

République Algérienne Démocratique et Populaire

مؤلغلا قرازو شحلا و بلاعلا يملعلا

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ةعماج وبأ ركب دباؤلبن اسملت

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

ةتلك مولعلا قانجلا و ةتبعي بطلا، مولعو نوكلا و ضرلا

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie Laboratoire des

produits naturels LAPRONA **MÉMOIRE**

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Sciences Alimentaires

En Nutrition et Pathologie

Présenté par

ZIRAR Sarra ikram

TEIBI Hasna

Thème :

***Activités anti-hémolytique et antimicrobienne des extraits de
Rubus Ulmifolius Schott.***

Soutenu le : 19 /06/2023, Devant le jury composé de :

Mme DIB-BENAMAR Hanane	MCA	Université de Tlemcen	Présidente
Mme SOUALEM-MAMI Zoubida	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mme SELADJI-BEKKARA Meryem	MCA	Université d'Oran 1	Encadrante

Année universitaire : 2022/2023



Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le Créateur de l'univers, qui nous a doté d'intelligence, et nous a maintenu en santé pour mener à bien cette année d'étude.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadrante” **Mme SELADJI-BEKKARA Meryem**”, de nous avoir proposé le sujet de notre mémoire, et pour ses conseils et ses précieuses orientations, pour nous avoir accordée sa confiance, ainsi que le temps qu'elle nous à consacrer tout au long de notre travail.*

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury :

***Mme SOUALEM-MAMI Zoubida** de nous avoir fait l'honneur de juger ce modeste travail et d'assister à la soutenance.*

***Mme DIB-BENAMAR Hanane** qui nous a fait le grand honneur en présidant le Jury de ce mémoire.*

*Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe du Laboratoire des Produits Naturels « **LAPRONA** », particulièrement les doctorantes : **M^{elle} BENAMEUR Meriem**, **M^{elle} SENHADJI Souad** pour leurs précieuse aide et leurs disponibilités. Sans oublier l'ingénieure du laboratoire **Mme AMICHE Fatima**, à qui nous adressons un grand merci.*

On profite de cette occasion pour remercier tous nos enseignants de la faculté SNV-STU de l'Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen, ainsi que les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

***Enfinement**, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, nos sœurs et nos frères, pour leurs contributions et leurs soutiens inconditionnel.*

Sarah Ikram & Hasna

Dédicace :

Je tiens avec profonde gratitude à dédier ce modeste travail, à tous ceux qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin :

A mon très cher père

Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Je t'aime papa.

A ma très chère mère

À ma prof de math, Merci d'avoir toujours été là pour moi, tu as toujours été une oreille attentive, une écoute de chaque instant, un soutien permanent, une formidable maman, Tu restes ma plus belle certitude, je veux que tu sache que je ne suis rien sans toi mais avec toi je peux être tout, je t'aime maman.

A ma chère sœur

*Mon âme sœur **Imane Hana**, Merci de m'avoir accompagné pendant toute ma vie, merci de m'avoir encouragé, Merci d'être à mes côtés dans mes pires et bons moments. Je t'aime notre doctorante.*

A mes chers frères

***Mohammed el Amine, Moustapha Adel**, Merci de m'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments passé ensemble. Je vous aime, Qu'Allah vous protège et vous exhausse tous vos vœux.*

À mes chères copines,

***Safia boushaba, Samia Yahia Mamoune, Abdellali ghizlene, Meryem boutaleb, Teibi hasna** vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

Sarah Ikram

Dédicace :

A mes très chers parents

Pour mon père, qui m'a aidé à avancer dans la vie, pour ton amour, tes sacrifices, tes précieux conseils, que dieu te protège.

A ma chère mère, je t'exprime ma grande affection et ma profonde reconnaissance, je suis Très fier que tu sois ma mère, puisse Dieu le Tout Puissant, te préserver et t'accorder santé, longue Vie et bonheur.

A mes sœurs et mes frères

Merci pour leurs encouragements et surtout à ma jumelle, ma deuxième moitié Bouchra pour chaque seconde où elle m'a soutenu.

A mon binôme

A Sara tu es ma meilleure amie, merci pour tout, je t'aime beaucoup.

Hasna

Résumé :

Dans le contexte de la découverte des extraits naturels issus des végétaux utilisés en médecine traditionnelle et afin de les utiliser comme alternative aux antibiotiques de synthèse, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique et antimicrobienne des extraits de *Rubus ulmifolius* schott. (Le murier sauvage), qui est une plante médicinale appartenant à la famille des Rosacées. Cette espèce végétale possède des propriétés biologiques, grâce à sa richesses en métabolites secondaires.

Dans un premier temps, nous avons procédé à l'extraction des différentes familles des métabolites secondaires prédominants (polyphénols, fraction flavonoïdique d'acétate d'éthyle, fraction flavonoïdique n-butanol). Par la suite nous avons testé leurs pouvoir anti-hémolytique et antimicrobien par la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats démontrent l'effet anti-hémolytique des extraits comparativement avec l'acide ascorbique à différentes concentrations que l'extrait de notre plante étudiée a une forte activité où nous avons trouvé que l'extrait flavonoïdique (n-butanol) à un pourcentage égal à 95% pour concentration 0,25 mg/ml concentration très faible comparé au 1,5 d'acide ascorbique.

Concernant l'activité antimicrobienne Les extraits de feuille ont été testés sur cinq souches bactériennes ainsi qu'une levure Selon la méthode de diffusion sur disque avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 17,25 mm. Puis par méthode de micro-dilution sur milieu liquide afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMI. Les résultats ont montré que la phase acétate d'éthyle s'est montrée la plus active contre toutes les bactéries testées.

En ce qui concerne l'activité anti-hémolytique, les résultats montrent que les extraits de *Rubus ulmifolius* ont un fort pouvoir protecteur. À travers ces résultats on conclue que *Rubus ulmifolius* a un fort potentiel anti-hémolytique et antimicrobien et peut être une alternative aux médicaments

Mot clés : *Rubus ulmifolius* Schott., activité anti-hémolytique, activité antimicrobienne, métabolites secondaires, CMI.

Abstract

In the context of the discovery of natural extracts from plants used in traditional medicine, and with a view to using them as an alternative to synthetic antibiotics, we were interested in evaluating the anti-hemolytic and antimicrobial activity of extracts from *Rubus ulmifolius* schott. (Wild Mulberry), a medicinal plant belonging to the Rosaceae family. This plant species possesses biological properties thanks to its rich secondary metabolites.

We began by extracting the various families of predominant secondary metabolites (polyphenols, flavonoid fraction of ethyl acetate, flavonoid fraction n-butanol). We then tested their anti-hemolytic and antimicrobial properties using the disk diffusion method.

The results demonstrate the anti-hemolytic effect of the extracts compared with ascorbic acid at different concentrations, with the extract from our study plant having a strong activity where we found that the flavonoid extract (n-butanol) at a percentage equal to 95% for concentration 0.25 mg/ml very low concentration compared with 1.5 ascorbic acid.

Leaf extracts were tested on five bacterial strains and one yeast according to the disk diffusion method, with inhibition diameters ranging from 8 to 17.25 mm. Then by micro-dilution on liquid medium to determine minimum inhibitory CMs concentrations. The results showed that the ethyl acetate phase was the most active against all the bacteria tested.

With regard to anti-hemolytic activity, the results show that *Rubus ulmifolius* extracts have a strong protective power. These results lead us to conclude that *Rubus ulmifolius* has strong anti-hemolytic and antimicrobial potential, and can be an alternative to drugs.

Key words: *Rubus ulmifolius* Schott, anti-hemolytic activity, antimicrobial activity.

الملخص

في سياق اكتشاف المستخلصات الطبيعية من النباتات المستخدمة في الطب التقليدي ، وبغية استخدامها كبديل للمضادات الحيوية الاصطناعية ، فقد اهتمنا بتقييم النشاط المضاد للانحلال والميكروبات لمستخلصات من نبات *Rubus ulmifolius*. schott (التوت) ، وهو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الوردية. تمتلك هذه الأنواع النباتية خصائص بيولوجية بفضل المستقلبات الثانوية الغنية.

بدأنا باستخراج العائلات المختلفة من المستقلبات الثانوية السائدة (البوليفينول ، جزء الفلافونويد من أسيتات الإيثيل ، جزء الفلافونويد (n- البيوتانول). ثم اختبرنا خصائصها المضادة للانحلال والميكروبات باستخدام طريقة انتشار القرص. أظهرت النتائج التأثير المضاد لانحلال الدم للمستخلصات مقارنة بحمض الأسكوربيك بتركيزات مختلفة ، مع نشاط قوي للمستخلص من نبات الدراسة حيث وجدنا أن مستخلص الفلافونويد (n- بيوتانول) بنسبة 95% التركيز 0.25 مجم / مل تركيز منخفض جدا مقارنة بحمض الاسكوربيك 1.5.

تم اختبار مستخلصات الأوراق على خمس سلالات بكتيرية وخميرة واحدة حسب طريقة الانتشار القرصي ، بأقطار تثبيط تتراوح من 8 إلى 17.25 مم. ثم عن طريق التخفيف الدقيق على وسط سائل لتحديد الحد الأدنى من تركيزات CMS المثبطة. أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل كانت الأكثر نشاطاً ضد جميع البكتيريا المختبرة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للانحلال ، أظهرت النتائج أن مستخلصات *Rubus ulmifolius* لها قوة وقائية قوية. نقودنا هذه النتائج إلى استنتاج أن *Rubus ulmifolius* لديه إمكانات قوية مضادة للدم ومضادات الميكروبات ، ويمكن أن يكون بديلاً للأدوية.

الكلمات الأساسية: *Schott Rubus ulmifolius* ، ، نشاط مضاد للدم ، نشاط مضاد للميكروبات .

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Table des matières	I
Liste des abréviations	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Introduction générale.....	1
Partie 1 : Synthèse bibliographique.....	4
Chapitre I : plantes médicinales et activités biologiques	5
1 Historique :.....	5
2 Définition des plantes médicinales :	5
3 Les plantes médicinales en Algérie :.....	5
4 Les activités biologiques des plantes médicinales :.....	6
4.1 L'activité antimicrobienne :.....	6
4.2 L'activité antioxydante :.....	6
4.3 L'activité anti inflammatoire :.....	7
4.4 L'activité anti-hémolytique :	7
5 Présentation de la plante étudiée : <i>Rubus ulmifolius</i>	8
5.1 Description botanique de <i>Rubus ulmifolius</i> :.....	8
5.1.1 Les feuilles	8
5.1.2 La tige :.....	9
5.1.3 Les fleurs	9
5.1.4 Les fruits.....	10
5.2 Utilisation thérapeutique des feuilles de <i>R. ulmifolius</i> :	10
5.3 Travaux antérieurs :	11
Chapitre 2 : Les métabolites secondaires	12
1 Définition et fonction des métabolites secondaires :	12
2 Classification des métabolites secondaires :	12
2.1 Les composés phénoliques :	13
2.1.1 Classification des composés phénoliques :	13
2.1.2 Les acides phénoliques :.....	14
2.1.3 Les flavonoïdes :	15

2.1.4	Les tanins :	16
2.1.5	Les coumarines :.....	16
2.1.6	Les phénylpropanoïdes :.....	17
2.1.7	Les quinones :.....	18
2.2	Les alcaloïdes :	18
2.3	Les terpénoïdes :.....	19
Partie 2 : Partie expérimentale.....		20
Matériel et méthodes.....		20
1	Matériel végétal :	21
2	Origine et préparation des échantillons :.....	21
2.1	Origine du matériel végétal :	21
2.2	Préparation des échantillons :.....	21
3	Extraction des composés phénoliques :	21
3.1	Extraction des polyphénols :.....	21
3.2	Extraction des flavonoïdes :	22
4	Evaluation des activités biologiques :.....	24
4.1	Evaluation de l'activité anti-hémolytique :	24
4.2	Evaluation de l'activité antimicrobienne :.....	28
Partie 3 : Résultats et discussion		31
1	Evaluation de l'activité anti-hémolytique in vitro par la méthode de stabilité membranaire des globules rouge :.....	32
2	Evaluation de l'activité antimicrobienne :	34
Conclusion.....		35
Références Bibliographiques.....		35

Liste des abréviations

PBS : phosphate-buffered saline

NaCl : Le chlorure de sodium

PH : potentiel d'hydrogène

DMSO : diméthylsulfoxyde

OMS : Organisation mondiale de la santé

HB : Hémoglobine

CMI : La concentration minimale inhibitrice

GRh : les globules rouges humains

Liste des figures

Figure 1 : L'aspect général de <i>Rubus ulmifolius</i> Schott.....	08
Figure 2 : Feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i>	09
Figure 3 : Le Turion de <i>Rubus ulmifolius</i>	09
Figure 4 : Fleur de <i>Rubus ulmifolius</i>	10
Figure 5 : Fruit de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	10
Figure 6 : Classification de quelques métabolites secondaires	13
Figure 7 : Structure chimique de l'acide phénolique : l'acide de hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B).....	15
Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes	15
Figure 9 : Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b)	16
Figure 10 : Structure de base des coumarines	17
Figure 11 : Structure de quelques phénylpropanoïdes	17
Figure 12 : Structure des quinones	18
Figure 13 : Structures de quelques alcaloïdes	18
Figure 14 : Exemples de différentes classes des terpénoïdes	19
Figure 15 : Protocole d'extraction des polyphénols	22
Figure 16 : Extraction des flavonoïdes.....	23
Figure 17 : centrifugation de sang	24
Figure 18 : Etuve du laboratoire.....	25
Figure 19 : Différents extraits testés.....	26
Figure 20 : Différents extraits après centrifugation.....	26
Figure 21 : Spectrophotomètre	27
Figure 22 : préparation des milieux.....	29

Figure 23 : L'activité antimicrobienne.....	29
Figure 24 : Méthode de micro-dilution (CMI)	30
Figure 25 : pourcentage de la stabilité membranaire de polyphénol.....	32
Figure 26 : pourcentage de la stabilité membranaire des flavonoïdes (phase n-butanol)	33
Figure 27 : pourcentage de stabilité membranaire des flavonoïdes (phase acétate d'éthyle)	33
Figure 28 : Effet des extraits sur la croissance des différentes souches testées	36
Figure 29 : Effet des extraits sur la levure	37
Figure 30 : L'activité antimicrobienne d'un produit en milieu liquide.....	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : les principales classes de composés phénoliques.....	14
Tableau 2 : Les différentes souches microbiennes testées.....	28
Tableau 3 : diamètres des zones d'inhibition des différents extrait étudiées relatives aux souches testées selon la méthode des disques.....	35
Tableau 4 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits.....	38

Listes des photos

Photo 01 : centrifugeuse

Photo 02: centrifugation de sang

Photo 03: différents extraits testés

Photo 04: différents extraits après centrifugation

Photo 05: spectrophotomètre

Photo 06: préparation des milieux

Photo 07: l'activité antimicrobienne

Photo 08 : méthode de micro-dilution (CMI)

Photo 09: effet des extraits sur la croissance des différentes souches testées

Photo 10: Effet des extraits sur la levure

Photo 11: l'activité antimicrobienne d'un produit en milieu liquide

Introduction générale

Les bactéries sont responsables de plusieurs maladies. Leur résistance aux antibiotiques est de plus en plus prononcée. Pour arrêter ce processus de résistance, il est impératif de chercher une approche dans le but de diminuer ou d'éliminer les affections sans l'utilisation des produits synthétiques (**Vanden Berghe et Vlietinck, 1991**).

D'une autre part l'anémie hémolytique demeure un problème majeur de la santé publique durant ces dernières décennies à travers le monde, malgré l'amélioration remarquable des conditions de vie, elle est classée selon l'OMS comme l'un des problèmes les plus sérieux au monde, pour combattre cette anémie qui est due à une hyper-hémolyse le plus souvent liée à un stress oxydatif, la recherche des plantes médicinales ayant des antioxydants naturels reste l'une des meilleures investigations (**Zinebi et al., 2017**).

Depuis l'antiquité jusqu'à nos jours, les produits d'origine végétale constituent une importante source d'agents thérapeutiques. A l'heure actuelle, 25% des médicaments sont fabriqués à partir des plantes médicinales (**Ahmed, 2017**).

L'Algérie possède un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : il existe plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes médicinales occupent une large place et jouent un rôle important dans l'économie nationale (**Duraffourd, 1997**).

Les plantes médicinales étaient l'une des seules sources de guérisons des maladies (**Beloued, 2001**). Leur action vient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires. Ils ont principalement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise en lui donnant un avantage sur d'autres organismes (**Coffi et al., 2012**). Il ont des fonctions biologiques qui peuvent s'avérer essentielles (**Scharf et al., 2014**).

Rubus ulmifolius Schoot. est une espèce végétale de la famille des Rosaceae qui constitue la 19^{ème} plus grande famille de plante, cette plante est souvent employée en médecine traditionnelle du fait de ses différents propriétés biologiques (**Sumaira et Rahman, 2013 ; Akkari et al., 2016 ; Reidel et al., 2016 ; Kant, 2018**).

Ils nous semblent donc intéressantes d'évaluer l'activité anti-hémolytique et l'activité antimicrobienne des extraits (polyphénols et flavonoïdes) des feuilles cette plante “ *Rubus ulmifolius* ” (mûre sauvage).

Ce travail est scindé en quatre parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres qui contiennent des généralités sur les plantes médicinales, sur la plante étudiée et sur les métabolites secondaires.

La seconde partie est expérimentale : elle regroupe les protocoles expérimentaux et la méthodologie menés pour la mise en évidence des activités biologiques (anti hémolytique et antimicrobienne) des extraits de la plante étudié.

La troisième partie présente et discute l'ensemble des résultats obtenus lors de notre travail. Enfin, une conclusion et des perspectives pour clôturer ce travail.

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : plantes médicinales et activités biologiques

1 Historique :

Depuis bien longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la préservation de la santé des hommes et la survie de l'humanité (**Adouane, 2016**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population mondiale s'appuient encore sur les médicaments à base de plantes pour leurs soins de santé primaires (**Derwich et al., 2010**).

L'utilisation des plantes médicinales est passé à travers des millénaires et des civilisations. Les égyptiens, il y a plus de 4000 ans, utilisaient déjà de nombreuses espèces tel que le genévrier, le lin et le fenouil pour soulager et guérir certains maux. Héritiers de leurs connaissances, les grecs et les romains les améliorèrent (**Debaisieux et polese, 2009**).

En Asie, et notamment en chine, l'empereur « Chen-Noung » ; a été le premier à étudier la phytothérapie et à identifier certains effets thérapeutiques liés à l'expérimentation. OÙ, à l'inverse, les effets nocifs des plantes. Les plantes aromatiques telle que la cannelle, le poivre noir et le gingembre avaient leur place dans la médecine chinoise de 3000 ans plus tôt (**Valent et al., 1978**).

2 Définition des plantes médicinales :

On appelle plante médicinale toute plante contenant un ou plusieurs principes actifs permettant de prévenir, de soulager ou de guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 2006**).

Ce sont des plantes employées en médecine traditionnelle, et au moins une partie à des propriétés médicamenteuses. Leur action vient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre divers composés présents (**Sanago, 2006**).

3 Les plantes médicinales en Algérie :

En Algérie, Les plantes sont un élément important de la médecine traditionnelle. Elles sont largement utilisées dans nombreux domaines de la santé ; Ces dernières années, la phytothérapie a été largement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies : diabète, rhumatisme et même des maladies incurables (**Benhouhou, 2005**).

La flore Algérienne se caractérise par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo-tropicale, d'une valeur plus de 3000 espèces appartenant à différentes familles botaniques. Ces espèces sont surtout spontanées avec un nombre significatif (15%) d'espèces

endémiques. Ceci a donné aux pharmacopées traditionnelles une richesse inestimable (**Benkiki, 2006**).

Les plus originales du bassin méditerranéen dans lequel se trouvent compte 3139 espèces réparties dans près de 150 familles dont 653 espèces sont endémiques, soit un taux de 12.6 % (**Bouchenak et al., 2020**).

4 Les activités biologiques des plantes médicinales :

Les plantes médicinales ont présenté par plusieurs études des activités Biologiques très intéressantes ; antiulcéreuse (**De Bruyne et al., 1999**), anti-inflammatoire (**Elion Itou et al., 2017**), anti-cancéreuse (**Kanase et Mane, 2018**), antiparasitaire (**Olounladé et al., 2017**), antivirale (**Lopez et al., 2001**), antioxydante (**Bettaieb Rebey et al., 2017**), antifongique (**Dabé et al., 2017**) et antibactérienne (**Etobo et al., 2017**), ont cité quelques activités :

4.1 L'activité antimicrobienne :

Selon certains rapports les plantes riches en métabolites ont une activité antibactérienne et une activité antifongique (**Pebret, 2003**).

Les composés phénoliques font l'objet de nombreuses études pour leurs diverses activités biologiques (**Trabelsi et al., 2010**).

L'activité antibactérienne des composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes, dépend principalement de la longueur, la ramification et la position de la chaîne de substitution associé au noyau phénolique, mais également à la nature des substituants et au degré d'encombrement du noyau phénolique (**Basile et al., 1999 ; Alcaráz et al., 2000**).

De nombreuses études ont démontré l'effet antimicrobien d'extraits de plantes riches en tanins (**Luthar, 1992 ; Al-Momani et al., 2007 ; Cimolai et Cimolai, 2007 ; Kim et al., 2010**).

Les plantes riches en tanins, de nature astringente, sont utilisées dans le traitement des troubles intestinaux tels que les diarrhées et les dysenteries, ce qui leur donne de l'activité antimicrobienne (**Sharma et al., 2009**).

4.2 L'activité antioxydante :

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est aujourd'hui remise en cause des naturels sont recherchés (**Suhaj., 2006, Tadhani et al., 2007**). En effet, le polyphénol est un composé naturel très répandus dans le règne végétal qui a une importance croissante particulièrement en raison à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Koechlin-Ramonatxo., 2006**). Risques toxicologiques potentiels. Désormais, des nouvelles sources végétales d'antioxydants

Les polyphénols sont des métabolites secondaires possédant des propriétés antioxydantes, notamment les flavonoïdes (**Li et al., 2014**).

Les flavonoïdes ont de nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie à des propriétés antioxydantes de ces composés naturels (**Fuhrman et al., 1995**).

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite en raison de leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxy lipidiques (**Ghedira.,2005**).

4.3 L'activité anti inflammatoire :

L'inflammation est un mécanisme de défense de l'organisme face aux les agressions d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse, essentiels à son intégrité (**Cheriti et al., 2016**).

Plusieurs études ont indiqué que les polyphénols en particulier les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire en inhibant l'activité des enzymes qui peut causer des inflammations. Ils peuvent également moduler l'adhésion des monocytes lors d'une inflammation athérosclérotique inhibiteur de l'expression des médiateurs inflammatoires (**Liu et al., 2020**).

Les coumarines sont considérées comme anti-inflammatoires (**Liang et al., 2020**).

4.4 L'activité anti-hémolytique :

L'hémolyse est un phénomène irréversible au cours de laquelle les hématies sont détruits et libération de leur contenu cellulaire, dont l'hémoglobine (Hb) (**Aberrane et Mehalla, 2019**).

Ces dernières années, le domaine de la recherche scientifique étudie de nouvelles substances anti hémolytiques d'origine végétale, pour remplacer les anti-hémolytiques de synthèse. De nombreuses études (**Devjani et Barkha, 2011 ; Tay-Yaba, 2016 et Belkhir, 2017**) sur diverses plantes montrent l'effet anti-hémolytique des extraits végétaux (**Aberrane et Mehalla, 2019**).

Les polyphénols, antioxydants naturels, ont un effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse osmotique (**Chaudhuri et al., 2007**).

Les saponines ont la capacité de rompre la membrane érythrocytaire (membrane solide ainsi souple a un rôle important dans la déformation des globules rouge, et alors retient l'hémoglobine). La propriété hémolytique est en général s'explique par l'interaction entre les saponines et les stérols de la membrane érythrocytaire. Cette réaction entraîne l'éclatement de la membrane, causant ainsi une augmentation de la perméabilité suivie par la perte

d'hémoglobine, tels que aristatoside C, cephoside A et davisianoside B (Sarikahya et al., 2018).

5 Présentation de la plante étudiée : *Rubus ulmifolius*

Rubus ulmifolius Schott. Est une espèce végétale appartenant à la famille des Rosacées qui est la 19ème plus importante famille de plantes, et qui comprend entre 90 à 125 genres et 3370 à 3500 espèces d'arbres, d'arbustes et d'herbes. Celle-ci est souvent employée dans la médecine traditionnelle en raison de ses différents propriétés biologiques (Patel, 2004 ; Guarrera, 2005 ; Sumaira et Rahman, 2013 ; Akkari et al., 2016 ; Reidel et al., 2016 ; Kant, 2018).

Rubus ulmifolius fournit des composants fonctionnels comme les fibres alimentaires, les minéraux, les vitamines, les polyphénols et d'autres éléments nutritifs essentiels (Schulz et al., 2019).

5.1 Description botanique de *Rubus ulmifolius* :

Rubus ulmifolius est un arbuste formant de fourrés épineux impénétrables, Les tiges développées bisannuels et les tiges de la deuxième année donnent durant l'été les inflorescences, puis, la fabrication du fruit (figure1) (Masson et al., 2014).



Figure 1 : L'aspect général de *Rubus ulmifolius* Schott (Ben rouissi et Kechida, 2016).

5.1.1 Les feuilles

De la ronce à feuilles (figure2) d'orme comprend généralement cinq folioles ovales, dentées vert foncé sur la partie supérieure et blanchâtre sur la partie inférieure, dont les pétioles armés d'aiguillons, elles tombent en automne (Boukef., 1986, Cecchini et Tichi., 2003).



Figure 2 : Feuilles de *Rubus ulmifolius* (Ferrez et al., 2016).

5.1.2 La tige :

sarmenteuses, longues, rougeâtres, anguleuses, émettant des pousses (turions) armées d'aiguillons robustes avec une base dilatée ; tous pareils, épineux, sensiblement égaux. (Figure3) (Cecchini et Tichi., 2003).

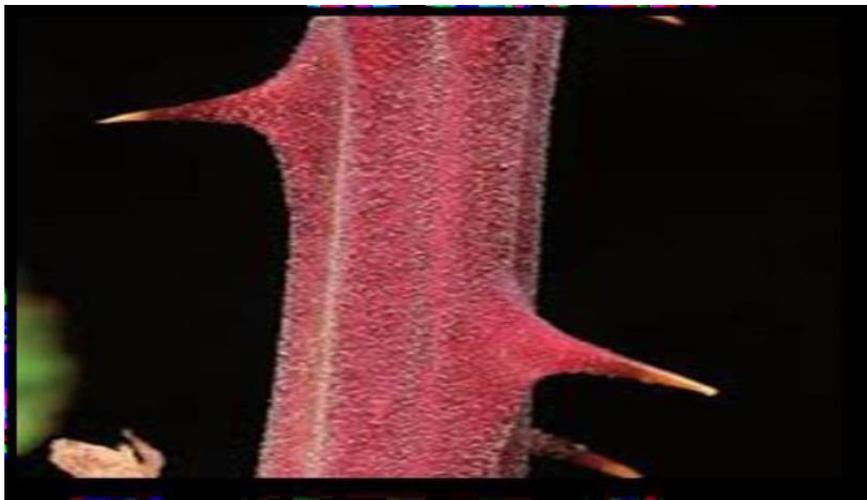


Figure 3 : Le Turion de *Rubus ulmifolius* (Ferrez et al., 2016).

5.1.3 Les fleurs

il s'agit de 05 pétales blanches ou roses et formant des inflorescences pyramidales à pédoncules très étalés, garnis d'aiguillons falciformes, et s'épanouissent en Avril et Mai (Figure4) (Boukef, 1986, Cecchini et Tichi, 2003).

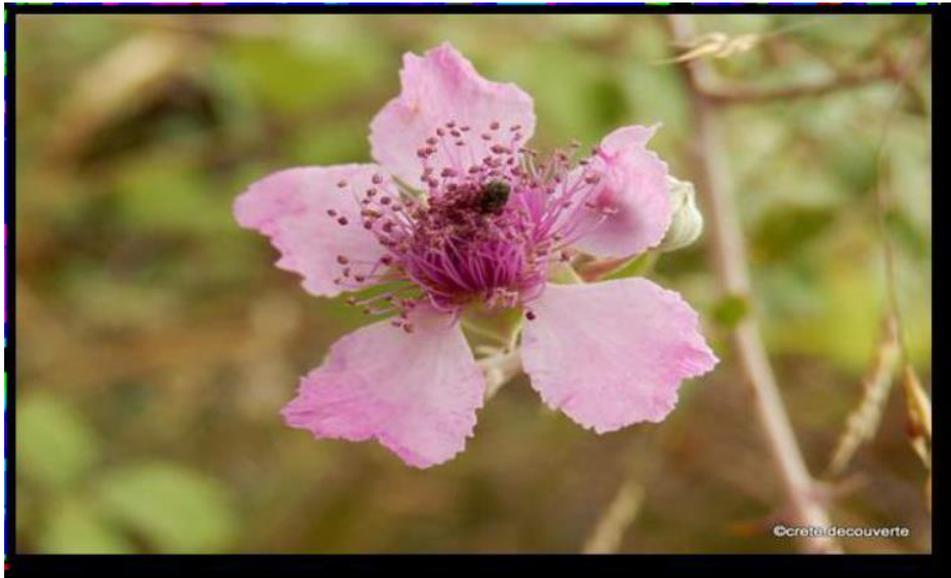


Figure 4 : Fleur de *Rubus ulmifolius* (Aliouat et al., 2014).

5.1.4 Les fruits

Ont le nom de mures, ils sont charnus, succulents, bacciformes, composent l'agglomération de petites drupes ou drupéoles coalescents par leur base rouges ou noires à endocarpe osseux et mûrissent en Août (Figure5) (Boukef., 1986, Cecchini et Tichi., 2003, Boullard., 1997).



Figure 5 : Fruit de *Rubus ulmifolius* (Ruiz- Rodríguez et al., 2014).

5.2 Utilisation thérapeutique des feuilles de *R. ulmifolus* :

Les feuilles de *Rubus ulmifolius* sont très astringentes et peuvent être utilisées pour traiter les aphtes et fortifier les gencives. Lors de la décoction, elles font cesser la diarrhée et calment les hémorroïdes, comme tisane ou en gargarisme, Ils luttent efficacement contre la toux, les maux de gorge et les affections buccales. Également en infusion elles sont préconisées pour les

leucorrhées, le diabète, les hémorragies et la lithiase. En application extérieure les feuilles peuvent traiter les aphtes gingivites, pharyngites et plaies (**Souilah, 2018**).

Rubus ulmifolius S., aujourd'hui appelé (super fruits) en raison de ses effets thérapeutiques, notamment par ce qu'il est une source potentielle de composés bioactifs tels que les composés phénoliques, tanins, et flavonoïdes, anthocyanes et ellagitanins, En la médecine populaire chilienne, *Rubus Ulmifolius* est utilisé pour ces nombreuses propriétés : Activité hypoglycémique (**Ali et al., 2017**) ; Activité antioxydante (**Schulz et al., 2019**) ; Activité antimicrobienne (**Ibba et al., 2021**) ; Activité antipyrétique (**Ali et al., 2017**) ; Activité antifongique (**Couso et al., 2021**) et son activité anti inflammatoire (**pandey et al., 2013**).

5.3 Travaux antérieurs :

Un certain nombre d'études décrivent de nombreuses activités pharmacologiques associées au *Rubus ulmifolius* ; comme l'activité antioxydante, anthelminthique, antiproliférative, antibactérienne antifongique, anti-hyperglycémique et anti-hyperlipidémique (**Sisti et al., 2008 ; Bouzid et al., 2011 ; Aliouat et al., 2014 ; Akkari et al., 2016 ; Akhtar et al., 2017 ; Schulz et al., 2019**).

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

1 Définition et fonction des métabolites secondaires :

Les métabolites font partie des produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est en général, par définition, limité aux petites molécules, ayant des fonctions variées, dont l'énergie, la structure, la signalisation, la stimulation ou l'inhibition des enzymes (**Hartmann, 2007**).

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à travers des métabolites primaires et jouent un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant à la survie de l'organisme dans son écosystème. Leur rôle est principalement d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise en donnant un avantage aux autres organismes (**Coffi et al., 2012**). Ce sont des molécules qui ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont indispensables à sa défense contre les agressions extérieures (**Toumi et miloudi, 2020**).

Ce sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par des plantes autotrophes, ils se répartissent essentiellement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007**).

2 Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacun renferme une très grande diversité biologique (**Bruneton, 2009**) :

- Les composés phénoliques.
- Les composés azotés (les alcaloïdes).
- Les terpènes.

On peut classer quelques métabolites secondaires (**figure 6**) :

2.1 Les composés phénoliques :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, sur environ 8000 composés, les plus célèbres sont : les flavonoïdes, acides phénoliques et les tanins (**Edeas, 2007**).

On les trouve, généralement, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans nombreux organes. In vitro, les composés phénoliques ont des activités antioxydante, antimicrobienne, antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse (**Chaouche, 2014**).

Ces composés jouant un rôle important dans la prévention des pathologies : lutte contre le cholestérol et la morbidité cardiovasculaire, le stress, la dépression et le cancer (**Hennebelle et al., 2004**).

2.1.1 Classification des composés phénoliques :

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé, largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH) (**Assas et Becha, 2019**).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Tableau 1**) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation....), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides ,lipides ,protéines ,autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (**Macheix et al,2005**).

Tableau 1 : les principales classes de composés phénoliques (**Macheix et al,2005**).

Squelette Carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simples	Catéchol	Epices, fraises
C6-C1	Acides hydroxy benzoïques	P-Hydroxybenzoïque	Pommes de terre, pommes,
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique scoplétine, esculétine	Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	
C6-C3-C6	Flavonoïdes -Flavonols -Anthocyanes -flavanols -flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatecchine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits, rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits,
(C15) _n	Tannins		Raisins rouges, kaki

2.1.2 Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont caractérisés par un groupe carboxyle associé au cycle benzénique (**Heleno et al., 2015**).

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules composées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupement hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées aux sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans des solvants polaires, leur biosynthèse est issue de l'acide benzoïque (C6-C1) : très présent dans le règne végétal ainsi que dans l'acide p-coumarique (C6-C3) : leur distribution est très large dans le règne végétal (**figure7**) (**Wichtl et Anton, 2009**).

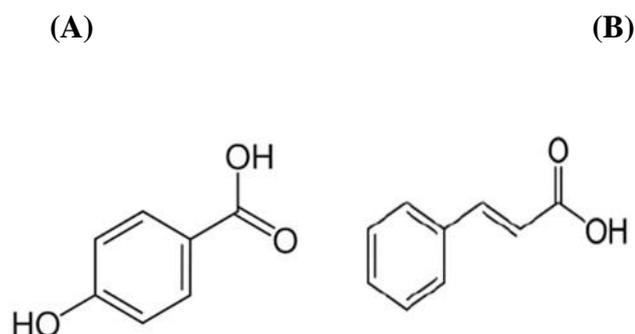


Figure 7 : Structure chimique de l'acide phénolique : l'acide de hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B) (**Călinoiu et al., 2018**).

2.1.3 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes (**figure8**) sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et quelquefois des feuilles (**Bruneton, 1999**).

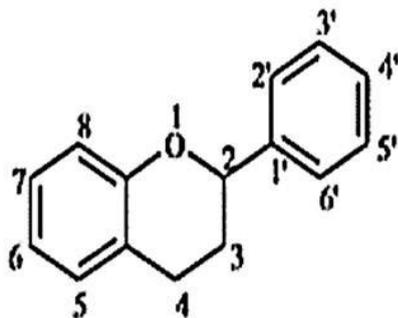


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (**Medi–Saric et al., 2004**).

Les flavonoïdes sont situés dans différentes parties de la plante : les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs (**Medi –Saric et al., 2004**).

Ils se caractérisent par le degré d'oxydation du noyau Central (qui peut s'ouvrir ou se fermer), le nombre, la position et la nature des substituants (Groupes hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques A et B et du cycle central C (**Harborne, 1988**).

2.1.4 Les tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques à structures diverses, de saveur astringente, possèdent en commun la propriété de tanner la peau, cette propriété de tannage vient de la création des liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène (Schauenberg et Paris, 2006). On distingue deux types de tanins :

A. Les tanins condensés :

Tanins condensés (figure 9), aussi connus sous le nom de proanthocyanidines, sont les polyphénols les plus abondants d'origine végétale. Ce sont des oligomères de flavan-3-ol (monomère de catéchine) et/ou de flavan-3,4-diol, le plus souvent liés par des liaisons C-C (4-8 ou 6-8) et parfois via des liaisons C-O-C avec de grandes différences structurales (Lamy et al., 2016).

B. Les Tanins hydrolysables :

Ce sont des esters de glucose. Ils sont distingués par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent donc une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être l'acide gallique (figure 9) (Macheix et al., 2005).

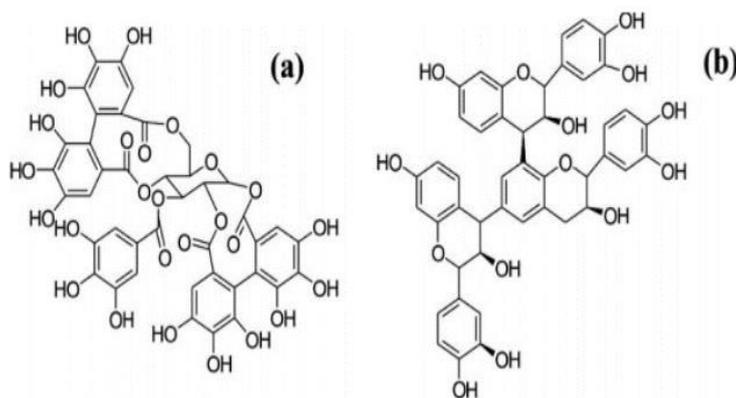


Figure 9 : Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b) (Bayart, 2019)

2.1.5 Les coumarines :

Les coumarines sont des cristaux orthorhombiques de couleur blanche ou jaunâtre. Elles sont très solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyle d'éthyle ou les solvants chlorés). Les coumarines hydroxylées (umbelliférones) possèdent une intense fluorescence

bleue en lumière Ultraviolet. Son spectre UV est également caractéristique et permet leur identification (**figure10**) (**Feryel, 2015**).

Ils sont connus avec des activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont effectivement bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez & Estevez., 1997**), ce sont des toniques veineux avec des propriétés anticoagulantes (**Lucienne, 2010**).

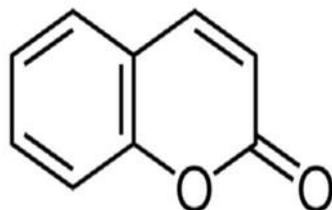


Figure 10 : Structure de base des coumarines (**Dong-chan et al., 2013**).

2.1.6 Les phénylpropanoïdes :

Le nom « phénylpropanoïde » son origine d'un groupe phénol aromatique (phényl) lié à une chaîne latérale de 3 carbones (propane) (**Figure11**) (**Duriot, 2016**). Ils dérivent de l'acide aminé phénylalanine et peuvent contenir un ou plusieurs résidus de C6-C3 (**Cseke et al., 2006 ; Bruneton, 2009**).

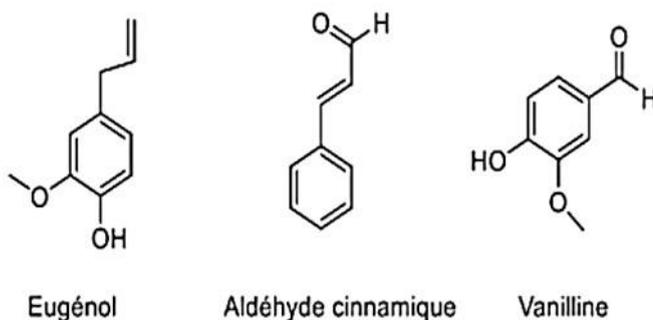


Figure 11 : Structure de quelques phénylpropanoïdes (**Fahed, 2016**).

2.1.7 Les quinones :

Les quinones sont des pigments naturels, la majorité sont jaune pâle, rouges et bruns. Ces couleurs sont masquées par d'autres pigments. On distingue quatre groupes : Benzoquinones (arthropodes), Naphtoquinones (angiospermes), Quinones isopréniques (photosynthèse et respiration) et Anthraquinones (**figure12**) (**Harborne, 1998**).

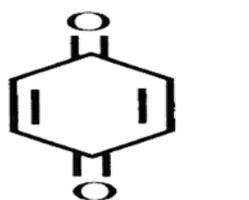
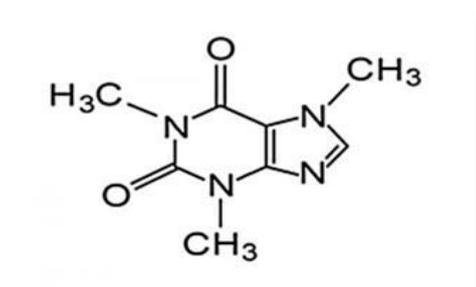


Figure 12 : Structure des quinones (**Cowan, 1999**)

2.2 Les alcaloïdes :

L'expression « alcaloïde » a été présentée par W. Meisner au début du XIX^{ème} siècle, la définition admise des alcaloïdes est celle donnée par **Winterstein et Trier en 1910**. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale ayant un caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**figure13**) (**Badiaga, 2011**).

Caféine



Théophylline

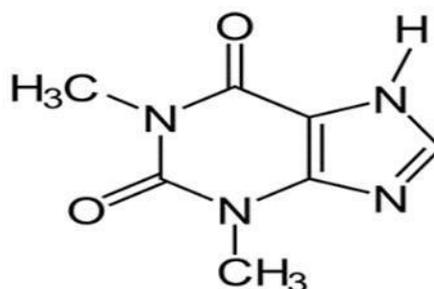


Figure 13 : Structures de quelques alcaloïdes (**Ziegler et Facchini, 2008**)

De tous les composés secondaires végétaux connus, environ 20% sont considérés comme des alcaloïdes. Près du 20% des espèces de plantes à fleurs produisent ces alcaloïdes et chacune les accumule selon un modèle unique et prédéterminé (**Verpoorte et al., 1993 ; Nugroho et al., 2002 ; Croteau et al., 2000**).

2.3 Les terpénoïdes :

Appelés également terpènes, ils contiennent un vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, caractérisés par une structure cyclique ou chaîne ouverte (**figure14**) (**Hellal, 2011**).

Le terpénoïde est attribué à tous les composés pour une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont principalement d'origine végétale (**Malecky, 2005**).

Ce sont des métabolites importants pour tous les organismes vivants. De plus, la capacité de synthétiser son précurseur, l'isopentényl-pyrophosphate (hemiterpène), est omniprésente chez les archéobactéries, les eubactéries et les eucaryotes. Celui-ci l'a acquis avec endosymbiose. Les terpénoïdes ont donné lieu à une expansion extrêmement diverse. En ce qui concerne les plantes terrestres, le groupe des terpénoïdes comprend maintenant au moins 30000 entités chimiques distinctes. Elles sont divisées en sous-classes en fonction de nombre d'atomes de carbone de son chaîne carbonée en hemi- (C5) mono- (C10), sesqui- (C15), di- (C20), tri- (C30) tetra- (C40) et poly- (C > 40) (**Bouaziz, 2022**).

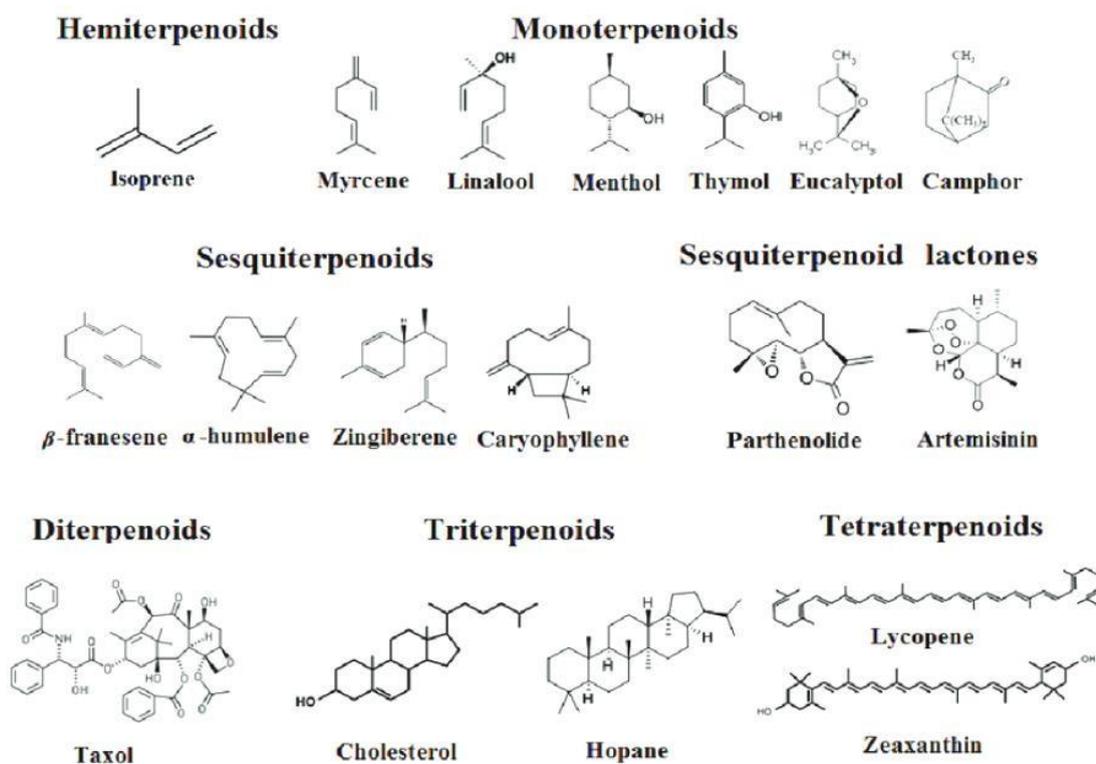


Figure 14 : Exemples de différentes classes des terpénoïdes (**Abdallah, 2017**)

Partie 2 : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Dans le cadre de la valorisation des plantes de l'Ouest Algérien, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. appartenant à la famille des rosacées. Le travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche « Produits naturels "LA PRONA" ».

1 Matériel végétal :

L'identification botanique : feuille "*Rubus ulmifolius*"

L'identification botanique de l'espèce a été effectuée par Docteur BABALI I. Maître de conférences au Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystème Naturels, Université de Tlemcen faculté SNV-STU.

2 Origine et préparation des échantillons :

2.1 Origine du matériel végétal :

Les feuilles de l'espèce étudiée a été achetée chez un herboriste, située à Tlemcen, région Ouest de l'Algérie.

2.2 Préparation des échantillons :

Les feuilles de *Rubus ulmifolius* récoltées et triées sont séchées à l'air libre, à l'ombre et à la température ambiante pendant six jours, puis broyées au mortier. La poudre est ensuite conservée dans des flacons, en verre hermétiquement fermés à basse température -18°C en vue de procéder aux différentes manipulations.

3 Extraction des composés phénoliques :

3.1 Extraction des polyphénols :

L'extraction hydro-acétonique des polyphénols consiste à macérer à température ambiante le matériel végétal dans une solution d'acétone aqueuse 70/30 (v/v) pendant 24 heures. Après filtration. La solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 45°C (Figure 15).

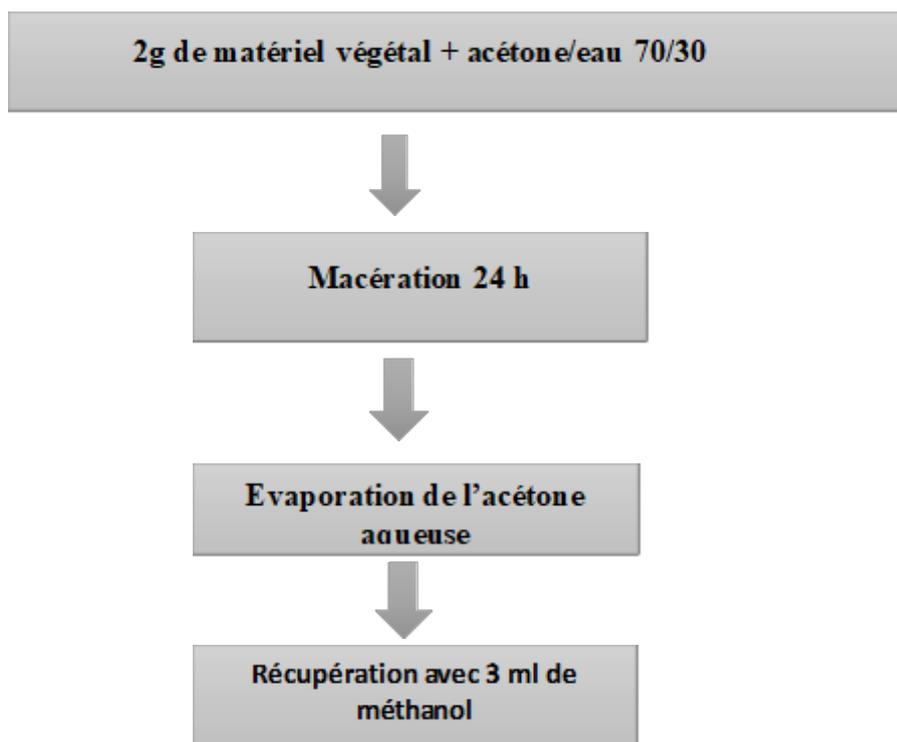


Figure 15 : Protocole d'extraction des polyphénols (Yu et Dahlgren, 2000).

3.2 Extraction des flavonoïdes :

• Extraction des fractions acétate d'éthyle et n-butanol des flavonoïdes

10 g de poudre végétale sont ajoutés à un mélange de 100 ml de méthanol bouillant avec 5g de CaCO_3 . L'ébullition du mélange est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1 heure. Après filtration (**filtrat 1**), le dépôt a été traité pendant une heure à ébullition avec les mêmes quantités de méthanol (**filtrat 2**). Les deux filtrats sont réunis, et la solution obtenue est soumise à une distillation sous pression réduite et le résidu sec est récupéré avec 50 ml d'eau distillée bouillante. Le filtrat obtenu est mis dans une ampoule à décanter avec 50 ml d'acétate d'éthyle, et après 24 heures de décantation des deux phases, la phase organique est récupérée puis séchée à l'évaporateur rotatif. L'opération est répétée avec 50 ml de n-butanol (Bu-OH) (**Dauguet et Foucher, 1982**). Cette étape est caractérisée par la spécificité et la polarité du solvant organique.

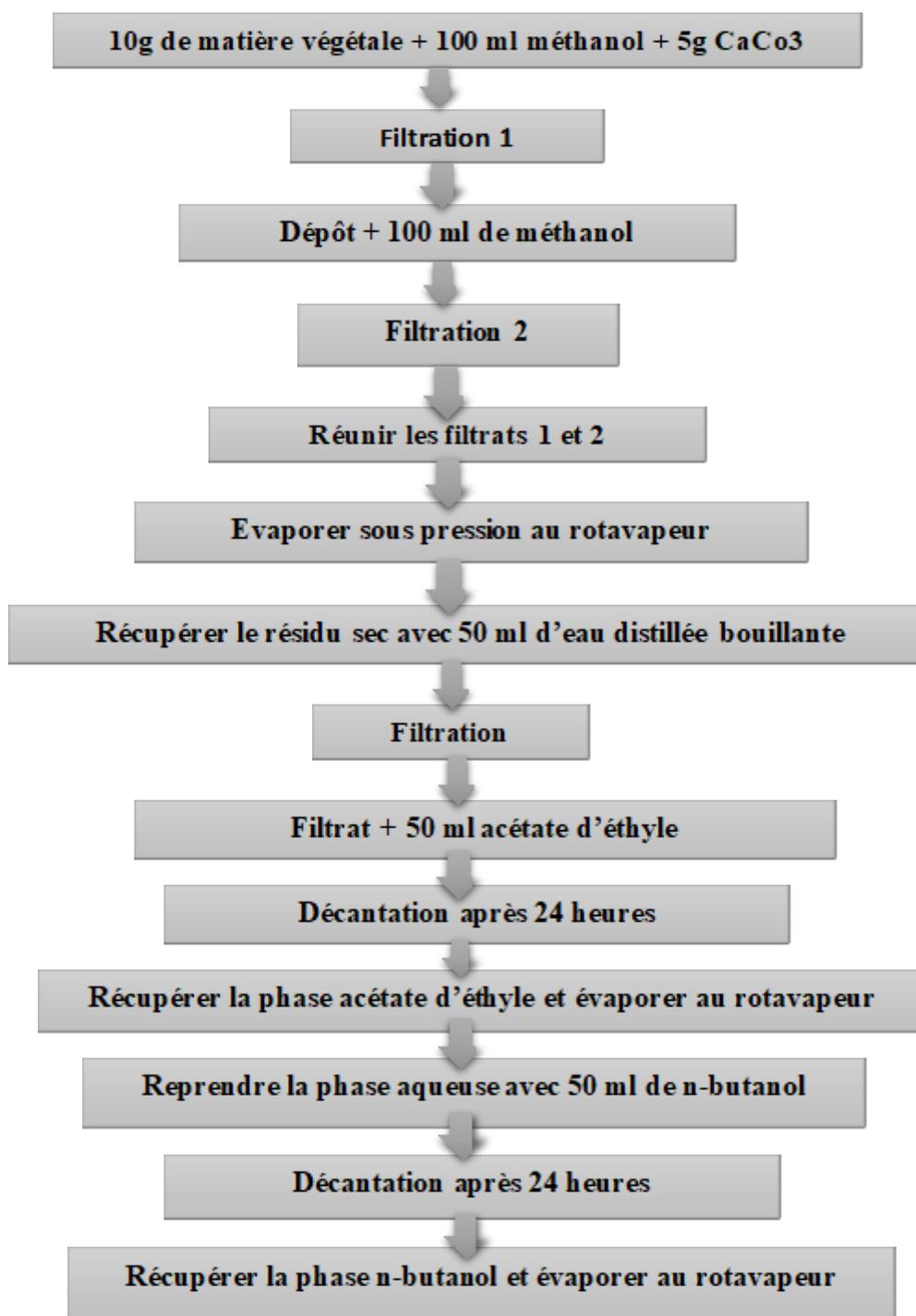


Figure 16 : Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Foucher, 1982).

4 Evaluation des activités biologiques :

4.1 Evaluation de l'activité anti-hémolytique :

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (sadique et al., 1989 ; Oyedapo et al., 2010).

Echantillons de sang humain :

Des échantillons de sang frais (environ 8 ml) ont été récupérés dans des tubes héparinés, au niveau du laboratoire, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires sains (20-40 ans).

Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh)

Les différents échantillons de sang humain récupérés sont centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min, afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires (**Figure 18**). Ensuite, le culot de globules rouges est lavé trois fois, avec un volume équitable de solution iso-saline. Après cette étape, le surnageant est remplacé par un même volume d'une solution tampon phosphate saline (PBS à 0.9%) et utilisé immédiatement.



Figure 17 : centrifugeuse (tlemcen,2023)



Figure 18 : centrifugation de sang.(tlemcen,2023)

Mode opératoire :

L'extrait a été solubilisée dans du DMSO. 1,5 ml du tampon phosphate PBS (0,9% NaCl, pH=7,4) et 2 ml d'une solution hypo-saline (0,36% NaCl) ont été ajoutés à 0,5 ml de chaque concentration de l'extrait à tester déjà préparés dans le PBS (18,75, 37,5, 75, 150 et 300 $\mu\text{g/ml}$), et incubé à 37°C pendant 20 min.

Après l'incubation, ajouté 0.5 ml de suspension érythrocytaire à 10 % préparée dans du PBS (pH de 7,4), puis une deuxième incubation à 56°C pendant 60 min. Après l'incubation, refroidissement des tubes dans de l'eau courante (**Figure 19**).

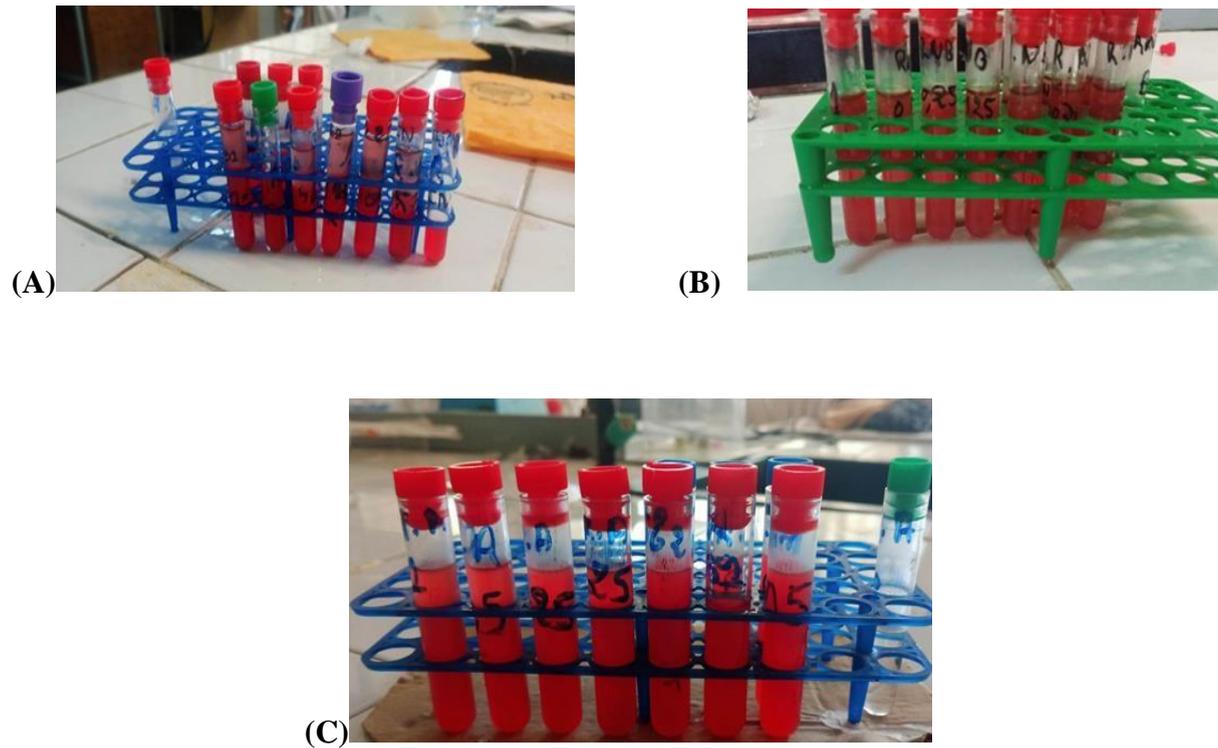


Figure 19 : Différents extraits testés (tlemcen,2023)

Ensuite, les échantillons ont subi une centrifugation à 2500 tours pendant 10 min (**Figure 20**).

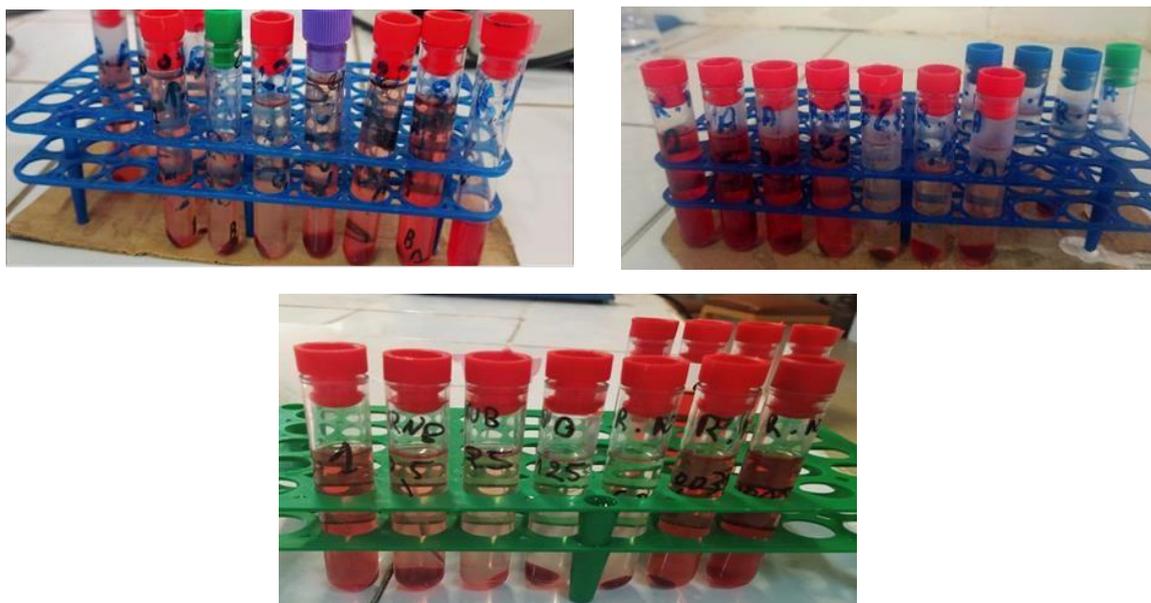


Figure 20 : Différents extraits après centrifugation (tlemcen,2023)

Enfin, la lectures des DO pour chaque tube a été réalisé à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Figure 21**). Afin d'avoir une hémolyse totale (100 %) un contrôle contenant 2 ml de suspension érythrocytaire a été incubés avec 2 ml de PBS et 2 ml de NaCl. L'acide ascorbique (18,75-300 µl/ml) a été utilisé comme un standard dans les mêmes conditions. Trois essais pour chaque concentration ont été réalisés dans le but de la confirmation des résultats.



Figure 21 : Spectrophotomètre ((tlemcen,2023)

Expression des résultats : Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de la Formule suivante :

$$\% I = (AC - At / AC) \times 100.$$

Où :

%I : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse

AC : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

4.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Dans un premier temps, nous avons testé les différents extraits vis-à-vis des souches microbiennes par une méthode rapide (la méthode de diffusion sur disque) et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de micro-dilution en milieu liquide.

A. Les Souches bactériennes et fongiques testées :

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée sur six souches pathogènes (**Tableau 2**). Les souches bactériennes et fongiques proviennent du Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et Activité Biologique, Université de Tlemcen.

Tableau 2. Les différentes souches microbiennes testées

Bactéries à Gram positif	<i>Bacillus subtilis ATCC 6633</i> <i>Listeria monocytogenes ATCC 15313</i> <i>Enterococcus faecalis ATCC 49452</i>
Bactéries à Gram négatif	<i>Citrobacter freundii ATCC 8090</i> <i>Proteus mirabilis ATCC 35659</i>
Levure	<i>Candida albicans ATCC 10231</i>

Mise en culture des souches :

Les souches, conservées sur gélose nutritive inclinée à 4 °C, sont revivifiées dans du bouillon nutritif à 37±1 °C pour les bactéries et 30±1°C pour la levure pendant 24 h à 48 h, puisensemencées sur boîtes contenant des milieux sélectifs (**Figure 23**), pour vérifier leur pureté. Après 24 h d'incubation à 37±1 °C pour les bactéries et 30±1 °C pour la levure, les souches sontensemencées sur bouillon nutritif puis incubées à 37±1 °C pour les bactéries et 30±1 °C pour les levures pendant 18 h. De cette dernière culture, on prélève quelques gouttes et on les met dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension microbienne est bien homogénéisée. La turbidité est ensuite ajustée au standard McFarland 0,5 avec un spectrophotomètre, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries (DO = 0,08 à 0,1/ $\lambda = 625$ nm) et $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures (DO = 0,12 à 0,15 / $\lambda = 530$ nm) (**Pessini et al., 2003 ; Pfaller et al., 1998**).



Figure 22 : préparation des milieux (tlemcen,2023)

B. Méthode de diffusion sur disque :

Afin de tester l'activité antimicrobienne des extraits, nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme (diffusion à partir de disques imprégnés). Pour effectuer le test, des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés de 10 μ l d'extraits solubilisés dans le DMSO sont déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (3 disques par boîte) (**Joffin et Leyral, 2001**). Les milieux de culture utilisés, sont la gélose Mueller-Hinton pour les bactéries, le milieu Sabouraud pour la levure (**Figure 24**).

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 37 ± 1 °C pendant 18-24 h pour les bactéries, à 30 ± 1 °C pendant 24-48 h pour les levures.



Figure 23 : l'activité antimicrobienne.(tlemcen,2023)

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Ponce et al., 2003**).

C. Méthode de micro-dilution en milieu liquide :

Ce test en milieu liquide a pour objectif de déterminer les valeurs des paramètres antimicrobiens dont la concentration minimale inhibitrice (CMI). La méthode décrite par **Okusa et al. (2007)**, avec une légère modification a été employée.

Préparation des dilutions :

100 μ l de bouillon Mueller Hinton sont déposées dans les 96 puits d'une microplaque stérile, 100 μ l d'extrait sont déposées dans le deuxième puits de chaque colonne, des dilutions au 1/2 sont réalisées par le transfert de 100 μ l d'un puits à l'autre à partir du deuxième. Puis 100 μ l de l'inoculum sont ajoutées dans chaque puits. Puis Incubation à $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h (**Figure 25**).

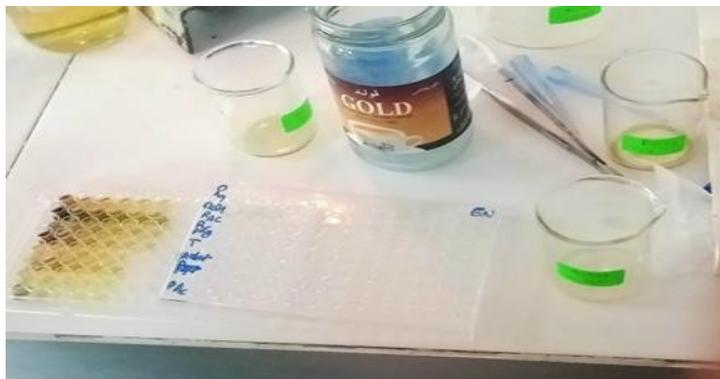


Figure 24 : Méthode de micro-dilution (CMI)(tlemcen,2023)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du germe. Elle mesure donc, un effet bactériostatique et ne renseigne pas sur l'état de la population bactérienne, ne permettant notamment pas de préciser si elle a été tuée en partie ou totalement ou si elle a seulement cessé de se multiplier (**Bergogne-Bérézin et Brogard, 1999**). La turbidité de chaque puits est appréciée à l'œil nu à la lumière du jour.

Partie 3 : Résultats et discussion

1 Evaluation de l'activité anti-hémolytique *in vitro* par la méthode de stabilité membranaire des globules rouge :

L'étude de l'activité anti-hémolytique *in vitro* a été réalisée selon la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges humains (GRh). L'évaluation de la stabilité membranaire a été déterminée par la mesure de la libération d'hémoglobine à 560 nm pour chaque concentration d'extraits. Les résultats obtenus sont présentés selon les graphes suivant :

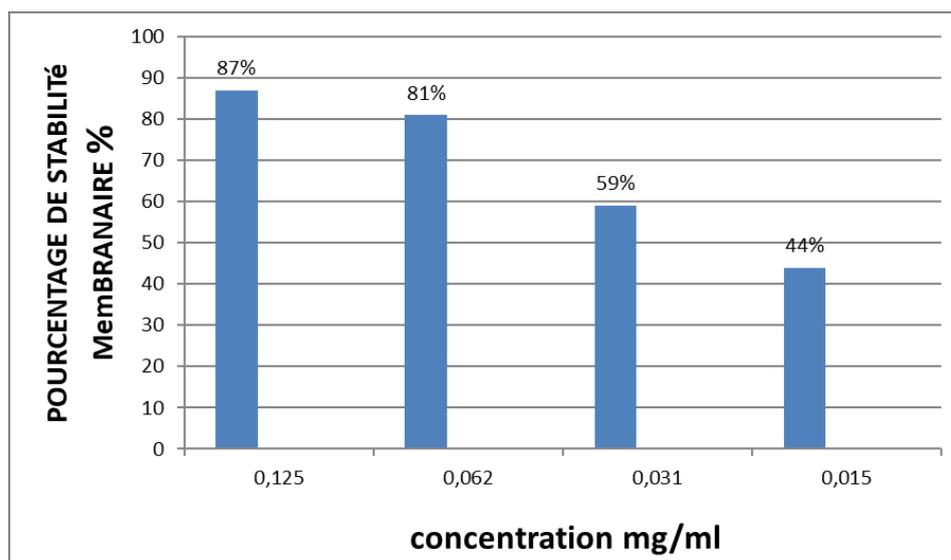


Figure25 : pourcentage de la stabilité membranaire de polyphénol.

La **figure 25** montre le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse par rapport à différentes concentrations de polyphénols. On remarque qu'à la concentration de 0,125 mg/ml, le pourcentage d'inhibition augmente à 87%, Ainsi pour une concentration de 0,015 mg/ml et 0,031 mg/ml un pourcentage d'inhibition de 44% et 58% respectivement, au final pour la concentration de 0,062 mg/ml, le pourcentage est de 81%.

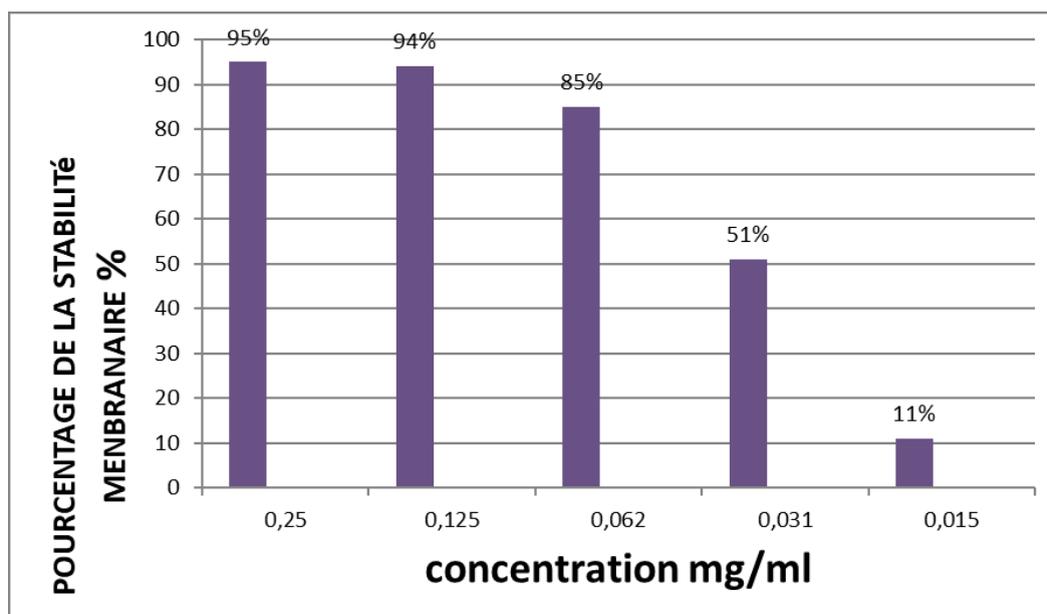


Figure 26 : pourcentage de la stabilité membranaire des flavonoïdes (phase n-butanol).

D'après la **figure 26** le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de la fraction n-butanol des flavonoïdes varie avec la concentration dans une gamme de 11% à 95%.

On remarque que pour les concentrations de 0,25 mg/ml et 0,125 mg/ml le pourcentage d'inhibition augmente à 95% et 94% respectivement, ces deux valeurs sont proches, aussi pour une concentration de 0,062 mg/ml le pourcentage d'inhibition est de 85%, ensuite pour un pourcentage de 51% le concentration égale à 0,031 mg/ml, enfin pour une concentration de 0,015 mg/ml le pourcentage diminue jusqu'à une valeur égale à 11%.

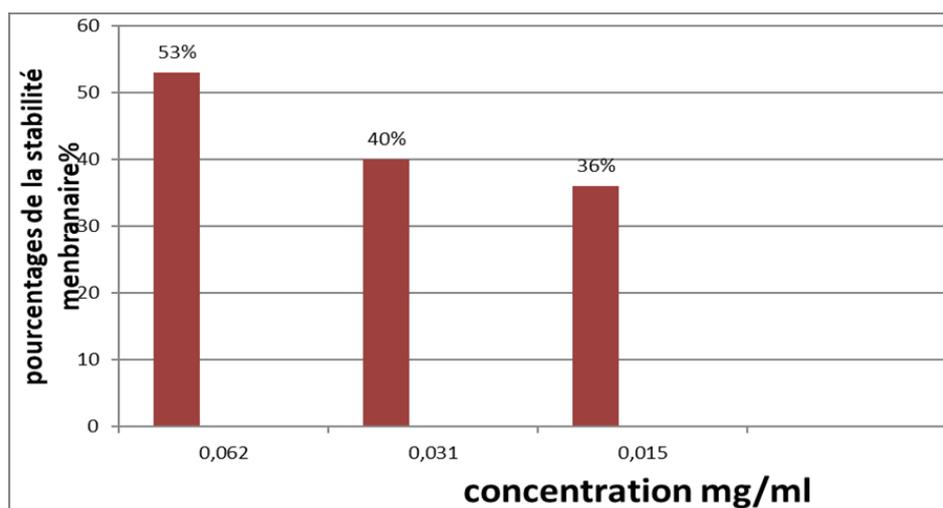


Figure 27 : pourcentage de stabilité membranaire des flavonoïdes (phase acétate d'éthyle).

La **figure 27** comprend le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de la phase acétate d'éthyle des flavonoïdes, il varie avec la concentration dans une gamme de 36% à 53%.

On remarque qu'à une concentration de 0,062 mg/ml le pourcentage d'inhibition augmenté à 53%, ensuite pour une concentration de 0,031 mg/ml le pourcentage a diminué à 40%, enfin une valeur de 36% pour une concentration de 0,015 mg/ml.

D'après les résultats obtenus, en ce qui concerne l'inhibition de l'hémolyse, il s'est avéré qu'elle augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait soit : polyphénolique, ou flavonoïdes (phase n-butanol, phase acétate d'éthyle).

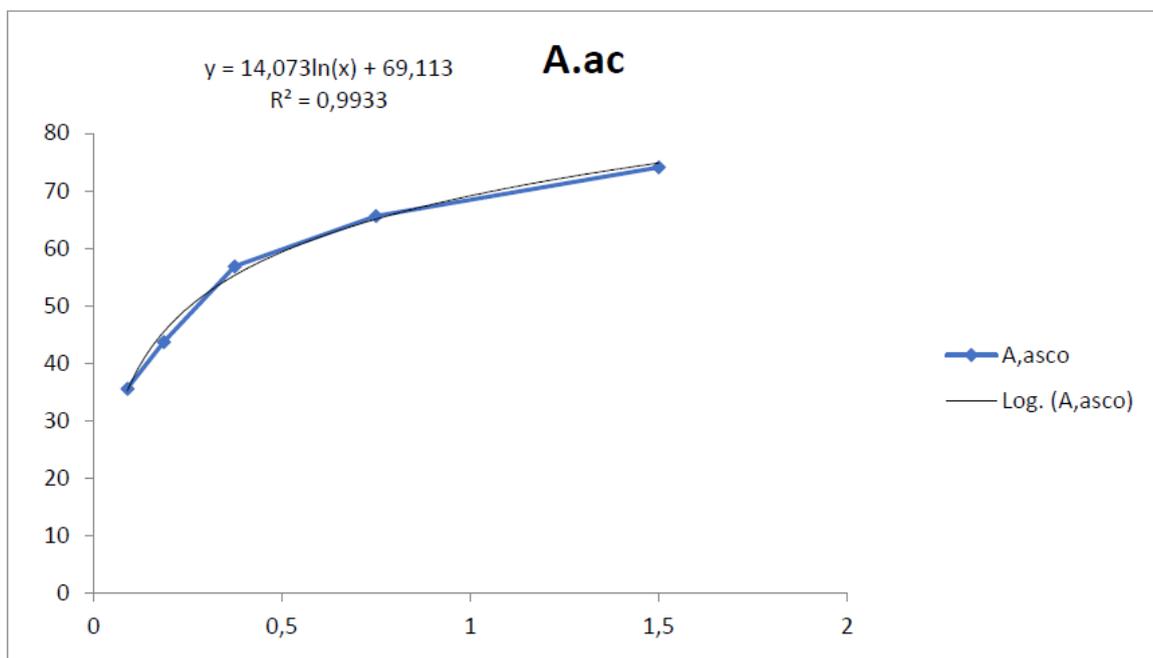


Figure 28 : : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Nos résultats indiquent que les extraits des feuilles de *R. ulmifolius* présentent une activité anti-hémolytique intéressante en comparaison avec l'acide ascorbique à différentes concentrations. D'après (Figure 28), le pouvoir anti-hémolytique de l'acide ascorbique à un pourcentage de

stabilité égale à 74,06 % Pour une concentration de 1,5 mg/ml et 65,63 % pour une concentration de 0,75 mg/ml, et cela démontre que l'extrait flavonoïdique (n-butanol) des feuilles *R. ulmifolius* a une meilleure activité anti-hémolytique avec un pourcentage égal à 95% pour concentration de 0,25 mg/ml seulement.

Ces dernières années, le domaine de la recherche scientifique investit de nouvelles substances antihémolytiques d'origine végétale, pour remplacer les anti-hémolytiques synthétiques. De nombreuses études sur différentes plantes démontrent l'effet anti hémolytique des extraits végétaux. Néanmoins, le mécanisme d'action des biomolécules composant ces extraits sont méconnues (**Devjani et Barkha, 2011 ; Tay-yaba, 2016 et Belkhir, 2017**) En effet les études montrent que certains métabolites secondaires possèdent des propriétés anti- hémolytiques (**Fiot et al., 2006**).

2 Evaluation de l'activité antimicrobienne :

A. Méthode de diffusion sur disque :

Dans cette étude, l'activité antimicrobienne des différents extraits des feuilles de *R. ulmifolius* a été évaluée sur cinq souches bactériennes à savoir ; *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, et une levure (*Candida albicans*). Les résultats des tests sont regroupés dans le **tableau (3)**.

Tableau 3. Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits étudiés relatives aux souches testées selon la méthode des disques.

Plante étudiée	Les extraits	Diamètre des zones d'inhibitions (mm) :					
		Bactérie a gram (+)			Bactérie a gram (-)		Levure
		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Rubus ulmifolius</i>	Polyphénols	9.75	10	12.5	15.25	9.5	9.5
	Polyphénols/ eau	9.75	8	10	9.5	6.5	8
	Flavonoïdes n-butanol	10.75	12.5	13.5	13.25	13	10
	Flavonoïdes Acétate d'éthyle	11.25	13.75	17.25	13.25	16.5	6
Antibiotique	Gentamicine	14	11	16	24	29	nt
Antifongique	Nystatine	nt	nt	nt	nt	nt	15
Témoin -	DMSO	6	6	6	6	6	6

Nt : non testé

Il a été rapporté, qu'un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure à 10 mm (**Tekwu et al., 2012**).

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition des extraits ont été mesurées (**figure 28**).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits contre les 5 souches, a confirmé un fort pouvoir antibactérien de l'extrait flavonoïdes (phase acétate) par rapport contre toutes les souches testées en comparant avec le reste des extraits, avec des zones d'inhibition de l'ordre de 10.75 mm (*Bassilus subtilis*) 12.5mm (*Listeria monocytogenes*), 13.5mm (*Enterococcus faecalis*), 13.25mm (*Proteus mirabilis*PMI) et 13mm (*Cytrobacter freundii*).

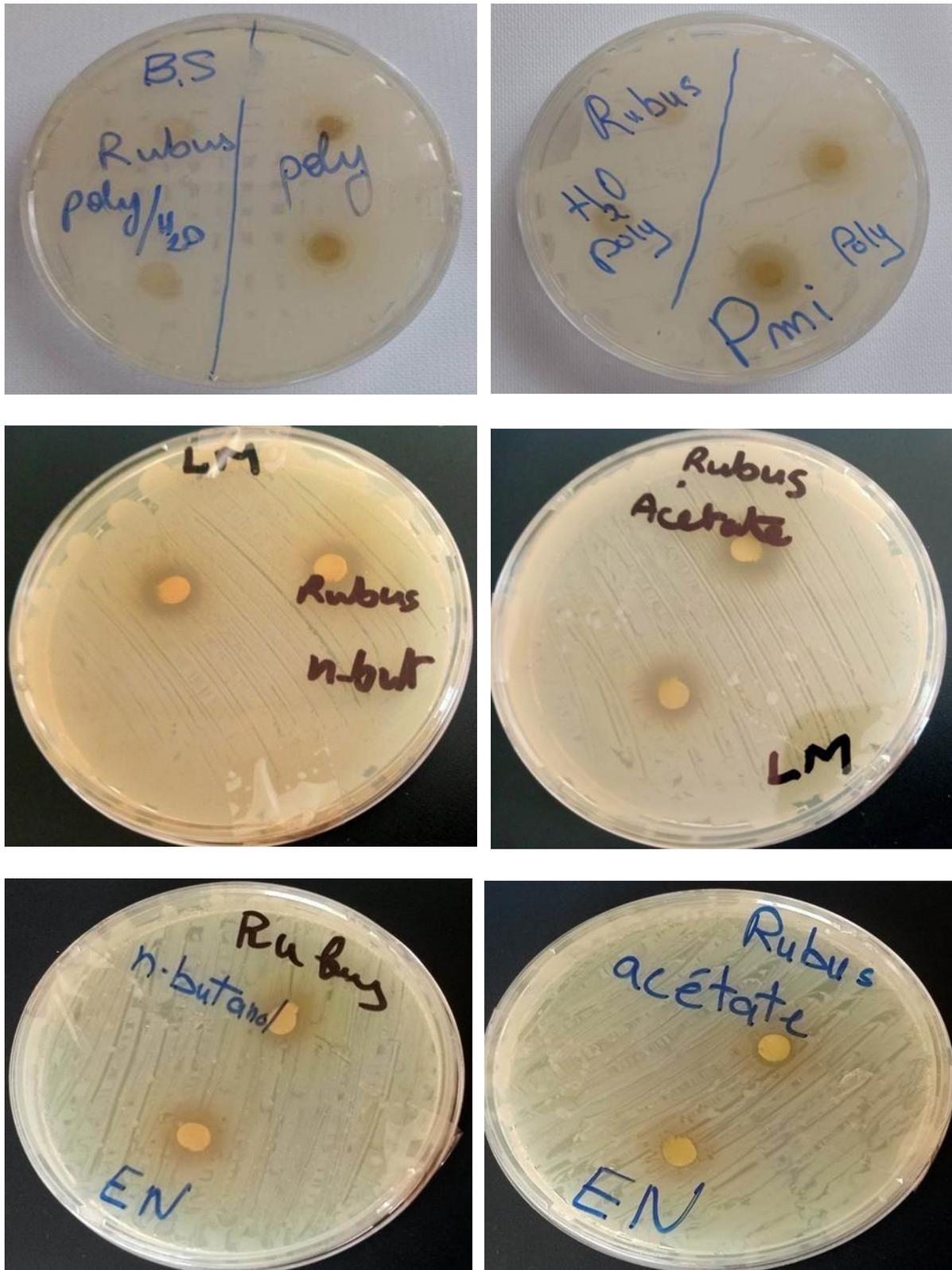


Figure 28 : effet des extraits sur la croissance des différentes souches testées (tlemcen,2023)

Concernant l'activité de l'extrait des polyphénols contre la souche *Proteus mirabilis*, il présente un effet sur la souche avec une zone d'inhibitions égale à 15,25 mm.

Ainsi on remarque que, l'activité des extraits polyphénols et polyphénols/H₂O contre la souche *Citrobacter freundii* est relativement faible avec des zones d'inhibitions de 9,5 mm et 6,5 mm respectivement.

En ce qui concerne les extraits des flavonoïde (n-butanol et acétate d'éthyle), ils ont une activité élevée sur la souche *Bacillus Subtilis* avec des zones d'inhibitions 10,75 mm et 11,25 mm de diamètres respectifs. Tandis que les extraits polyphénols et polyphénol/H₂O ont un effet plus faible sur la souche la même souche avec des zones d'inhibition 9.75 mm 9.75mm respectivement.

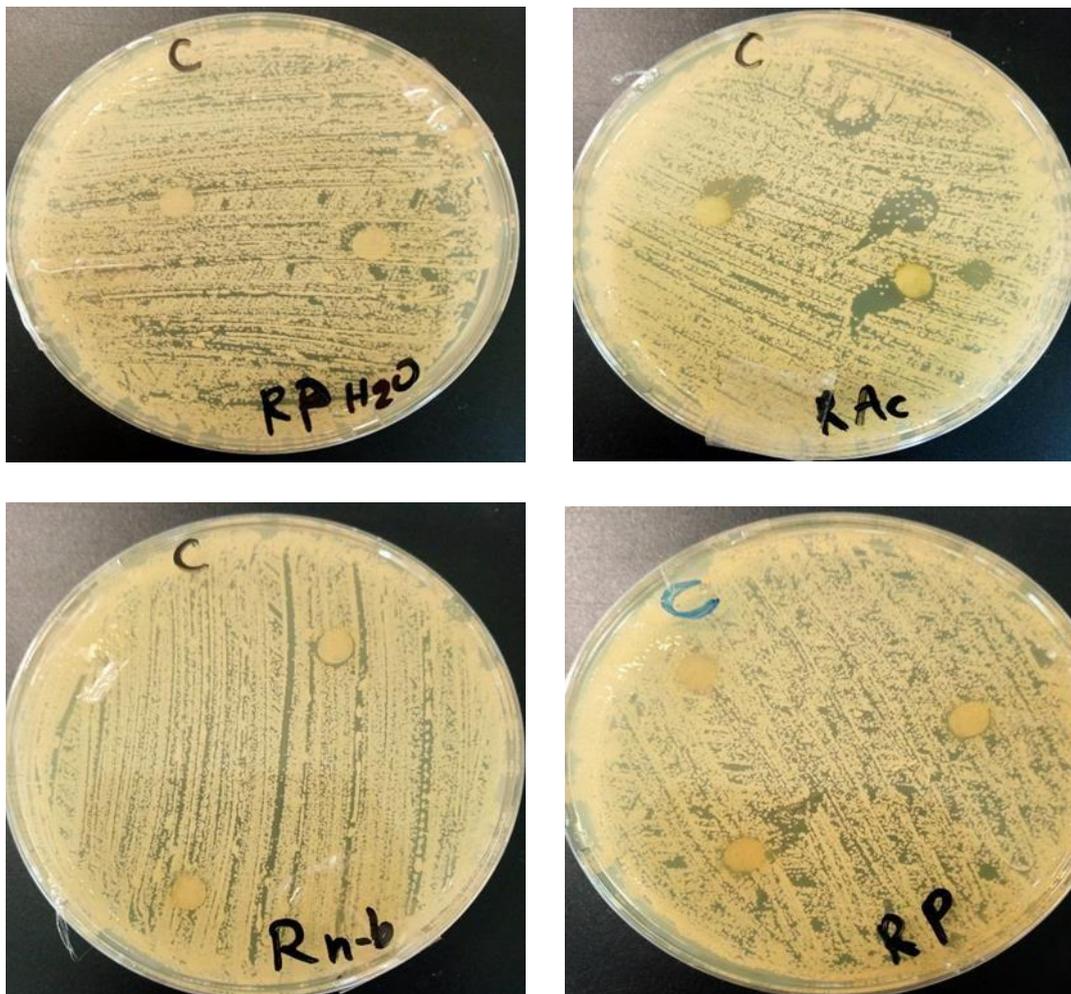


Figure 29 : Effet des extraits sur la levure.(tlemcen,2023)

Au vu des résultats obtenus (**Tableau 3, figure 29**), nous remarquons que la levure n'est pas sensible aux extraits (polyphénol-eau, flavonoïdes acétate d'éthyle et flavonoïdes n-butanol) avec des zones d'inhibition variant entre 6 mm et 8 mm et 9.5 ; à l'exception des polyphénols qui se sont montrés moyennement sensibles avec un diamètre de 10 mm.

B. Méthode de micro-dilution en milieu liquide : (CMI)

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'un produit en milieu liquide est une méthode incontournable, si on veut déterminer secondairement la concentration minimale bactéricide (CMB) (**Chevalier, 2003**). Pour cela, nous avons déterminé le pouvoir antibactérien de ces quatre extraits par la méthode de contact direct en milieu liquide contre les souches bactériennes les plus sensibles. Les résultats obtenus sont reportés dans **le tableau 4 ; (figure 30)**.

Tableau 4. Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits.

Plante étudiée	Extrait (mg/ml)	Concentration minimale inhibitrice CMI(MI/ml)				
		Gram (+)			Gram (-)	
		<i>Bassilus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Cytrobacter freundii</i>
<i>Rubus Ulmifolius</i>	Acétate d'éthyle	7,37	3,68	1,84	7,37	14,75
	n-butanol	13,82	13,81	13,82	13,82	27,62
	Polyphénols	20,68	20,68	20,68	10,34	41,375

D'après les résultats obtenus dans **le tableau 4**, nous avons remarqué que cette méthode confirme les résultats obtenus avec la méthode de diffusion sur disque. Nous avons constaté également que l'extrait des flavonoïdes (phase acétate d'éthyle) est le plus actif contre toutes les bactéries testées avec des CMI variant entre 1,84 et 41,375 µl /ml. Cependant, la souche bactérienne *Enterococcus faecalis* s'est révélée la plus sensible avec une CMI faible de l'ordre de 1,84 µl /ml.

Par ailleurs, nous avons enregistré que l'extrait des flavonoïdes (phase n-butanol) présente une activité bonne activité contre toutes les souches testées.

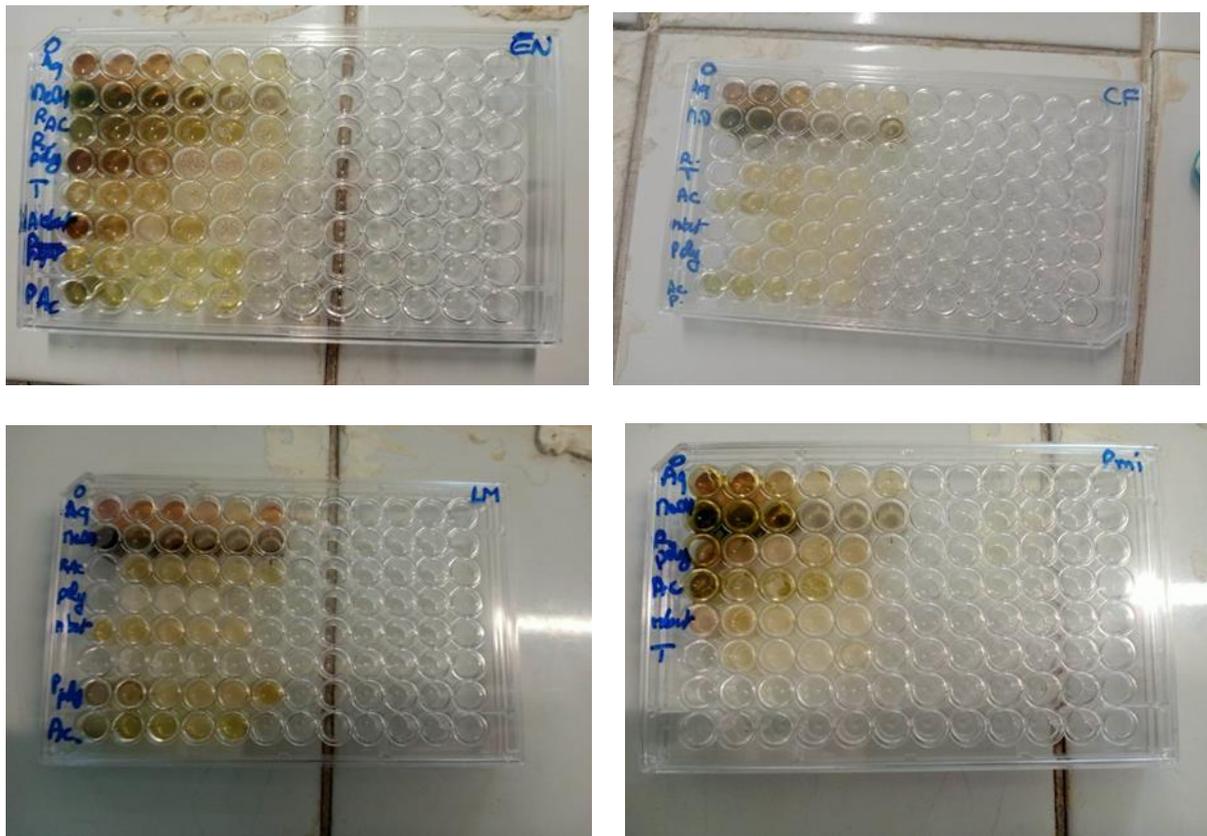


Figure 30 : L'activité antimicrobienne d'un produit en milieu liquide.(tlemcen,2023)

Les polyphénols, tels que les tanins et les flavonoïdes sont des substances antibactériennes importantes (Athamena et al., 2010).

L'aromatogramme est une méthode qualitative, simple, appliquée en routine à tout micro-organisme considéré comme pathogène. Cette méthode permet d'explorer un grand nombre d'extraits vis-à-vis de chaque souche (Cos et al., 2006).

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes (Rojas et al., 1992).

Des études menées sur la plante *Rubus ulmifolius* ont montré que l'extrait des feuilles à une activité antibactérienne contre deux souches de H-pylori G21 et 10K (Martini et al., 2009).

D'autres études réalisées sur d'autres plantes (*Rubus fruticosus*) par (Afif chaouch, 2015), montrent que les flavonoïdes sont plus actifs contre les souches microbiennes que les huiles

essentielles en présentant des zones d'inhibition largement plus importantes. D'autre part, La seule levure isolée dans ce travail (*Candida albicans*), s'est révélée largement sensible et a montré sa plus grande sensibilité face à l'extrait flavonoïdique de la Ronce avec diamètre de 22,6 mm, en effet ces résultats ne sont différents des notre où nous avons trouvé que *Candida albicans* n'est pas fortement sensible aux extrait flavonoidiques (10 mm).

D'autres auteurs (**Riaz et al, 2011**), ont analysé le ouvoire antifongique de l'extrait méthanolique contre neuf souches de champignons parmi eux : *Candida albicans*, sans enregistrer aucune activité inhibitrice, ce résultat est très proche de nos résultats, car nous avons remarqués qu'il est très peu sensibilité : 6 mm pour polyphénols/ H₂O et et 8 mm pour flavonoides (phase n-butanol) .

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 48 heures d'incubation (**Wan et al., 1998 ; Canillac et Mourey, 2001**).

(**Cavanagh et al ,2003**) ont enregistré un effet bactériostatique des métabolites secondaires de la Ronce sur la croissance des souches microbiennes.

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de diverses parties de la plante, ont noté que tous les extraits testés ont inhibé la croissance des bactéries suivantes : *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacteri sp.* Et *Pseudomonas aeruginosa*(**Riaz et al ,2011**) . Par comparaison avec nos résultats, on a constate qu'ils sont presque identiques. L'extrait des flavonoïdes (phase acétate d'éthyle) est le plus actif contre toutes les bactéries testées avec des CMI variant entre 1,84 et 14,75µl /ml. Cependant, la souche bactérienne *Enterococcus faecalis* s'est révélée la plus sensible avec une CMI faible de l'ordre de 1.84 mg /ml.

Ibba et al., (2021) montrent que l'inhibition bactérienne a été observée pour une oncentration minimal inhibitrice égale à 6,65% pour l'extrait méthanolique de *R. ulmifolius*.

Conclusion

L'étude des activités biologiques des plantes médicinales a augmenté considérablement ces dernières années et cela dans divers pays notamment en Algérie. Ce regain d'intérêt montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont prometteuses et intéressantes.

La présente étude a porté sur l'étude des feuilles de la plante *Rubus ulmifolius*, qui appartient à la famille des Rosaceae, dans le cadre de l'extraction des métabolites secondaires, ainsi que la détermination de leurs activités biologiques (anti-hémolytique et antimicrobienne).

Les résultats de l'activité antihémolytique ont montré que l'extrait flavonoïdique (phase n-butanol) a un le meilleur effet protecteur avec un pourcentage d'inhibition de l'hémolyse 95% pour une concentration de 0,25 mg/ml comparé au standard (Acide ascorbique) qui a montré le même pourcentage mais à une concentration bien plus élevée (1,5 mg/ml).

Concernant l'activité antimicrobienne, les extraits des feuilles ont été testés sur cinq souches bactériennes ainsi qu'une levure, selon la méthode de diffusion sur disque avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 17,25 mm. Puis par méthode de micro-dilution sur milieu liquide afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMs. Les résultats ont montré que la phase acétate d'éthyle s'est montrée la plus active contre toutes les bactéries testées.

En conclusion et compte tenu des résultats obtenus, il semblerait que *Rubus ulmifolius* soient riches en métabolite secondaires. Ces derniers sont responsables de l'activité anti-hémolytique et antimicrobienne.

En perspectives il serait intéressant de :

Élargir l'étude microbiologique à d'autres pathogènes essentiellement les levures.

Isoler, séparer, purifier et identifier les molécules responsables de ces activités.

Évaluer et tester les différents extraits *in vivo*.

Références Bibliographiques

A

- Abderrazak M. et Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- Aberrane S, Mehalla M. (2019).** Etude de l'activité anti-inflammatoire et anti-hémolytique d
L'extrait aqueux de feuilles de Malva Sylvestris L. Mémoire de master en biochimie appliqué :Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou , (Algérie).76P.
- Adouane S, (2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la region méridionale des aurés.Mémoire de master en agriculture et environnement :Université Mohamed khider,Biskra(Algerie).239p.
- Afif Chaouche T,(2015).**Etude ethno-pharmacologique et evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la region de Tizi-ouzou ,(Algérie).189p.
- AHMED H,(2017).** A phyto pharmacological review on a medicinal plant: Holarrhena floribunda.journal of Medicinal plants studies.5(6):26-29.
- AkhtarK., Ali Shah S.W., Shah A.A., Shoaib M., Haleem S.K., Sultana N. (2017).** Pharmacological effect of Rubus ulmifolius Schott as antihyperglycemic and antihyperlipidemic on streptozotocin (STZ)-induced albino mice. Applied Biological Chemistry. 60(4) : 411-418p.
- Akkari H., Hajaji S., B'chir F., Rekik M., Gharbi M. (2016).** Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of Rubus ulmifolius (Rosaceae) against Haemon chuscontortus. Veterinary Parasitology. 221 : 46-53.
- Alcaráz, L.E., Blanco, S.E., Puig, O.N., Tomas, F. & Ferretti, F.H. (2000).** Antibacterial activity
Of flavonoids against méthicillin-resistant Staphylococcus aureus stains. Journal of theoretical
Biology, 205 : 231-240.
- Aliouat F, (2014).** Etude des activités antioxydantes et antiproliférative réalisées in vitro des
extraits méthanoliques fruit et partie aérienne (feuilles et tige) d'une plante médicinale :
Rubus
Ulmifolius Schott (la ronce). Mémoire de master en génie biologique : Université Blida
1, Blida(Algérie).77p.
- Al-Momani, W., Abu-Basha, E., Janakat, S., Nicholas, R.A.J. & Ayling, R.D. (2007).**
In vitro

antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three Mycoplasma species. *tropical Animal Health and Production* ,39:515-519.

Assas K, Becha S, (2019). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques de la plante *Helminthotheca echioides*. Mémoire de master en microbiologie appliqué : Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, (Algérie).91p.

B

Badiaga M., 2011 : Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea*

Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10p.

Basile, A., Giordano, S., López-Sáez, J.A. & Cobianchi, R.C. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*,52 : 1479-1482.

Belloum N, Nani N, (2020). contribution à l'étude phytochimique de racine de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El-oued. mémoire de master en toxicologie ; université : Echahid

Hamma Lakhdar ,El-oued (Algérie).87p.

Belouede A, (2001). Plantes médicinales D'algérie. Edition 2.01. 4267. Ben-aknoun (Alger). 264P.

Benhouhou S., 2005. Institut agronomique national, Alger (Algérie).

Benkiki N (2006) -Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Rutamontana*, *Matricaria pubescens* et *hypericum perforatum* -Thèse de doctorat ; Université El-Hadj-Lakhdar. Batna.

Bergogne-Bérézin E., Dellamonica P. ; (1999). Antibiothérapie en pratique clinique. 2ème Ed. Masson. Paris. France.

Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M.L. & Ksouri, R. (2017). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentata* extracts. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39 (2) : 2096-2105.

Bouaziz A.L, (2022). identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire .thèse .paris.298p.

- Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., EL Haddad, D., Oussaid, S., Blizak, D. & Arab K. (2020).** Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L. *Revue Agrobiologia*, 10 (1) : 1749-1761.
- Boukef.M-K, 1986,** « Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne », Agence de coopération culturelle et technique, Paris, p.159-161.
- Boullard.B, 1997,** « Dictionnaire des plantes et champignons », ESTEM, Paris, p.875.
- Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C., Ayachi A. (2011).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*. 12(1): 59-69.
- Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie,Plante médicinales. Lavoisier Technique &Documentation, 4ème Edition. Paris.

C

- Canillac N., and Mourey A. (2001).** Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol.*18: 261–268.
- Cecchini.T, avec la collaboration de Tichi.B, 2003,** « Encyclopédie des plantes médicinales », édition de Vecchis. A, Paris, p.351.
- Chaouche T.M. (2014).** contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse : université Abou bekr Balkaid Tlemcen, (Algérie).146p.
- CHAUDHURI S., BANERJEE A., BASU K., SENGUPTA B. et SENGUPTA P.K. (2007).** Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins:antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules* ; 41(1), 42-48.

Cheriti, A., Rahmani, S. & Belboukhari, N. (2016). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (Plumbaginacea). Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 6(1), 80-86.

Cimolai, N. & Cimolai, T. (2007). The cranberry and the urinary tract. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 26 : 767-776.

Coffi R., Philippe E T., Zannou I. (2012). Efficacité des composés métabolites secondaire extrait des Foliolles du Palmier à l'Huile Contre Les larves De La Mineuse Des Feuilles, *Coelaenomenodera La eensis* (Coleoptera : Chrysomelidae) Bulletin De La Recherche Agronomique Du Bénin (BRAB) Numéro Spécial Productions Végétales et Sociologie Rurales.

Cos P, Vlietinck A.J, Berghe D.V, Maes L, (2006). Anti-infective potential of naturel products :how to develop a strangerin vitro"proof-of-concept" .Journal of ethnopharmacology .106.290-302.

Couso R. R, Félix J.D. F, Frail P. G, Gonzalez R.R, (2021). evaluation of biofungicide activity of endophytic bacteria isolated from black berry bush (*Rubus ulmifolius schott*) against two phytopathogenic fungi. campus de excelencia internacional. 1-20p.

Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G., 2000. Natural products (Secondary metabolites), in: Buchanan, B., Grissem, W. and Jones, R. (Eds), Biochemistry and molecular biology of plants. American Society of Plant Nutrition, Rockville, 1250-1318.

Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, Brielmann HL, 2006. Natural Products from Plants. 2eme Edition. Taylor & Francis Group, LLC.

D

Dabé D., Guédé Noël Z. & Adolphe Z. (2017). Propriétés Antifongiques Des Légumineuses

Médicinales De Côte d'Ivoire : Cas De *Crotalaria retusa* L. (Fabaceae) Sur La Croissance in

vitro De *Phytophthora* sp. Et *Fusarium solani*, Deux Champignons Phytopathogènes. EuropeanScientific Journal January, 13 (3) : 371-384.

De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H. & Vlietinck, A. (1999). Condensed vegetable tannins :Biodiversity in structure and biological activities. Biochemical Systematics and Ecology, 27 :445-459.

Debaisieux F, Polese J-M, (2009). plantes médicinales secrets et remèdes d'autrefois. Editions Debaisieux. (France).127P.

Derwich, E., Manar, A., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). GC/MS Analysis and In vitro

Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Leaf of Pistacialentiscus Growing in

Morocoo. World Applied Sciences Journal, 8(10), PP.1267-1276.

DURAFFOURD, C., LAPRAZ, J-C., et CHEMLI, R., (1997). La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222p.

Duriot L, (2016). Caractérisation moléculaire et enzymatique d'une HCT impliquée dans la biosynthèse de dérivés d'acide caféoyl-quinique chez Ipomoea batatas. thèse de doctorot en agronomiques : université de Lorraine .286p.

E

Edeas, M. (2007). Les polyphenols et les polyphenols de the '1. Phytotherapie, 5, PP.264-270.

Elion Itou, R.D.G., Etou Ossibi, A.W., Epa C., Nsondé Ntandou, G.F., Bokia, C.B., Ouamba, J.M. & Abena, A.A. (2017). Anti-inflammatory and analgesic effects of leaves of Chromolaena odorata L. (King and Robinson). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 11 (17): 217-223.

Etobo, K.J.P., Oleko, W.R. & Nshimba, S.M. (2017). Study of the antibacterial activity of some medicinal plants on the isolates of Staphylococcus resistant to current antibiotics at Kisangani (DR Congo). International Journal of Innovation and Scientific Research, 30 (2) : 259-268.

F

Feryel, D. (2015). Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse de Doctorat. Université M'hamed Bougara, Boumerdés, 8p.

Fuhrman, B., Lavy, A., and Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. Am. J. Clin. Nutr. 61 :549-554. (Cited in Yakhlaf G, 2009).

G

Ghdira K, (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phétothérapie. Vol : 4.162-169 P.

Gonzalez A. G., Estevez-Braun A. (1997). Coumarins, Nat. Prod. Reprod, 14 : 465-475.

Guarrera P.M. (2005). Traditional phytotherapy in central Italy (Marche, Abuzzo, and Latium). Fitoterapia 76(1), 1-25 p.

H

Hannebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, (1), PP. 3-6.

Harborne JB, 1998. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants

analysis. Third Edition.

Hartmann T. (2007). Des déchets aux produits écochimiques: cinquante années de recherche

sur le métabolisme secondaire des plantes. *Phytochimie*. P (68), 2831-2846.

HELENO SA, MARTINS A, QUEIROZ MJR, FERREIRA IC, (2015). Bioactivity of phenolic acids : Metabolites versus parent compounds : A review. *Food Chemistry* ;173 :501-513.

HELLAL Z., 2011- Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de

Certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.

Houari F. Z, (2022). mise en évidence et l'activité biologique des phytoconstituants de la plantemédicinale *Rubia tinctorum* L. thèse en valorisation des substances naturelles : université Mustapha Stambouli ,Mascara(Algérie).211p

I

Ibba A, Piras A, Rosa A, Maxia A, Fais S, Orru G, Porcedda S. (2021). Fatty acid profile and antimicrobial activity of *rubus ulmifolius* schott. extracts against cariogenic bacterium

streptococcus mutans.

J

Joffin J.N., Leyral G. ; (2001). Microbiologie technique 1 dictionnaire des techniques. 3ème

Ed. Biologie Technique. Bordeaux. France

K.

Kanase, V.D.J. Mane. (2018). A pharmacognostic and pharmacological review on *alstonia*

scholaris. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11 (12) : 22-26.

Kant R., Shukla R.K., Shukla A. (2018). A Review on Peach (*Prunus persica*) : An Asset of Medicinal Phytochemicals. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*. 6(1) : 2186-2199.

Kim, T.J., Silva, J.L., Kim, M.K. & Jung, Y.S. (2010). Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chemistry*, 118 :740-746.

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 20, 165-177.

L

Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M. and Li H.B. (2014) Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6 ; 6020-6047.

Liang, H., Shi, Y., Zeng, K., Zhao, M., Tu, P., & Jiang, Y. (2020). Coumarin derivatives from the leaves and twigs of *Murraya exotica* L. and their anti-inflammatory activities. *Phytochemistry*, 177, 112416.

Liu, Y. P., Yu, X. M., Zhang, W., Wang, T., Jiang, B., Tang, H. X., ... & Fu, Y. H. (2020).

Prenylated chromones and flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* with their potential antiproliferative and anti-inflammatory activities. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104030.

Lopez, A., Hudson, J.B. & Towers, G.H.N. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77 : 189-196.

Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 211p.

Luthar, Z. (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, 12 : 36-42.

M

Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. presses polytechniques et universitaires romandes. Italie .192p.

Malecky M., 2005 : Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.

Martini S, D'Addario C, Colacevich A, Focardi S, Borghini F, Santucci A, Figura N, Rossi C, (2009). Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of Black Berry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds—*Int J Antimicrobial agents* jul;34(1):50-9.

Masson S., Mesléard F., Dutoit T. (2014). "Impacts de différents régimes de perturbations et niveaux de ressource hydrique pour contrôler une espèce proliférante dans un écosystème pseudo-steppique : le cas de *Rubus ulmifolius* Schott. Dans la plaine de la Crau (Bouches-du-Rhône, France)." *Acta botanica gallica*. 161(3) : 261-275.

Medi –Saric, M., Jasprica, I., Smolic-Bubalo, A., Mornar, A. (2004). Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic

Acids.Original Scientific Paper, 77, (1–2), PP.361-366.

N

Nugroho, L. H., Peltenburg-Looman, A. M. G., de Vos, H., Verberne, M. C., Verpoorte, R.,

2002. "Nicotine and related alkaloids accumulation in constitutive salicylic acid producing tobacco plants". Plant Science. 162: 575-581.

O

Olounladé, A.P., Attakpa, Y.E., Azando Erick, V.B., Hounzangbé – Adoté Mawulé, S.& Hoste,H. (2017). Effet In Vivo De *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae) Sur Des Strongles Gastro-Intestinaux Des Moutons. European Scientific Journal, 13 (12) :335-351.

Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., et Sipeolu, F. O. (2010).

Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 2(4), 46-51.

P

Pandey R, Pandey Ra et Shukla S.S, (2013).Anti-inflammatory potential of ethanol extract of *Rubus ulmifolius* (schott).research journal of pharmacy and technology ,vol 6,no 3,p,300-303.

Patel A. V, Rojas-Vera J, Dacke C.G. (2004). Therapeutic constituents and actions of *rubus* species.current medicinal chemistry .11(11),1501-1512p

Pebret, F. (2003). maladie infectieuse. édition heurs de France 1ed.france.312p:58.

Pfaller M.A., Messer S.A., Karlsson Å., Bolmström A. ; (1998).Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media *journal of clinical microbiology*,36:2586-2589.

R

Reidel R.V.B,Melai B,Cioni P,Flamini G,Luisa.(2016).Aromaprofile of *rubus ulmifolius* flowers and fruits during different ontogenetic phases.chemistry & amp;biodiversity,13(12),1776-1784p.

Riaz M., Mansoor A., Najmur R. (2011). Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. University of Karachi, Karachi-75270. Pakistan. 5 (24): 5920-5924

Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., and Mata R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 35: 275-283.

S

Sadique, J., Al-Rqobah, W. A., Bughaith, M. F., et El-Gindy, A. R. (1989). The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60,525-532.

Sanogo R. (2006) .Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle. Développement, Environnement et Santé. 10ème école d'été de l'IEPF et SIFEE du 06 au 10 juin 2006, 53 p.

Sarikahya, N. B., Nalbantsoy, A., Top, H., Gokturk, R. S., Sumbul, H., & Kirmizigul, S. (2018). Immunomodulatory, hemolytic and cytotoxic activity potentials of triterpenoid saponins from eight *Cephalaria* species. *Phytomedicine*, 38, Pp.135-144.

Scharf D H., Heinekamp T., Brakhage A. (2014). Pathogènes fongiques humains et végétaux ;Le rôle des métabolites secondaires. *PlosPathog* 10 : E1003859. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003859>.

Schauenberg P, Paris F,(2006).Guide des plantes médicinales :analyse ,description et utilisation de 400 plantes .delachaux et niestlé .Paris(France). 396 P.

Schulz M., Seraglio S.K.T., Della Betta F., Nehring P., Valese A.C., Daguer H., Gonzaga L.V.,

Costa A.C.O., Fett R. (2019). Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. *Food Research International*. 122 : 627-634.

Seladji Meryem, (2015).Etude phytochimique, activités antioxydant et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. thèse de doctorat en produits naturels, aspects nutritionnels et activités biologiques : Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen,(Algérie).222p.

Sharma, A., Patel, V.K. & Ramteke, P. (2009). Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World journal of microbiology & biotechnology*, 25 : 19-25.

Sisti M., De Santi M., Fraternali D., Ninfali P., Scoccianti V., Brandi G. (2008).Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT- Food Science and Technology*. 41(5) : 946-950.

Souilah N. (2018).Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. Thèse. Université des Frères Mentouri Constantine 1. P : 31

Suhaj, M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity : a review. Journal of Food Composition and Analysis 19,531–537.

Sumaira A, Rahman H U. (2013). Biological activities of *Prunus persica* L. batch. Journal of Medicinal Plants Research. 7(11) : 987-951.

T

Tadhani, M.B., Patel, V.H., et Subhash, R., 2007. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. Journal of Food Composition and Analysis. 20, 323-329.

Teibi A, Chinoun A,(2021). Evaluation de l'activité antioxydant des extraits des feuilles de *Prunus persica* L. «pêche » et *Rubus ulmifolius* « mure sauvage » .memoire de master en nutrition et diététique : Université Abou Bekre Belkaid Tlemcen,(Algérie).88 P.

Toumi Y.,Miloudi Z,(2020). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire de *Salvia officinalis* L.mémoire de master en biotechnologie :université Saad Dahleb Blida 1 , Blida (Algérie).95p.

Trabelsi, N , Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. & Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. LWT - Food Science and Technology, 43: 632- 639.

V

Valent S.B., Albersheim P,(1978). Host-pathogen interactions in plants .the journal of cell biology.v:78,627-643 p.

Vanden Berghe D.A. & Vlietinck, A.J., (1991). Screening for antibacterial and antiviral agents. In: Hostettmann, K. (Ed.), Methods in Plant Biochemistry, Vol. 6, Assays for Bioactivity. London, Academic Press, 47-59

Verpoorte, R., Van Der Heijden, R., Schripsema, J., 1993. "Plant cell biotechnology for the production of alkaloids: present status and prospects". Journal of Natural Products. 56(2): 186-207.

W

Wan J., Wilcock A., and Coventry M.J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J. Appl. Microbiol. 84:152–158.

Wichtl M., et Anton R(2009): Plante thérapeutiques ,2eme édition Lavoisier ,692pages.

Wink M. (2011) biochemistry of plant secondary metabolism.annual plant reviews, secondary edition volume 40.

Y

Yu Z., Dahlgren R A. (2005). Journal of Chemical Ecology.26(9): 2119–2140.Extraction flavonoïde :dauguet et foucher.

Z

Zinebi A., Eddou H., Moudden K-M., Elbaaj M . (2017). "Profil étiologique des anémies dans un service de médecine interne." Pan African Medical Journal 26(1): 1-8

Annexes

Annexes 1 :**Préparation de PBS (phosphate buffered saline) à pH = 7,4**

Nous avons préparé le pbs à ph=7,4 par l'utilisation des composés suivants :

No₂Hpo₄ (0,70 g) et Kh₂po₄(0,68g).

Annexes 2 : préparation de Na Cl :

Nous avons préparé du Na cl (0,36%), en pesant 108 g et en ajoutant 300 ml

De l'eau distillé. Faire agitation jusqu'à dissolution complète.

0,36% → 1ml

X → 300ml

X=108 g

Annexes 3 : préparation des milieux de culture**Mueller Hinton (MH) :**

Dissoudre 38g de gélose mueller Hinton dans un 1 l d'eau distillé, faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, ensuite on mesure le ph jusqu'à 7,3. La solution obtenue est stérilisée pendant 20 min.

Gélose Sabouraud :

Dissoudre 65 g de gélose Sabouraud dans un 1 l d'eau distillé, faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, ensuite on mesure le ph jusqu'à 5,6 .la solution obtenue est stérilisée pendant 20 min.

Bouillon nutritif (BN) :

Dissoudre 15 g de bouillon dans 1 l d'eau distillé, faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète. Ensuite on mesure le ph jusqu'à 7,5. La solution obtenue est stérilisée pendant 20 min.

المخلص

في سياق اكتشاف المستخلصات الطبيعية من النباتات المستخدمة في الطب التقليدي ، وبغية استخدامها كبدائل للمضادات الحيوية الاصطناعية ، فقد اهتمنا بتقييم النشاط المضاد للانحلال والميكروبات لمستخلصات من نبات *Rubus ulmifolius* schott (التوت) ، وهو نبات طلي ينتمي إلى عائلة الوردية. تمتلك هذه الأنواع النباتية خصائص بيولوجية بفضل المستطبات الثانوية الغنية.

بدأنا باستخراج العائلات المختلفة من المستطبات الثانوية السائدة (البوليفينول ، جزء الفلافونويد من أسيتات الإيثيل ، جزء الفلافونويد (n-بيوتانول). تم اختيارنا خصائصها المضادة للانحلال والميكروبات باستخدام طريقة انتشار القرص.

أظهرت النتائج التأثير المضاد لانحلال الدم للمستخلصات مقارنة بحمض الأسكوربيك بتركيزات مختلفة ، مع نشاط قوي للمستخلص من نبات الدراسة حيث وجدنا أن مستخلص الفلافونويد (n-بيوتانول) بنسبة 95% التركيز 0.25 مجم / مل تركيز منخفض جدا مقارنة بحمض الاسكوربيك 1.5.

تم اختبار مستخلصات الأوراق على خمس سلالات بكتيرية وخميرة واحدة حسب طريقة الانتشار القرصي ، بأقطار تثبيط تتراوح من 8 إلى 17.25 مم. تم عن طريق التخفيف الدقيق على وسط سائل لتحديد الحد الأدنى من تركيزات CMs المثبطة. أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل كانت الأكثر نشاطاً ضد جميع البكتيريا المختبرة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للانحلال ، أظهرت النتائج أن مستخلصات *Rubus ulmifolius* لها قوة وقائية قوية. تقودنا هذه النتائج إلى استنتاج أن *Rubus ulmifolius* لديه إمكانات قوية مضادة للدم ومضادات الميكروبات ، ويمكن أن يكون بديلاً للأدوية.

الكلمات الأساسية: *Rubus ulmifolius* Schott ، نشاط مضاد للدم ، نشاط مضاد للميكروبات .

Abstract

In the context of the discovery of natural extracts from plants used in traditional medicine, and with a view to using them as an alternative to synthetic antibiotics, we were interested in evaluating the anti-hemolytic and antimicrobial activity of extracts from *Rubus ulmifolius* schott. (Wild Mulberry), a medicinal plant belonging to the Rosaceae family. This plant species possesses biological properties thanks to its rich secondary metabolites.

We began by extracting the various families of predominant secondary metabolites (polyphenols, flavonoid fraction of ethyl acetate, flavonoid fraction n-butanol). We then tested their anti-hemolytic and antimicrobial properties using the disk diffusion method.

The results demonstrate the anti-hemolytic effect of the extracts compared with ascorbic acid at different concentrations, with the extract from our study plant having a strong activity where we found that the flavonoid extract (n-butanol) at a percentage equal to 95% for concentration 0.25 mg/ml very low concentration compared with 1.5 ascorbic acid.

Leaf extracts were tested on five bacterial strains and one yeast according to the disk diffusion method, with inhibition diameters ranging from 8 to 17.25 mm. Then by micro-dilution on liquid medium to determine minimum inhibitory CMs concentrations. The results showed that the ethyl acetate phase was the most active against all the bacteria tested.

With regard to anti-hemolytic activity, the results show that *Rubus ulmifolius* extracts have a strong protective power. These results lead us to conclude that *Rubus ulmifolius* has strong anti-hemolytic and antimicrobial potential, and can be an alternative to drugs.

Key words: *Rubus ulmifolius* Schott, anti-hemolytic activity, antimicrobial activity.

Résumé :

Dans le contexte de la découverte des extraits naturels issus des végétaux utilisés en médecine traditionnelle et afin de les utiliser comme alternative aux antibiotiques de synthèse, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique et antimicrobienne des extraits de *Rubus ulmifolius* schott. (Le murier sauvage), qui est une plante médicinale appartenant à la famille des Rosacées. Cette espèce végétale possède des propriétés biologiques, grâce à sa richesses en métabolites secondaires.

Dans un premier temps, nous avons procédé à l'extraction des différentes familles des métabolites secondaires prédominants (polyphénols, fraction flavonoïdique d'acétate d'éthyle, fraction flavonoïdique n-butanol). Par la suite nous avons testé leurs pouvoir anti-hémolytique et antimicrobien par la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats démontrent l'effet anti-hémolytique des extraits comparativement avec l'acide ascorbique à différentes concentrations que l'extrait de notre plante étudiée a une forte activité où nous avons trouvé que l'extrait flavonoïdique (n-butanol) à un pourcentage égal à 95% pour concentration 0,25 mg/ml concentration très faible comparé au 1,5 d'acide ascorbique.

Concernant l'activité antimicrobienne Les extraits de feuille ont été testés sur cinq souches bactériennes ainsi qu'une levure Selon la méthode de diffusion sur disque avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 17,25 mm. Puis par méthode de micro-dilution sur milieu liquide afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMs. Les résultats ont montré que la phase acétate d'éthyle s'est montrée la plus active contre toutes les bactéries testées.

En ce qui concerne l'activité anti-hémolytique, les résultats montrent que les extraits de *Rubus ulmifolius* ont un fort pouvoir protecteur. À travers ces résultats on conclue que *Rubus ulmifolius* a un fort potentiel anti-hémolytique et antimicrobien et peut être une alternative aux médicaments

Mot clés : *Rubus ulmifolius* Schott., activité anti-hémolytique, activité antimicrobienne, métabolites secondaires, CMs.