.08 ميكروغرام / مل ، على التوالي . تم تطبيق النشاط المضاد للميكروبات لأربع سلالات بكتيرية غرام+ و غرام- و 04 فطريات بطريقة انتشار من الآبار وظهر أن نشاط المستخلص الميثانولي لنبات *H. annuus* ضد للميكروبات أعلى من المستخلص المائي لنفس النبات. كما هو الحال مع الفطريات ، كان للمستخلص الميثانولي تأثيرا مشبها مقبولا على الفطريات ، بنسب تثبيط تتراوح من 33.30 ± 1.71 % الى 14.27 ± 2.05 %

الكلمات المفتاحية : *Helianthus annuus* ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ،

Abstrac

Helianthus annuus L. is a plant belonging to the *Asteraceae* family. It is widely used in traditional medicine. The objective of this work was to determine the polyphenol and flavonoid contents of the methanolic ME and aqueous AqE extracts of this plant and to evaluate their antioxidant and antibacterial activities. The yield for the methanol extraction of leaves by maceration was about 10% (w/w). The aqueous extraction of the leaves by decoction gave yielded in about 28.08% (w/w). The polyphenol and flavonoid contents of ME and AqE determined by Folin-Ciocalteu and aluminium chloride methods were 77.61 ± 0.85 ; 44.44 ± 0.81 mg GAE/g of extract and 45.81 ± 0.62 ; 8.53 ± 0.19 mg QE/g extract, respectively. The antioxidant activity was carried out by the DPPH method, and the IC_{50} of the ME and AqE were 278.70 ± 3.21 μ g/ml and 77.61 ± 0.08 μ g/ml, respectively. The antimicrobial activity against 4 bacterial strains (Gram+ and Gram-) and 05 fungi was evaluated by the well diffusion method. ME from *Helianthus annuus* appears to have higher antimicrobial activity than AqE from the same plant. As with fungi, *H. annuus* ME had a significant inhibitory effect on the tested fungi, with inhibition rates ranging from 33.30 ± 1.71 % to 14.27 ± 2.05 %.

Key words: *Helianthus annuus*, antioxidant activity, antibacterial activity,

Résumé

Helianthus annuus L est une plante de la famille des *Asteraceae*. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle. L'objectif de ce travail était de déterminer la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique (EM) et l'extrait aqueux (EAQ) de cette plante et d'évaluer leur activités antioxydante et antibactérienne. Le rendement des feuilles pour l'extraction méthanolique par macération est d'environ 10 % (w/w). L'extraction aqueuse des feuilles par décoction a donné un rendement d'environ 28,08 % (w/w). Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'EM et de l'EAQ déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode du trichlorure d'aluminium étaient de $77,61 \pm 0,85$; $44,44 \pm 0,81$ mg EAG/g d'extrait et $45,81 \pm 0,62$; $8,535 \pm 0,19$ mg EQ/g d'extrait, respectivement. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode DPPH, et l' IC_{50} d'EM et EAQ était de $278,70 \pm 3,21$ μ g/ml et $77,61 \pm 0,08$ μ g/ml, respectivement. L'activité antimicrobienne contre 4 souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et 05 champignons a été évaluée par la méthode de puits de diffusion et de microdilution. L'EM de *H. annuus* semble avoir une activité antimicrobienne plus élevée que l'EAQ de la même plante. Comme pour les champignons, l'EM du *H. annuus* a eu un effet inhibiteur significatif sur les champignons testés, avec des taux d'inhibition allant de 33.30 ± 1.71 % à 14.27 ± 2.05 %

Les mots clés : *Helianthus annuus*, Activité antioxydant, activité antibactériennes,