



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de BIOLOGIE

Laboratoire des produits naturels LAPRONA

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Diététique

Présenté par

BRIKCI SID Sarra Ep SOUALI et BOUDALIA Nesrine

Thème

Évaluation de l'activité anti-hémolytique et antimicrobienne des extraits des feuilles du murier sauvage *Rubus ulmifolius* S.

Soutenu le 15/06/2023, devant le jury composé de :

Présidente	M ^{me} SOUALEM-MAMI Zoubida	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	M ^{me} BEKKARA-SELADJI Meryem	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	M ^{me} BENAMAR-DIB Hanane	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023



Remerciements

Avant toute chose nous remercions le bon Dieu le tout Puissant de nous avoir donné le courage, la force et la patience qui nous a permis de réaliser ce modeste travail.

Nous tenons vivement à remercier notre encadrante **M^{me} BENAMAR-DIB. H**, Maitre de Conférences A au département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'université ABOUBEKR BELKAID- Tlemcen pour son aide, disponibilité, encouragement et sa sympathie.

Nous exprimons nos remerciements aux honorables membres du jury :

M^{me} SOUALEM-MAMI. Z, Maitre de conférences A au département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'université ABOUBEKR BELKAID- Tlemcen, vous me faites un grand honneur d'accepter avec une amabilité de siéger à mon mémoire comme président de jury.

Permettez-moi de vous exprimer mon grand respect et ma profonde reconnaissance.

Je remercie par ailleurs vivement **M^{me} BEKKARA-SELADJI. M**, Maitre de Conférences A au département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'université Ahmed Ben Bella d'ORAN 1 d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions **M^{me} BELHASSAINE Fatima Zohra**, la technicienne du laboratoire de recherche des produits naturels LAPRONA.

Sans oublier les doctorantes **M^{elle} BENAMEUR Meriem** et **M^{elle} SENHADJI Souad**.

Nous tenons à remercier tous le personnel et les responsables du département de Biologie.

Nos remerciements vont à tous les enseignants qui nous ont guidés sur le chemin de la science tout au long de notre cursus universitaire.

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près et de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

À l'issue de cette étude, je tiens à exprimer mes sincères sentiments envers les personnes suivantes :

Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères à mon cher papa et ma chère maman, qui sont la lumière de ma vie, pour leurs sacrifices, leurs conseils, leur aide et leur soutien moral et financier tout au long de mes études. Leur soutien indéfectible a été une source inestimable de motivation et d'encouragement.

Je dédie également ce travail à ma petite sœur Romaiïssa Rayhane, pour son amour et sa gentillesse, aussi mes tantes pour leurs présences bienveillantes et leurs conseils avisés ont été d'une grande valeur pour moi

Je tiens à dédier mes remerciements à mes amies BENARIBA Aouatef, MERABET Aïcha et BRIKCI SID Sarra. Votre présence à mes côtés, votre soutien inébranlable et vos encouragements chaleureux ont été des éléments essentiels qui m'ont permis de persévérer face aux défis rencontrés. Je vous suis profondément reconnaissante pour votre soutien indéfectible et votre confiance en mes capacités.

À toutes ces personnes, je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Votre soutien inestimable a été une force motrice qui m'a aidé à surmonter les obstacles et à réaliser cette étude avec succès.

Boudalia Nesrine

DÉDICACE

Je dédie le fruit de ce modeste travail à

Mes parents, les plus chers : pour vos mains qui ont tant travaillés, pour votre cœur qui m'a tant donné et pour votre aide à ce que je suis.

Mon mari et mon fils : pour votre sourire qui m'a tant réchauffé, pour vous qui m'avez tant aimé

Ma sœur et sa petite famille : secours de ma vie, qui m'ont soutenue à chaque étape de mes études.

A tous mes enseignants du primaire à l'université.

MERCI

BRIKCI SID SARRA

Résumé

Rubus ulmifolius Schott connue sous le nom de la mure sauvage est une plante largement utilisée en médecine populaire pour ses propriétés thérapeutiques.

Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet anti-hémolytique et antimicrobien des extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique a démontré que les extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. possèdent un effet inhibiteur de l'hémolyse induit par l'hypotonie et la chaleur important avec un pourcentage de 86.7 % et 77.46 % respectivement à la concentration de 0.125mg/ml. Cette activité anti-hémolytique est supérieure à celle de l'acide ascorbique (74.06%) à 1.5 mg/ml.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*.

L'extrait tannique a présenté la meilleure activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 12,75mm mais aucun effet antifongique. L'extrait polyphénolique quant à lui a présenté une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Proteus mirabilis* avec un diamètre de la zone d'inhibition de 15.25mm, et une activité antifongique modérée.

les CMI ont indiqués que la souche *Bacillus subtilis* ATCC6633 s'est révélée la plus sensible vis-à-vis de l'extrait tannique avec une CMI égale à 4.83 mg/ml confirmant ainsi les résultats de la méthode de diffusion sur disques.

Cette étude a permis de déduire que les feuilles de *Rubus ulmifolius* S. constituent un gisement intéressant qui mérite d'être exploiter dans différents domaines notamment le domaine de la santé de par ses propriétés biologiques.

Mots clés : *Rubus ulmifolius*, la mure sauvage, activité anti-hémolytique, activité antimicrobienne.

Abstract

Rubus ulmifolius Schott, also known as wild blackberry, is a plant widely used in folk medicine for its therapeutic properties.

The aim of the present study was to evaluate the anti-hemolytic and antimicrobial effect of polyphenolic and tannin extracts from the leaves of *Rubus ulmifolius* S.

Evaluation of the anti-hemolytic activity showed that the polyphenolic and tannin extracts of *Rubus ulmifolius* S. leaves have a significant inhibitory effect on hypotonia- and heat-induced hemolysis, with percentages of 86.7% and 77.46% respectively at a concentration of 0.125mg/ml. This anti-haemolytic activity was greater than that of ascorbic acid (74.06%) at 1.5mg/ml.

The antimicrobial activity of the extracts was estimated in terms of the diameter of the zone of inhibition around the discs containing the extracts to be tested against *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis* and *Candida albicans*.

The tannin extract showed the best antibacterial activity against *Bacillus subtilis* with a diameter of the zone of inhibition equal to 12.75mm, but no antifungal effect. The polyphenolic extract showed significant antibacterial activity against *Proteus mirabilis*, with a zone of inhibition diameter of 15.25mm, and moderate antifungal activity.

The MICs showed that the *Bacillus subtilis* ATCC6633 strain was the most sensitive to the tannin extract, with a MIC equal to 4.83 mg/ml, confirming the results of the disk diffusion method.

This study has shown that the leaves of *Rubus ulmifolius* S. constitute an interesting resource that deserves to be exploited in various fields, particularly health, due to its biological properties.

Keywords : *Rubus ulmifolius*, the Wild blackberry, activity anti-hemolytic, anti-microbial activity.

الملخص

Rubus ulmifolius Schott المعروف باسم بلاك بيرى البري هو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب الشعبي لخصائصه العلاجية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد للانحلال والتأثير المضاد للميكروبات لمستخلصات البوليڤينول والتانيك لأوراق *Rubus ulmifolius* S.

أظهر تقييم النشاط المضاد للانحلال أن مستخلصات البوليڤينول والتانيك لأوراق *Rubus ulmifolius* S. لها تأثير مثبط كبير لانحلال الدم الناجم عن نقص التوتر والحرارة بنسبة 86.7% و 77.46% على التوالي بتركيز 0.125 مغ/ملل. هذا النشاط المضاد للانحلال أكبر من نشاط حمض الأسكوربيك (74.06%) عند 1.5 مغ/ملل.

تم تقدير النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات من حيث قطر منطقة التثبيط حول الأقراص التي تحتوي على المستخلصات المراد اختبارها ضد *Bacillus subtilis* و *Enterococcus faecalis* و *Citrobacter Listeria monocytogène* و *Candida albicans* و *Proteus mirabilis* و *frendin*

أظهر مستخلص التانيك أفضل نشاط مضاد للبكتيريا ضد *Bacillus subtilis* بقطر منطقة التثبيط يساوي 12.75 مم ولكن ليس له تأثير مضاد للفطريات. أظهر مستخلص البوليڤينول، من جانبه، نشاطا مهما مضادا للبكتيريا تجاه *Proteus mirabilis* بقطر منطقة التثبيط 15.25 مم، ونشاط معتدل مضاد للفطريات.

وأشار MIC أن سلالة *Bacillus subtilis* ATCC6633 ثبت أن الأكثر حساسية فيما يتعلق استخراج التانيك مع MIC يساوي 4.83 ملغ / مل مما يؤكد نتائج طريقة الانتشار على الأقراص.

جعلت هذه الدراسة من الممكن استنتاج أن أوراق *Rubus ulmifolius* S. تشكل وديعة مثيرة للاهتمام تستحق الاستغلال في مختلف المجالات، ولا سيما مجال الصحة بسبب خصائصها البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: *Rubus ulmifolius*، العليق البري، نشاط مضاد للانحلال، نشاط مضاد للميكروبات.

Liste des Figures

Figure 1. Principales classes des composés phénoliques	11
Figure 2. Structure du noyau phénol	12
Figure 3. La structure chimique de base des flavonoïdes.	14
Figure 4. Structure de base des tanins hydrolysables.....	16
Figure 5. Structure chimique de quelques tanins hydrolysables	16
Figure 6. Structure chimique des tanins condensés.	17
Figure 7. Structure de quelques alcaloides	18
Figure 8 Structure de base des terpènes.	18
Figure 9 Le Turion de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	22
Figure 10 La fleur de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	22
Figure 11 Les feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	22
Figure 12 Les fruits de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	22
Figure 13 Protocole d'extraction des polyphénols.....	27
Figure 14 Protocole d'extraction des tanins totaux	28
Figure 15 pourcentages de la stabilité membranaire de l'acide ascorbique.	34
Figure 16 Pourcentages de la stabilité membranaire de l'extrait polyphénolique des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	35
Figure 17 pourcentages de la stabilité membranaire de l'extrait tannique des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	36
Figure 18 pourcentages de la stabilité membranaire des extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	36

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Structures et classification de quelques acides phénoliques	13
Tableau 2 : Structures des flavonoïdes	15
Tableau 3 : Classification de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	23
Tableau 4 : Origines des souches bactériennes et fongiques utilisées.	30
Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles.....	39
Tableau 6 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits des feuilles	40

Liste des abréviations

A.ac : acide ascorbique

AAPH : 2,2'-azobis-(2-aminopropane)-dihydrochlorohydrochlorique

CaCO₃ : carbonate de calcium

DMSO : diméthylsulfoxyde

DO : densité optique

GR : globule rouge.

NaCl : chlorure de sodium

PBS : phosphate buffered saline

UFC : unité formant colonie

Table des matières

Résumés	iv
Liste des Figures	vii
Liste des Tableaux	viii
Liste des abréviations.....	ix
Table des matières.....	x
<i>INTRODUCTION</i>	1
<i>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	4
<i>Chapitre I. la phytothérapie et les plantes médicinales</i>	5
I. La phytothérapie et la science moderne :	6
II. Définitions :.....	6
II. 1. La phytothérapie :	6
II. 2. Les plantes médicinales :	6
II. 2.1. La récolte :	6
II. 2.2. Le séchage :.....	6
II. 2.3. La conservation :.....	7
II. 2.4. Mode d'utilisation des plantes médicinales :	7
<i>Chapitre II. Bioactivités et métabolites secondaires</i>	8
I. Les activités biologiques :	9
I.1. Définition de l'activité biologique :	9
I.2. L'activité anti hémolytique :	9
I. 2.1. L'hémolyse :.....	9
I. 3. L'activité anti-microbienne :.....	9
II. Les métabolites secondaires :	10
II.1. Définition des métabolites secondaires :	10
II.2. Classification des métabolites secondaires :.....	10
II.2.1. Les composés phénoliques :.....	10

II.2.1.1. Les acides phénoliques :	12
II.2.1.2. Les flavonoïdes :	14
II.2.1.3. Les tanins :	16
II.2.2. Les alcaloïdes :	17
II.2.3. Les terpènes :	18
Chapitre III. Généralités sur l'espèce <i>Rubus ulmifolius</i> S.	19
I. Famille des rosacées :	20
I. 1. Description de la famille des rosacées :	20
II. Le genre <i>Rubus</i> :	20
III. Description botanique et classification de l'espèce <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	20
III. 1. Description botanique de l'espèce <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	20
III. 1. 1. La partie aérienne de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	20
III. 1. 2. Les fleurs :	20
III. 1. 3. Les feuilles :	21
III. 1. 4. Les fruits :	21
III. 2. Classification de l'espèce <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	23
III. 2. 1. Systématique de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	23
III. 2. 2. Les différentes appellations :	23
III. 3. Les variétés de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	24
IV. Les exigences écologiques :	24
V. Habitat et répartition :	24
VI. Les effets thérapeutiques de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	24
VII. Travaux antérieurs :	25
VII. 1. Composition chimique des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	25
VII. 2. Activités biologiques de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :	25
PARTIE EXPÉRIMENTALE	26
I. Objectif de l'étude :	27

II. Matériel végétal :.....	27
III. Extraction des composés phénoliques	27
IV. Extraction des tanins totaux	28
V. Évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :... 29	
V. 1. Principe :.....	29
V.2. Mode opératoire :	29
VI. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S. :... 30	
VI. 1. Stérilisation du matériel :	30
VI. 2. Mise en culture des souches :.....	30
VI. 3. Méthode de diffusion sur disque :.....	31
VI. 4. Méthode de micro-dilution en milieu liquide :	31
<i>RESULTATS ET DISCUSSION</i>	33
1. Test d'activité anti-hémolytique :	34
2. Évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits des feuilles de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	37
2.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) :	37
2.2. Résultats des CMI.....	40
<i>CONCLUSION ET PERSPECTIVE</i>	43
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	46

INTRODUCTION

Depuis le préhistorique, l'homme utilisait les plantes pour se nourrir, se vêtir, se parfumer et construire ses maisons (**Amarti et al., 2011**). L'utilisation des plantes en thérapeutique (entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent) est donc très ancienne et connaît un regain d'intérêt auprès du public (**Marc, 2001**).

La nature est fournie avec une grande variété d'herbes pour traiter différents maux de l'humanité. Par conséquent, les plantes médicinales ont suscité beaucoup d'intérêt dans le développement de médicaments à base de plantes et sont attribuées aux phytoconstituants. Selon les rapports de l'OMS, près de 80% de la population mondiale dépend principalement des plantes médicinales pour ses besoins de soins de santé de base (**Dey et al., 2021**).

Malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations ont recours aux plantes pour se soigner soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits, soit parce que ces plantes ont donné des résultats thérapeutiques très efficaces et à moindre effets secondaires remarquables, soit parce qu'elles sont moins nocives pour l'organisme (**Arrif, 2009**).

Chacune de ces plantes peut renfermer des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent entraîner différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Dellile, 2013**).

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites qui sont classés selon leur appartenance chimique. Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques et les tanins qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration (**Bodas et al., 2008**).

Ces composants biochimiques naturels représentent le principe actif et confèrent aux plantes une très large gamme d'activités biologiques bénéfiques pour la santé (**Macheix et al., 2005**).

La plante *Rubus ulmifolius* Schott fait partie de la famille des Rosacées qui est classée comme 19^{ème} plus grande famille de plante et utilisée pour ses diverses propriétés biologiques. C'est un arbre largement utilisé en médecine traditionnelle en Algérie pour ses nombreuses vertus thérapeutiques et sa richesse en métabolites secondaires (**Akkari et al., 2016**).

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des activités biologiques à savoir l'activité anti-hémolytique et l'activité antimicrobienne des feuilles du murier sauvage connu sous le nom *Rubus ulmifolius* S. de la famille des Rosacées.

L'intérêt majeur de notre travail est de valoriser cette espèce en démontrant les activités biologiques de ces derniers.

Pour cela, notre manuscrit est divisé en partie bibliographique contenant une synthèse bibliographique, une partie expérimentale que nous avons effectuée au sein du laboratoire des produits naturels « LAPRONA », puis les résultats et leur discussion.

Enfin, cette recherche est achevée par une conclusion et des perspectives.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. la phytothérapie et les plantes médicinales

I. La phytothérapie et la science moderne :

A partir du 19^e siècle, la pharmacie moderne s'est intéressée plus aux constituants actifs présents dans les plantes. Les progrès de la chimie et la physiologie ont permis de mettre en évidence de façon scientifique les principes actifs des plantes, qui étaient utilisés de façon empirique. Cette démarche, qui relie mode modernité et tradition, a montré que les plantes se composent de constituants actifs que la recherche pharmaceutique a isolé afin de mieux en maîtriser les effets (Ane, 2009).

II. Définitions :

II. 1. La phytothérapie :

Du grec phyton, qui signifie « plantes » et terapeia « traitement ». La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et / ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Robert, 2003).

II. 2. Les plantes médicinales :

Les plantes sont classées médicinales lorsqu'un des organes possède des activités pharmacologiques ; ou possède au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (James, 1997 ; Beloued, 2005 ; Mohammedi, 2006).

II. 2.1. La récolte :

L'efficacité d'une plante dépend essentiellement de la récolte, de la conservation, de la culture et de l'environnement.

Les organes doivent être cueillis par temps sec et de préférence après le lever du soleil. Pour la cueillette des feuilles, elle se fait au moment propice, ou qu'elles ont atteint leur plein épanouissement (Ane, 2006 ; René, 2009).

II. 2.2. Le séchage :

Avant conservation, les plantes doivent être très soigneusement séchées.

Le séchage doit se faire rapidement pour éviter l'altération des plantes, leur fermentation et la perte de leurs principes actifs.

Le plus efficace serait de faire sécher les plantes à l'ombre, à chaud dans un endroit vastes et bien aéré (Bernard, 2001 ; Halimi, 2004 ; Messaoudi, 2008).

II. 2.3. La conservation :

Les plantes séchées, sans aucune trace d'humidité se rangent séparément dans des récipients adéquats portant le nom de la plante et la date de sa récolte (**Beloued, 2005**).

II. 2.4. Mode d'utilisation des plantes médicinales :

Les plantes sont utilisées soit par :

- Usage interne (infusion, décoction, macération, jus ou poudre) : la prise se fait par voie buccale ou par voie injectable.
- Usage externe (on peut recourir aux cataplasmes, aux lotions, aux compresses, aux pansements et au gargarisme) : utilisation sur l'épiderme ou inhalées dans les orifices corporels (**Goldstein, 2003**).

Chapitre II. Bioactivités et métabolites secondaires

I. Les activités biologiques :

I.1. Définition de l'activité biologique :

Une plante médicinale peut contenir un ou plusieurs principes actifs qui a la capacité de prévenir, soulager ou guérir plusieurs maladies. Selon de nombreuses études, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très large diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très grand éventail d'activités biologiques tel que les activités anti virale, anti oxydante, anti coagulante, anti microbienne, anti inflammatoire ... (**Bérubé-Gagnon, 2006**).

I.2. L'activité anti hémolytique :

I. 2.1. L'hémolyse :

L'hémolyse est un phénomène normal qui aboutit à la destruction des globules rouges dans la rate et la moelle osseuse au terme d'une vie de 120 jours (**Mezzour et al., 2006**).

L'hémolyse peut être pathologique (hyper hémolyse) entraînant une destruction précoce et excessive des hématies circulantes et une libération de l'hémoglobine, provoquant ainsi une anémie hémolytique (**Horde, 2014**).

Elle pourrait également avoir une origine toxique par exposition aux métaux tel que le plomb responsable du saturnisme (maladie professionnelle la plus fréquente au monde) ou encore le cuivre ou l'hydrogène arsénié (**Dreyfus et al., 1992**). Certains médicaments, animaux et végétaux peuvent aussi être toxiques (**Streichman et al., 1998**).

Un médicament anti-hémolytique a pour but retarder ou inhiber la lyse des hématies. On peut citer l'acide folique, le complément de fer, la vitamine B12 et les corticoïdes (**Bachy et al., 2015**).

I. 3. L'activité anti-microbienne :

La maîtrise des infections bactériennes devient plus complexe car de nombreuses bactéries ont développées une résistance à la majorité des antibiotiques, ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Suite à cette préoccupation, il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques (**Seragui et al., 2013**).

Un agent antimicrobien est une substance capable d'empêcher la reproduction des micro-organismes pathogènes ou de provoquer la mort de leurs cellules.

Le terme « agent antimicrobien » est un terme qui englobe tous les agents antibactériens, antiviraux, antifongiques et antiparasitaires (**Sili cycle Inc, 2017**).

Les agents antibactériens sont classés selon leurs cibles bactériennes. Il s'agit de cinq mécanismes (**Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999**) : Le blocage de la synthèse de la paroi bactérienne ; l'inhibition de la synthèse des protéines ; l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques ;

l'altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique ; une inhibition de la synthèse de divers métabolites.

De nombreux composants présents dans les plantes possèdent cette propriété et qui sont principalement des métabolites secondaires tels que les phénols, les alcaloïdes, terpènes, alcools tannins, aldéhydes, isoflavonoïdes et plus encore (**Hayek et al., 2013**).

II. Les métabolites secondaires :

II.1. Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques, synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. A structure chimique souvent complexe, ils sont très dispersés et très différents selon le type d'espèce. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores comme ils jouent un rôle dans les relations entre la plante et son environnement (**Abderrazak et Joël, 2007 ; Gravot, 2008**).

II.2. Classification des métabolites secondaires :

II.2.1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols sont présents partout dans la plante : les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles. Les principales sources alimentaires sont les légumes et les fruits, les boissons (thé, café, jus de fruits et vin rouge), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes apportent environ la moitié à notre apport en polyphénols (**Middleton et al., 2000**).

Les composés phénoliques (**figure 1**), constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (**Dacosta, 2003**).

Ces composés peuvent être regroupés en plusieurs catégories qui se différencient en premier par la complexité du squelette de base ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation etc.) et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (**Bragazza et Freeman, 2007**).

On distingue les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les stilbènes et les quinones (**Chanforan, 2010**).

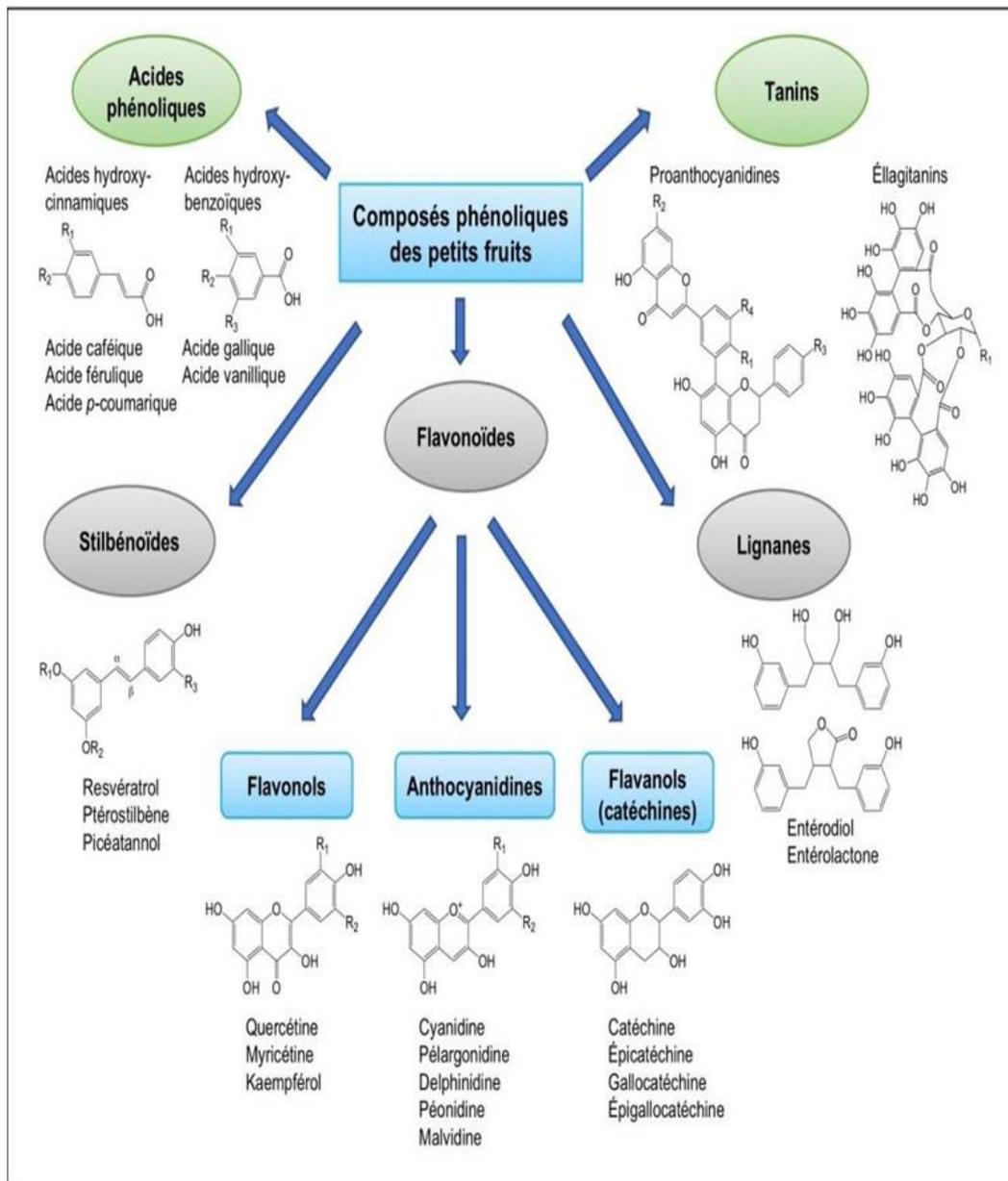


Figure 1. Principales classes des composés phénoliques

(Fettah, 2019).

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**figure 2**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

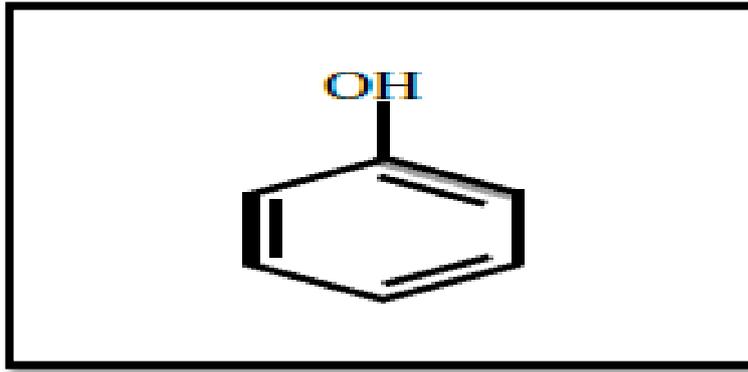


Figure 2. Structure du noyau phénol

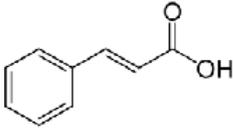
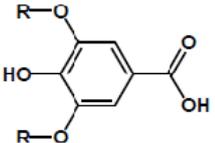
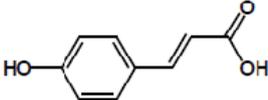
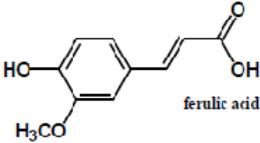
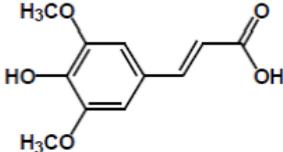
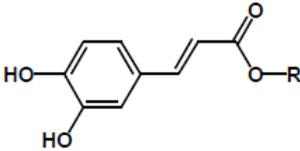
(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzymeA. Cette biosynthèse a donné naissance à une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe et d'un tissu particulière (Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008).

II.2.1.1. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques non-flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux classes principaux, qui sont des dérivés d'acide benzoïque ou d'acide cinnamique (Tableau 1). Ils se trouvent dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová et al., 2003).

Tableau 1 : Structures et classification de quelques acides phénoliques (Tsao, 2010).

Classe	Structure	Acide phénolique
		<p>Acide vanillique (R = OCH₃) Acide Protocatechuique (R=H)</p>
Acide cinnamique		<p>Acide gallique (R = H) Acide syringique (R = OCH₃)</p>
		Acide <i>p</i> -coumarique
		Acide férulique
Acide benzoïque		Acide sinapique
		<p>Acide caféique (R = H) Acide chlorogénique (R = 5-quinonyl)</p>

II.2.1.2. Les flavonoïdes :

Ce sont des pigments quasiment universels de tous les végétaux et sont, en partie, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois même des feuilles (**Egert et Rimbach, 2011**).

La structure de base de ces molécules est caractérisée par 15 atomes de carbone arrangés en trois cycles (**figure 3**). A l'exception des chalcones (ouverture du cycle B). Ces métabolites secondaires sont toujours tricycliques : deux cycles benzoïques A et B et un hétérocycle C (**Shankari et al., 2014**).

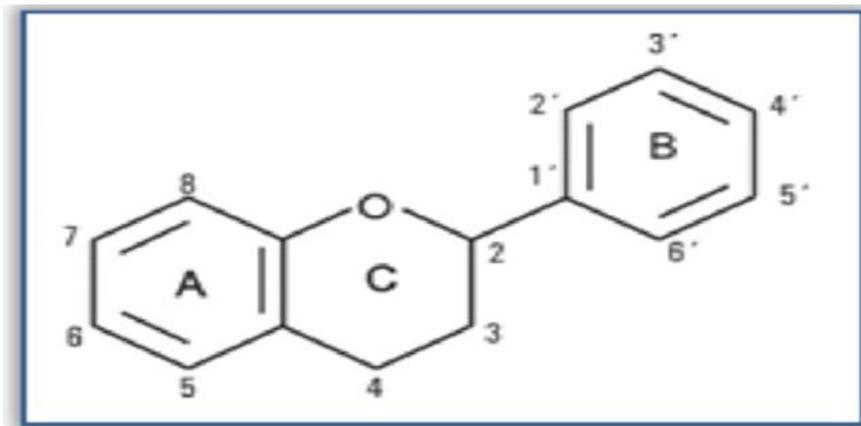


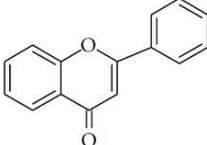
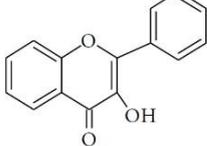
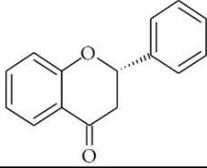
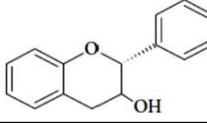
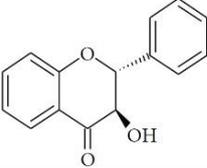
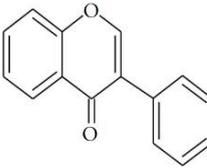
Figure 3. La structure chimique de base des flavonoïdes (**Bruneton, 2009**).

Ce sont des polyphénols polaires qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (**Redondo et al., 2014**).

Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques bénéfiques pour la santé dont l'activité anti oxydante, anti fongique, anti tumorale et anti virale (**Lamy et al., 2014**).

Le tableau ci-dessous résume les structures des flavonoïdes.

Tableau 2 : Structures des flavonoïdes (Kumar et Paney, 2013).

Formule chimique	Nom	Substitution									
		3	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	
Flavone 	Apigénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	
	Chryssine	H	OH	H	OH	H	H	H	H	H	
	Lutéoline	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	OH	H
Flavonol 	Quercétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	
	Myricétine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	OH	
	Kaempférol	OH	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	
	Rutine	sucre	OH	H	OH	H	H	H	OH	OH	H
Flavanone 	Naringénine	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	
	Hespérétine	H	OH	H	OH	H	H	OH	OCH ₃	H	
Flavan-3-ol 	Catéchine	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	
	Epicatéchine	OH	OH	H	OH	H	H	H	OH	OH	
Flavanonol 	Taxifoline	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	
Isoflavones 	Génistéine	/	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	
	Daidzéine	/	H	H	OH	H	H	H	OH	H	

II.2.1.3. Les tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Peronny, 2005).

Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes.

Ces macromolécules se divisent en deux groupes distincts selon leur structure (Roux et Catier, 2007).

II.2.1.3.a. Les tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables, comme leur nom l'indique, sont caractérisés par le fait qu'ils s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou par l'action d'enzymes (Quideau, 2009).

Ils sont composés des esters d'un sucre (D-glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol (figure 4). Ces tanins sont de deux types : Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques; et les tanins éllagiques qui sont des esters d'oses et d'acide éllagiques (figure 5) (Atefeibu, 2002 ; Asres et al., 2005) .

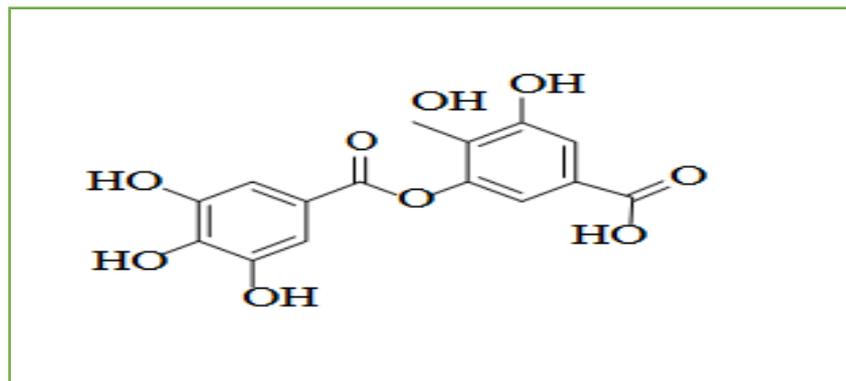


Figure 4. Structure de base des tanins hydrolysables (Hartzfeld et al., 2002).

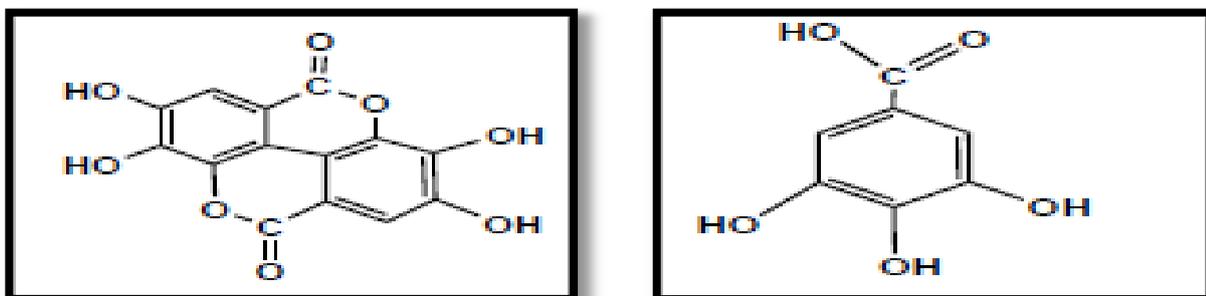


Figure 5. Structure chimique de quelques tanins hydrolysables (Crestini et Lange, 2015).

II.2.1.3.b. Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères de flavane-3-ols (des anthocyanidines) et des flavane-3,4-diols (des leucoanthocyanidines) (**figure 6**), dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (**Stevanovic et Perrin, 2009**).

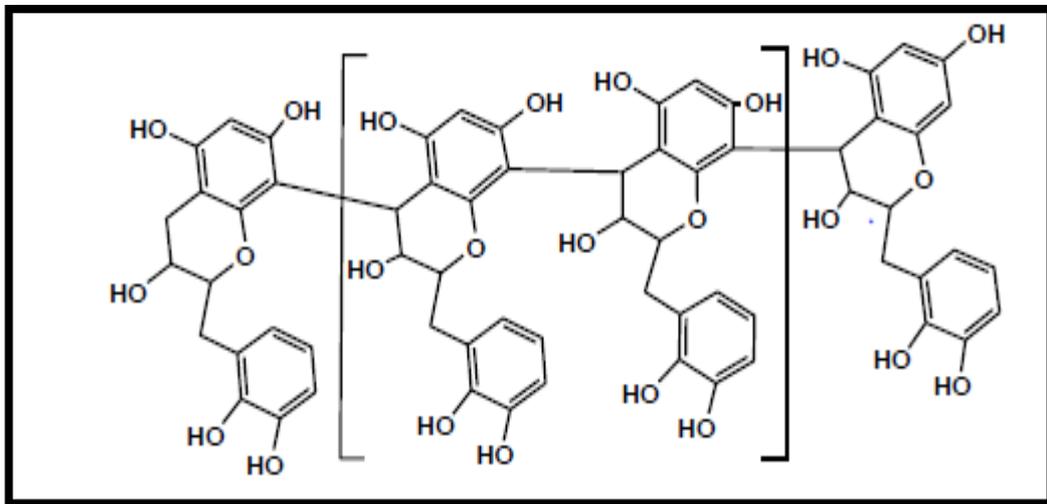


Figure 6. Structure chimique des tanins condensés (**Macheix et al., 2005**).

Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (**Macheix et al., 2005**).

Appelés aussi pro anthocyanidines, ils sont des oxydants dotés d'un fort pouvoir protecteur capable de prévenir certaines maladies cardiovasculaires (**Boudjouref, 2011**).

II.2.2. Les alcaloïdes :

Plus de 12000 alcaloïdes existent dont environ 20% des espèces végétales, seuls quelques-uns étaient développés à des fins médicinales. La morphine, particulièrement utilisée en médecine et en pharmacie. Il existe aussi d'autres alcaloïdes importants tel que la caféine, la cocaïne, la nicotine, d'origine végétale. Les alcaloïdes (**figure 7**) sont des substances organiques azotées dans lesquelles l'azote est dans un cycle hétérogène, qui est synthétisé à partir d'acides aminés. On les trouve dans les plantes sous forme libre ou sous forme de sels de certains acides végétaux tels que : l'acide citrique ... (**Benslama, 2016**).

Ils sont considérés comme des anti cancer et sédatifs et ils sont aussi utilisés pour leurs effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Iserin, 2001**).

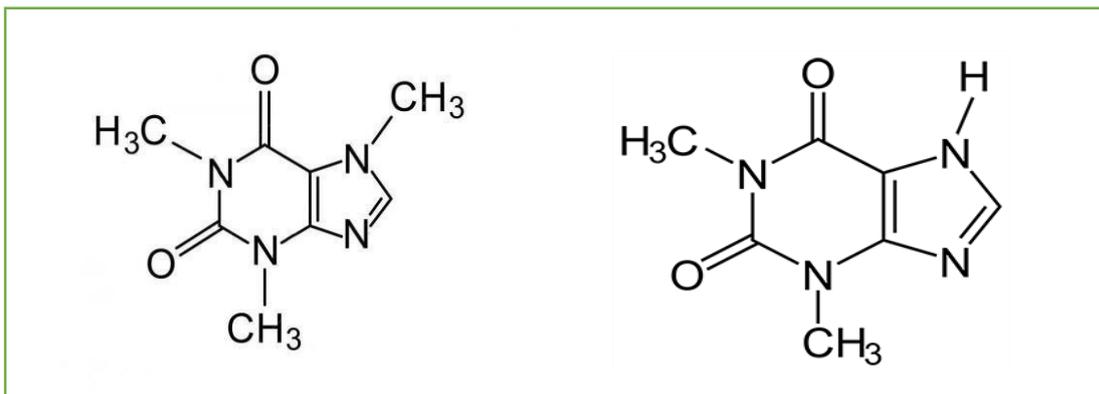


Figure 7. Structure de quelques alcaloïdes (Ziegler et Facchini, 2008).

II.2.3. Les terpènes :

Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent donc la classe la plus diversifiée de composés organiques végétaux (Wilhelm, 1995).

Les terpènes (figure 8) sont des hydrocarbures naturels, constitués de structures soit sous forme cyclique soit en chaîne ouverte et la molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Bezzaz, 2014). On peut classer les terpènes en cinq classes : mono terpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et les huiles essentielles (Richter, 1993). Ils sont en grande partie d'origine végétale et sont synthétisés par les plantes, les champignons, les organismes marins et même par les animaux (Benaïssa, 2011).

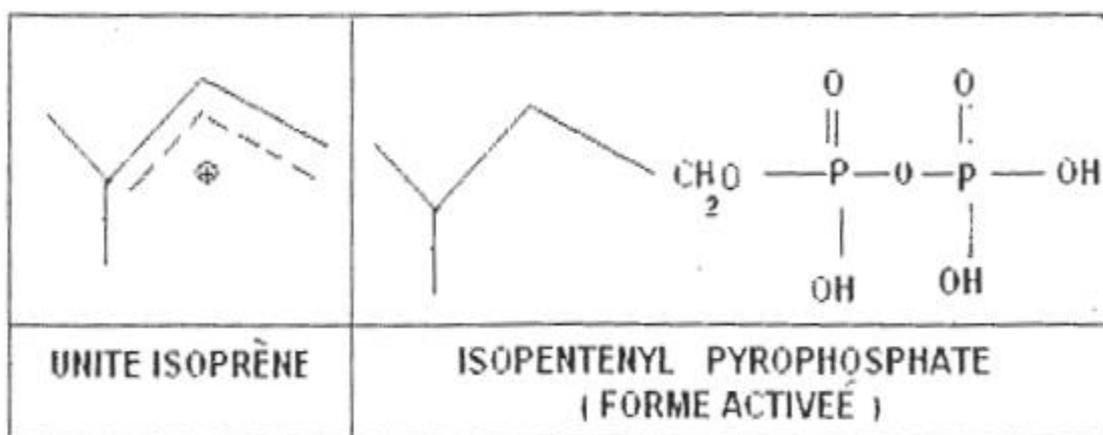


Figure 8 Structure de base des terpènes (Richter, 1993).

Chapitre III. Généralités sur l'espèce *Rubus ulmifolius* S.

I. Famille des rosacées :

I. 1. Description de la famille des rosacées :

La famille des rosacées fait partie des plantes les plus intéressantes sur le plan économique dans les régions tempérées et comprend plus de 100 genres et environ 3000 espèces. Le genre *Rubus* compte près de 740 espèces, qui ont été divisé en 12 à 15 sous-genres, ce qui en fait le plus grand genre de la famille des Rosacés et l'un des plus diversifiés parmi le règne végétal (Akhtar et al., 2017).

II. Le genre *Rubus* :

Rubus ulmifolius Schott est une espèce végétale de la famille des Rosacées qui constitue la 19^{ème} plus grande famille de plantes, et qui comprend environ 90 à 125 genres et 3370 à 3500 espèces d'arbres, arbustes et herbes. Très connu pour ses fruits comestibles et pour sa couleur attrayante qui change du vert au noir pendant la maturation. *Rubus ulmifolius* se trouve dans de nombreuses régions du monde largement distribué en Europe, Asie et Afrique du Nord (Akkari et al., 2016 ; Bandeira et al., 2016).

Cette espèce de par sa saveur acidulée et sa coloration noire et plus, un goût désirable augmente la consommation mondiale des mûres et produits à base de baie. *Rubus ulmifolius* fournit des composants fonctionnels comme les fibres alimentaires, les polyphénols, les minéraux, les vitamines et d'autres nutriments essentiels (Schulz et al., 2019).

III. Description botanique et classification de l'espèce *Rubus ulmifolius* S. :

III. 1. Description botanique de l'espèce *Rubus ulmifolius* S. :

III. 1. 1. La partie aérienne de *Rubus ulmifolius* S. :

Elle est d'une longueur moyenne de 2m, laquelle est appelée le turion, ce dernier est anguleux assez épais de 6 à 10 mm de diamètre et d'une couleur rouge violacé bleuté, prumineux, chargé de poils étoilés, couvert par des aiguillons situées sur tous les angles, ils sont identiques, persistantes et très abondantes (de 5 à 10 aiguillons chaque 5cm), longs de 6 à 11 mm et de la même couleur que le turion (figure 9) (Ferrez et Royer, 2015).

III. 1. 2. Les fleurs :

Les fleurs de cette espèce (figure 10) sont régulières, d'un diamètre de 2 cm, comprends le sépale d'un gris-blanc tomenteux, réfléchis et le pétale est d'un rose rouge violacé, ovale à presque arrondie et chiffonnés, concernant les étamines égalant ou des fois dépassant peu les styles, blancs à un rose pâle, poilue qui à la suite de la floraison deviennent très sèches et courbés (Ferrez et Royer, 2015).

III. 1. 3. Les feuilles :

Les feuilles (**figure11**) sont alternes à 3 ou 5 folioles (**Anonyme, 2003**). Elles sont ovales et dentées avec une nervure médiane couverte de fines épines (**Messaoudi, 2008**). Les feuilles sont discolores et les pétioles sont armés d'aiguillons (**Bandeira Reidel et al., 2016**).

III. 1. 4. Les fruits :

En ce qui concerne les fruits (**figure 12**), ils sont très variés, constitués de plusieurs drupéoles assez luisantes qui deviennent noires en phase de maturation appelés mûres. Il est fréquent de trouver jusqu'à 30 mûres d'un diamètre de 0.5 à 3cm dans un turion. (**Ferrez et Royer, 2015 ; Belahcène et al., 2021**).

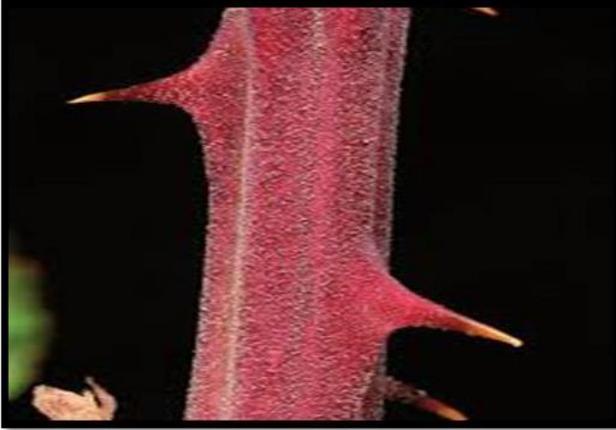


Figure 9 Le Turion de *Rubus ulmifolius* S. (Ferrez et al., 2015).



Figure 10 La fleur de *Rubus ulmifolius* S. (Aliouat, 2014).



Figure 11 Les feuilles de *Rubus ulmifolius* S. (Ferrez et al., 2015).



Figure 12 Les fruits de *Rubus ulmifolius* S. (Ruiz- Rodríguez et al., 2014).

II.2. Classification de l'espèce *Rubus ulmifolius* S. :**III. 2. 1. Systématique de *Rubus ulmifolius* S. :**

Le tableau ci-dessous mentionne la classification de la plante sélectionnée *Rubus ulmifolius* S.

Tableau 3: Classification de *Rubus ulmifolius* S. (Evans et al., 2007).

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Viridiaeplantae</i>
Division	<i>Tracheophyta</i>
Sous division	<i>Spermatophytina</i>
Infra-division	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rosaceae</i>
Genre	<i>Rubus</i>

III. 2. 2. Les différentes appellations :

- Nom vernaculaire algérien : *Allaique* (Halimi, 2004 ; Beloued 2005).
- Nom amazigh : Tassenante (Ait youssef, 2006).
- Nom français : la ronce à feuilles d'orme (Lazli et al., 2019).
- Nom anglais : *Elmleafblackberry* (Anonyme, 2003)
- Synonymes : *Murier sauvage*, *Murier des haies* (Equipe des enseignants, 2007 ; Paul, 2007 ; Messaoudi, 2008).

III. 3. Les variétés de *Rubus ulmifolius* S. :

8 espèces indigènes courantes en Europe occidentale : la ronce à feuilles d'orme *Rubus ulmifolius*, la ronce naine ou des tourbières *Rubus chamaemorus*, la ronce commune *Rubus fruticosus*, la ronce bleue *Rubus caesius*, la ronce des rochers *Rubus saxatilis*, la ronce tomenteuse *Rubus tomentosum*, la ronce arctique *Rubus arcticus* et la ronce hérissée *Rubus hirtus* (Bertrand,1997).

IV. Les exigences écologiques :

Les différentes espèces de *Rubus* tolèrent les climats des régions froides comme des régions tempérées, on les retrouve au bord des mers.

L'espèce *Rubus ulmifolius* S., à l'état sauvage tolère les habitats ouverts, on les rencontre dans des endroits ensoleillés ou semi ombrés, au sol, elle tolère les sols argileux, la craie et même des sols pauvres tant qu'ils ne sont pas à sec (Annonyme, 2003).

V. Habitat et répartition :

Elle se rencontre dans les lisères des forêts, clairières, les talus, sur les décombres ou elle forme des haies compactes et infranchissables. Elle a été largement cultivée en Europe et en Afrique du nord mais on la trouve aussi en Asie et en Algérie, dans les forêts du Tell (Halimi, 2004 ; Fazio et al., 2013).

VI. Les effets thérapeutiques de *Rubus ulmifolius* S. :

Rubus ulmifolius S. était utilisée comme médicament traditionnel au Chili pour ses propriétés hypoglycémiques (Lemus et al., 1999). Il été utilisé aussi comme agent antipyrétique et carminatif (Ahmad et al., 2013).

En Italie, la plante est utile en médecine populaire pour traiter des maladies telles que les hémorroïdes, la diarrhée, les yeux rouges, les inflammations intestinales, les abcès, les ulcères ainsi que les infections vaginales (Manganelli et Tomei, 1999).

Les feuilles fraîches sont appliquées localement avec de la graisse de porc dans le traitement des infections de la peau et des tissus mous et une décoction des racines est utilisée comme shampooing pour éviter la perte de cheveux (Quave et al., 2012).

Les décoctions des boutons floraux sont utilisées pour les douleurs menstruelles, les troubles de la ménopause, les maladies du foie, les aphtes, la gingivite et l'hypertension (Martins et al., 2014).

VII. Travaux antérieurs :**VII. 1. Composition chimique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. :**

Les boutons floraux de *R. ulmifolius* sont caractérisés par la présence de composés phénoliques et les dérivés d'ellagitanins sont les plus abondants dans cette partie de plante (**Martins et al., 2014**).

Les fruits sont riches en composés phénoliques également, tels que les anthocyanes, les flavonols et les ellagitanins (**Panizzi et al., 2002**). Les fruits contiennent des niveaux élevés de flavonoïdes (**Flamini et al., 2002**).

Dans les feuilles de *R. ulmifolius*, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'hyperoside, le kaempférol 3-O-rutinoside et la naringénine ont été identifiés. Les racines de cette plante contiennent des dérivés de l'acide ellagique et des saponines (**Tabarki et al., 2017 ; Quave et al., 2012**).

VII. 2. Activités biologiques de *Rubus ulmifolius* S. :

Les différentes activités biologiques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. sont :

- Activité hypoglycémique (**Ali et al., 2017**).
- Activité antioxydante (**Schulz et al., 2019**).
- Activité microbienne (**Ibba et al., 2021**).
- Activité antipyrétique (**Ali et al., 2017**).
- Activité antifongique (**Naidu, 2000**)
- Activité anti inflammatoire (**Pandey et al., 2013**).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. Objectif de l'étude :

Dans le cadre de l'étude des activités anti-hémolytique et antimicrobienne des plantes à intérêt nutritionnel et biologique, nous nous sommes intéressées à l'espèce *Rubus ulmifolius* S. Nous avons effectué notre expérimentation au sein du laboratoire de recherches des produits naturels « LAPRONA » Université Abou Bakr Belkaid- Tlemcen.

II. Matériel végétal :

Les feuilles de *Rubus ulmifolius* S. ont été achetées chez un herboriste durant le mois d'Avril 2023. Elles ont été nettoyées avec un pinceau pour éliminer la poussière puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Cette dernière est conservée dans des boîtes en verre opaque et hermétiquement fermée.

III. Extraction des composés phénoliques (Yu et Dahlgren, 2005)

L'extraction hydroacétonique 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.

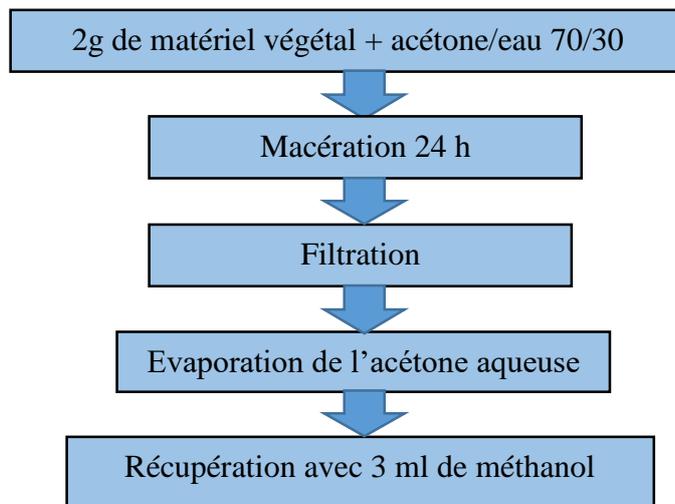


Figure 13 Protocole d'extraction des polyphénols (Yu et Dahlgren, 2005).

IV. Extraction des tanins totaux (Bruneton, 1999)

2.5g de poudre végétale sont ajoutés à 50 ml du mélange eau-acétone 35/15 (v/v), puis laisser macérer pendant 4 jours à froid (4°C). Après filtration et évaporation de l'acétone, la phase aqueuse est reprise dans 25 ml du dichlorométhane. La décantation des deux phases après 24 heures. La phase aqueuse est extraite par 50 ml d'acétate d'éthyle, puis est soumise à une évaporation à sec et enfin récupérée dans 3 ml de méthanol.

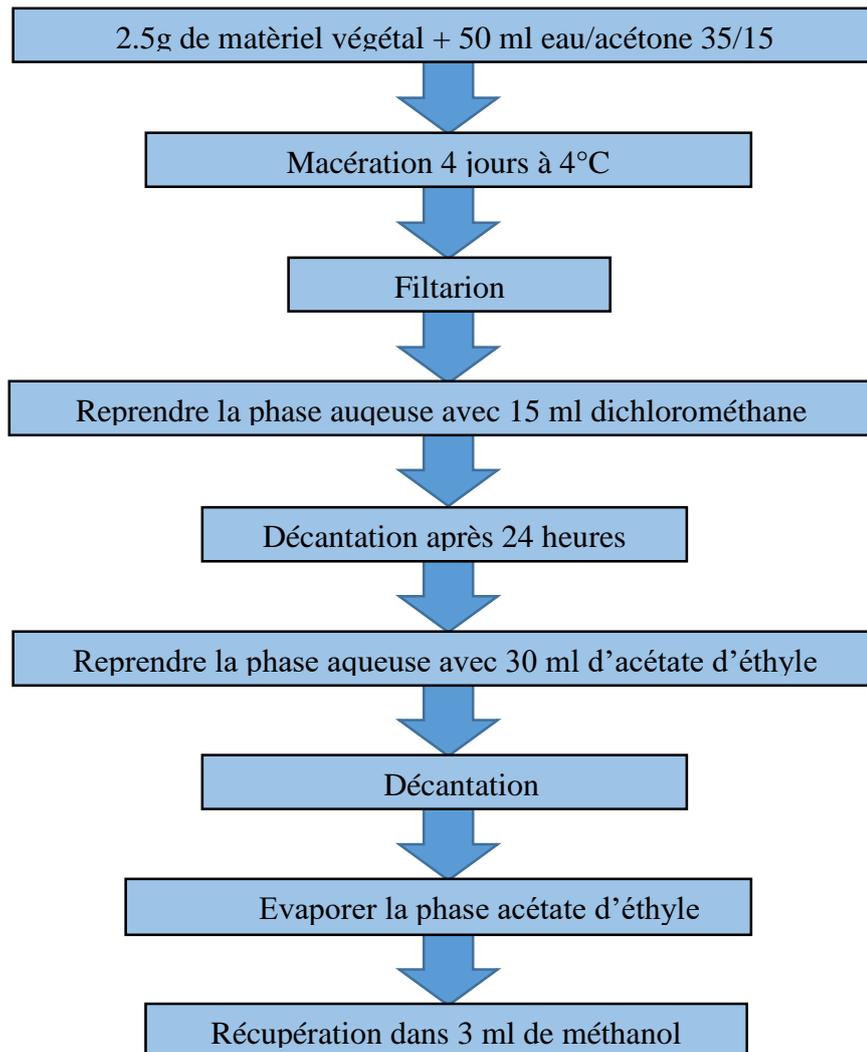


Figure 14 Protocole d'extraction des tanins totaux (Bruneton, 1999) .

V. Évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. :

V. 1. Principe :

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher l'hémolyse des GR, induite par l'hypotonie et la chaleur 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).

V.2. Mode opératoire :

- Centrifuger du sang prélevé d'un sujet sain sur des tubes héparines à 3000 tours/ 10min ;
- Après élimination du surnageant, laver le culot 3 fois avec la solution tampon phosphate saline (PBS) (ph 7,4) ;
- Reconstitué sous forme de suspension de 10% (v /v) (GR) avec une solution tampon phosphate saline (PBS) (ph 7,4) ;
- Préparer 5 concentrations de dilution d'extrait dans le PBS : 0.015, 0.031, 0.062, 0.125 et 0.25 mg/ml ;
- Ajouté 0.5ml de l'extrait de chaque concentration avec 1.5ml du PBS (pH 7.4) ;
- Additionné 2ml d'une solution hypo- saline (NaCl 0.36 %) ;
- Incuber les tubes à 37°C pendant 20min ;
- Après incubation, ajouter 0.5ml de la suspension du GR (10%) ;
- Incuber les tubes à 56°C pendant 60min ;
- Refroidissement des tubes à l'eau courante ;
- Après centrifugation (2500 tours/ 5 min), utiliser le surnageant pour mesurer la fuite de l'hémoglobine intracellulaire à 560nm ;
- Préparer un contrôle dans les mêmes conditions opératoires en remplaçant l'extrait avec 0.5ml du tampon phosphate saline PBS ;
- Préparer le dosage de l'acide ascorbique (0.09mg/ml ; 0.187 mg/ml ; 0.357 mg/ml et 0.75mg/ml) dans les mêmes conditions expérimentales.

Expression des résultats : **% de stabilité membranaire = $(Ac - At / Ac) \times 100$**

Dont : **Ac** : absorbance du contrôle ; **At** : absorbance du test.

VI. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

:

Dans un premier temps, nous avons testé les extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. vis-à-vis des microorganismes (bactéries et levure) par une méthode rapide (la méthode de diffusion sur disque) et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI).

VI. 1. Stérilisation du matériel :

L'eau distillée, embouts de micropipette, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Whatman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

VI. 2. 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 les levures pendant 24 h à 48 h, puis ensemencées sur boîtes contenant des milieux sélectifs 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 sont ensemencées 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) (Pessini et al., 2003), et $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures (DO = 0,12 à 0,15 / $\lambda = 530$ nm) (Pfaller et al., 1998).

Dans le tableau 4 sont énumérées les souches microbiennes testées.

Tableau 4 : Origines des souches bactériennes et fongiques utilisées.

<i>Bactéries à Gram négatif</i>	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
<i>Bactéries à Gram positif</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC49452
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633
<i>Levure</i>	<i>Candidat albicans</i> ATCC 10231

VI. 3. Méthode de diffusion sur disque :

Afin de tester l'activité antimicrobienne des extraits, nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme par diffusion à partir de disques imprégnés.

Pour effectuer le test, des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés de 10 µl d'extraits solubilisés dans le DMSO sont déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (2 disques par boîte), préalablementensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension microbienne (10^6 UFC/ml pour la levure et souches bactériennes) pendant 10 – 15 min. L'excédant de l'inoculum est éliminé par aspiration (**Joffin et Leyral, 2001**). Les milieux de culture utilisés, sont la gélose Mueller-Hinton pour les bactéries, le milieu Sabouraud pour les levures. 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. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré (mm), le disque est inclus.

VI. 4. 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.

200 µl d'une solution préparée à partir de 2 ml de bouillon Mueller Hinton, 100 µl d'extrait (polyphenol et tannin) des feuilles de *Rubus Ulmifolius* S. et 100 µl de DMSO, sont transférés dans une microplaque à 96 puits et une gamme de concentrations de chaque huile essentielle est effectuée par des dilutions au demi dans les milieux de culture.

A partir d'une culture microbienne de 24 h d'incubation, nous avons préparé un inoculum de 10^6 UFC/ml (pour les bactéries) et 10^4 UFC/ml (pour la levure) dans une solution de chlorure de sodium (0,9%).

Ensuite 100 µl de cet inoculum sont homogénéisés dans chaque puits de la gamme de concentrations préalablement préparée puis incubée à 30 ± 1 °C ou 37 ± 1 °C pendant 24 ou 48 h. Deux puits représentent les témoins négatifs : un 1er puits contient le milieu de culture et l'inoculum et un 2ème puits contient uniquement le milieu de culture.

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.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le monde végétal offre des ressources inépuisables et l'homme depuis les temps les plus anciens, a appris à utiliser les plantes avec opportunité pour ses besoins les plus élémentaires (Bernard, 2001).

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est en croissance partout dans le monde, mais une grande majorité des personnes ne connaît pas les effets secondaires des plantes, ni quand et comment elles peuvent être utilisées en toute sécurité (Zakariya et al., 2012).

1. Test d'activité anti-hémolytique :

L'étude de l'activité anti-hémolytique *in vitro* des extraits phénolique et tanique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. a été réalisée en utilisant la technique de stabilisation membranaire des globules rouges (GR). L'évaluation de la stabilisation membranaire a été mesurée par le taux de libération de l'hémoglobine à 560nm pour chaque concentration des extraits utilisés en les comparant à une molécule de référence qui est l'acide ascorbique.

Les résultats sur la figure 15 montrent une forte activité anti-hémolytique, cette activité est dose dépendante. Le standard utilisé est l'acide ascorbique, il présente un effet anti-hémolytique de (35,63% ; 43,75% ; 56,88% et 65,63%) à des concentrations (0,09mg/ml ; 0,187 mg/ml ; 0,357 mg/ml et 0,75mg/ml) respectivement. L'effet protecteur augmente au fur et à mesure avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et atteint son maximum 74,06% à la concentration 1,5 mg/ml.

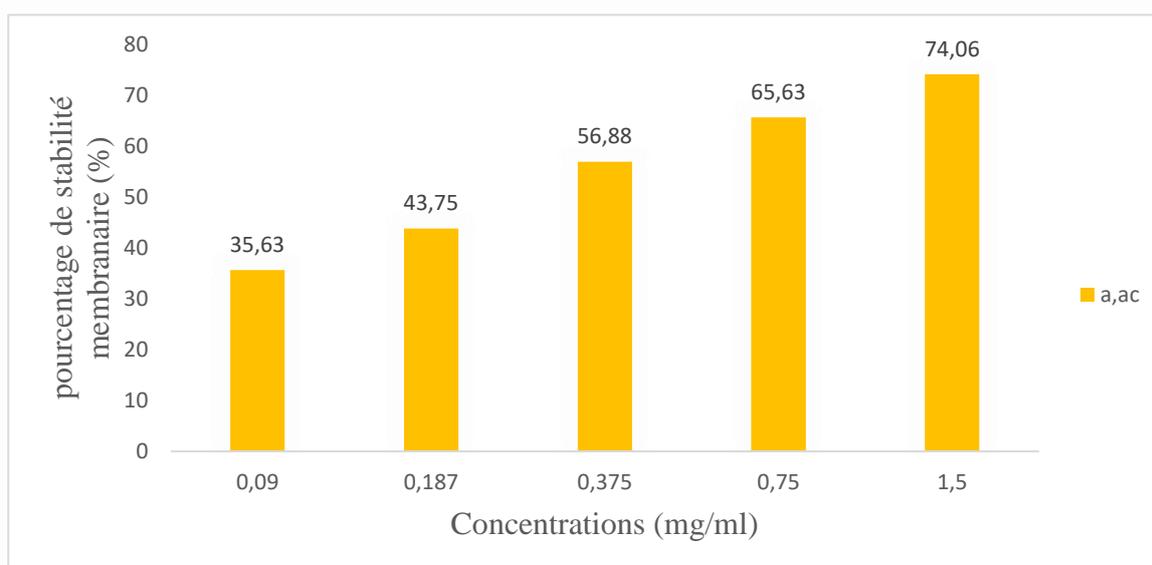


Figure 15 pourcentages de la stabilité membranaire de l'acide ascorbique.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de l'extrait polyphénolique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. varie avec la concentration dans une gamme de concentrations allant de 0,015 à 0,125 mg/ml avec des pourcentages allant de 44.24% à 87.7% (**figure 16**).

L'activité protectrice des membranes en présence d'extrait polyphénolique augmente avec l'augmentation de la concentration de 44.25% à la concentration 0.015mg/ml et atteignant 81,67% à la concentration 0.062mg/ml.

L'effet inhibiteur de l'hémolyse des globules rouges par l'extrait polyphénolique des feuilles de *R.ulmifolius* se stabilise à 86.7% à la concentration de 0.125 mg/ml.

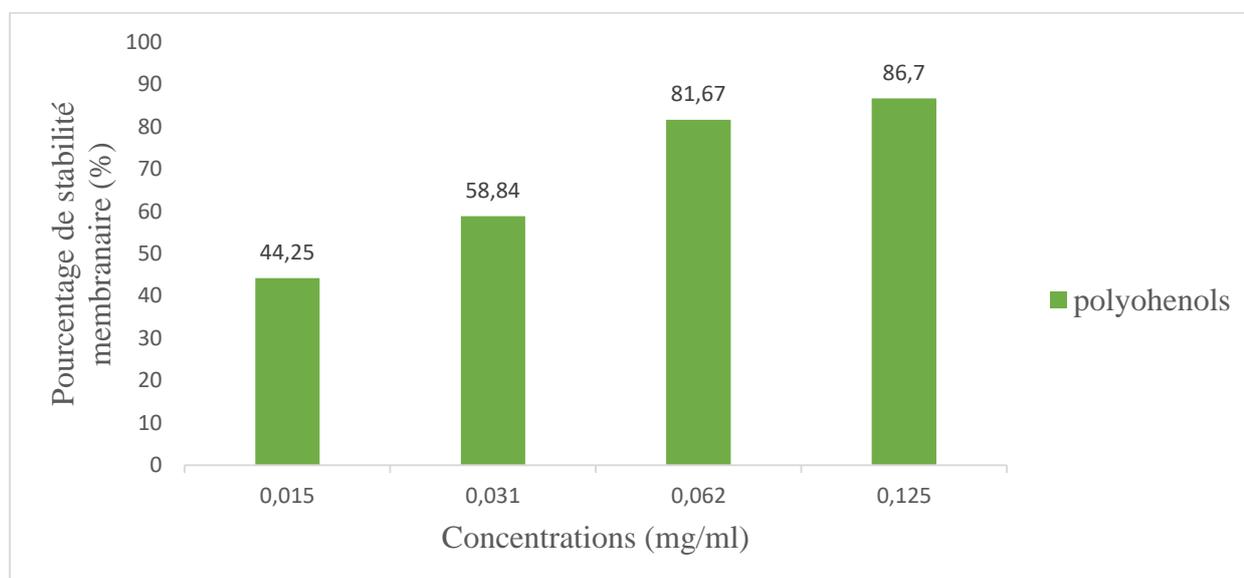


Figure 16 Pourcentages de la stabilité membranaire de l'extrait polyphénolique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse de l'extrait tannique varie avec la concentration dans une gamme de concentrations allant de 0,015 à 0,125 mg/ml avec des pourcentages de 9,35% à 77,46% (**figure 17**).

Les données obtenues avec l'extrait tannique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. indiquent qu'il présente une activité anti-hémolytique importante. Cette activité stabilisatrice de la membrane des GR augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait tannique 9.35% à la concentration 0.015mg/ml, 15.97% à la concentration 0.031mg/ml et 56.16% à la concentration 0.062mg/ml respectivement.

L'effet anti-hémolytique atteint son maximum de 77.46% à une concentration égale à 0.125mg/ml de l'extrait tannique.

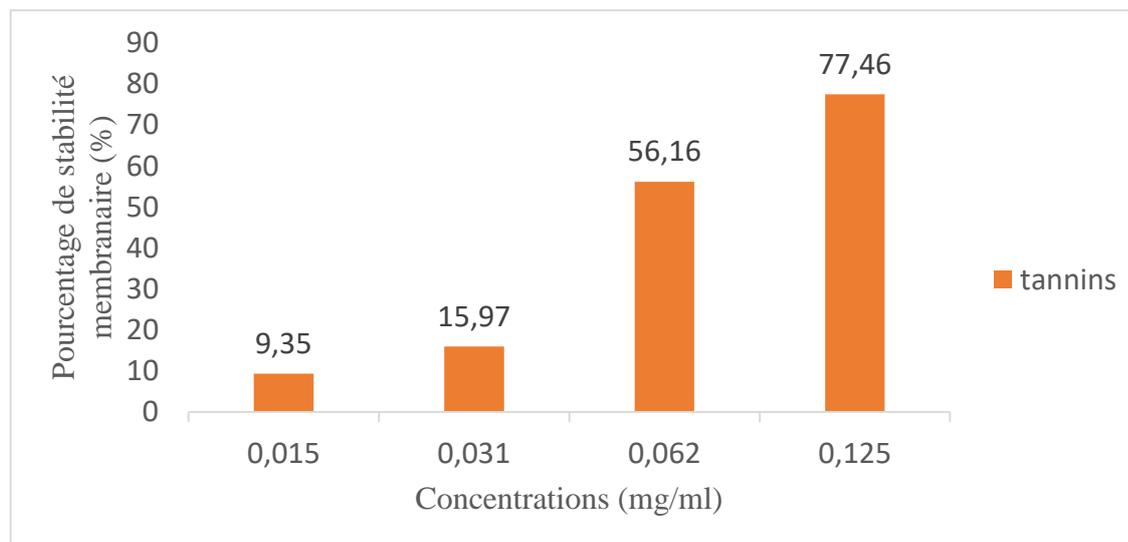


Figure 17 pourcentages de la stabilité membranaire de l'extrait tannique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S

Selon la **figure 18**, nous constatons que l'extrait polyphénolique a un meilleur effet anti-hémolytique 86.7% que l'extrait tannique 77.46% à la même concentration égale à 0.125mg/ml. Aussi l'acide ascorbique a montré des pourcentages d'inhibition d'hémolyse plus élevés, mais était présent en concentration beaucoup plus grande que les extraits testés des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

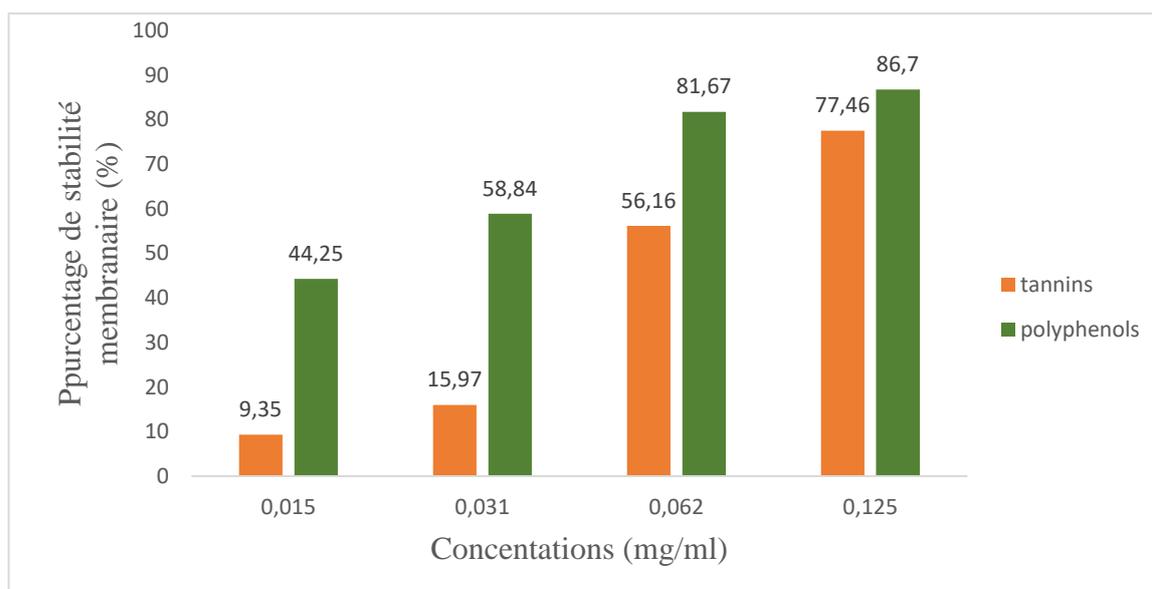


Figure 18 pourcentages de la stabilité membranaire des extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

Dans la présente étude, les extraits présentent des propriétés inhibitrices satisfaisantes contre l'hémolyse à de faibles concentrations et ont montré un potentiel anti-hémolytique important. Cette constatation trouve sûrement son explication, dans son effet synergique entre les constituants de ces extraits, et l'effet pourrait être attribué à la présence de fortes concentrations de substances phénoliques.

En effet, les composés phénoliques contenus dans ces extraits peuvent probablement jouer un rôle important dans les voies biologiques de la protection contre l'hémolyse induite par les radicaux **(Ak et Gulcin, 2008)**.

Les polyphénols, antioxydants naturels, possèdent un effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse osmotique **(Chaudhuri et al., 2007)**. Cette activité est effective grâce à l'intégration dans la couche lipidique externe de la membrane érythrocytaire et modifient l'arrangement de la partie hydrophile, sans changer la fluidité de la partie hydrophobe. L'emplacement de ces composés dans la partie hydrophile de la membrane semble constituer un bouclier de protection de la cellule contre les substances toxiques en particulier les formes réactives de l'oxygène **(Bonarska-Kujawa et al., 2010)**.

De plus, les polyphénols pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer, qui peuvent renforcer les effets oxydants par la production des radicaux hydroxyles (OH·) **(Mladěnka et al., 2011)**.

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés anti-hémolytique de l'espèce *Rubus ulmifolius* Schott.

D'après les résultats obtenus par **Ruiz Vigo (2020)** la capacité anti-hémolytique maximale de l'extrait hydroalcoolique des fruits de *Rubus ulmifolius* S. était de 75.37%. Cependant nos extraits des feuilles *Rubus ulmifolius* S. sont plus actifs.

2. Évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

2.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) :

L'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode permet de tester différents composés contre un seul microorganisme dans une même boîte de Pétri **(Rios et Recio, 2005)**.

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

La méthode de disque a permis de déterminer l'action des différents extraits, des espèces sélectionnées, dissouts dans le DMSO vis-à-vis des différentes souches microbiennes, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un microorganisme à un autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits s'explique par les variations de leurs compositions chimiques. 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**).

Le pouvoir antimicrobien de l'extrait phénolique et tannique est obtenu par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilisation des souches (**Ponce et al., 2003**).

- Extrêmement sensible (+++) : plus de 20mm
- Très sensibles (++) : de 15 à 19mm
- Sensibles (+) : de 8 à 14mm
- Non sensibles - : moins de 8mm

Au vu des résultats obtenus dans le Tableau 5, nous remarquons que la majorité des extraits testés ont un effet inhibiteur envers la croissance de toutes les souches microbiennes testées.

Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles

Plante étudiée / anti biotique	Extraits des feuilles	Diamètre des zones d'inhibition (mm)					
		Bactéries Gram +			Bactéries Gram -		Levure
		Bs	Ef	Lm	Cf	Pmi	Ca
<i>Rubus ulmifolius</i> S.	Tanins (19.33mg/ml)	12.75	10.75	7	13	10	6
	Polyphénols (82.75mg/ml)	9.75	12.5	10	9.5	15.25	10
	DMSO	6	6	6	6	6	6
Anti biotique	GENT	14	16	11	29	24	NT
	Nys	NT	NT	NT	NT	NT	15

Bs : *Bacillus subtilis* ; En: *Enterococcus faecalis* ; Lm: *Listeria monocytogènes* ; Cf : *Citrobacter frendin* ; Pmi: *Proteus mirabilis*, Ca : *candida albicans* ; GENT : gentamicine, Nys : nystatine. NT : non testé.

• **Extrait tannique :**

Des zones d'inhibition de l'extrait tannique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. varient de 7 à 13 mm pour les souches bactériennes et de 6 mm pour la levure (**tableau 5**).

Les souches bactériennes présentent une sensibilité avec des diamètres d'inhibition qui varient de 10 à 13 mm ; pour *Citrobacter freundii* ATCC 8090 (13mm), *Bacillus subtilis* ATCC6633 (12.75mm), *Enterococcus faecalis* ATCC49452 (10.75mm) et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 (10mm).

Les plus faibles diamètres d'inhibition ont été observés avec *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 (7 mm) et avec *Candida albicans* (6mm), cela indique une résistance envers l'extrait tannique des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

Nous constatons que l'extrait tannique est plus actif sur les souches bactériennes que les levures.

• **Extrait Polyphénolique :**

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait polyphénolique de la plante étudiée varie d'une souche à une autre, qui montre que cet extrait présente l'activité antibactérienne la plus importante vis-à-vis de *Proteus mirabilis* ATCC 35659 dont le diamètre de la zone d'inhibition de sensibilité est de 15.25mm (**tableau 5**).

Les souches bactériennes présentent une sensibilité avec des diamètres d'inhibition qui varient de (9.5 à 12.5 mm) pour *Enterococcus faecalis* ATCC49452 (12.5mm), *Bacillus subtilis* ATCC6633 (9.75mm), *Citrobacter freundii* ATCC 8090 (9.5mm) et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 (10mm) comparable avec la gentamicine.

En ce qui concerne *Candida albicans* le diamètre de la zone d'inhibition est de 10mm cela signifie une sensibilité modérée envers l'extrait phénolique.

2.2. Résultats des CMI

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessous (Tableau 6), nous avons remarqué que cette méthode confirme les résultats obtenus avec la méthode de diffusion sur disque.

Aussi, nous remarquons que l'extrait polyphénolique est efficace contre *Proteus mirabilis* ATCC 35659 qui s'est montrée sensible avec une CMI de l'ordre de 10.34 mg/ml. Plus, l'extrait a un effet bactériostatique avec des CMI égales à 20.68mg/ml sur *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Enterococcus faecalis* ATCC49452 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313. L'extrait polyphénolique présente une faible activité bactériostatique et paraît moins actif avec une CMI à 41.375mg/ml sur *Citrobacter freundii* ATCC 8090.

Tableau 6 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits des feuilles

Plante étudiée	Extraits des feuilles	CMI (mg/ml)				
		Bactéries Gram +			Bactéries Gram -	
		Bs	En	Lm	Cf	Pmi
<i>Rubs Ulmifolius</i> S.	Tanins (19.33mg/ml)	4.83	19.33	N.T	9.66	9.66
	Polyphénols (82.75mg/ml)	20.68	20.68	20.68	41.375	10.34

Bs : *Bacillus subtilis* ; En: *Enterococcus faecalis* ; Lm: *Listeria monocytogènes* ; Cf : *Citrobacter frendin* ; Pmi: *Proteus mirabilis* N.T : non testé.

Nous pouvons confirmer que les tannins des feuilles de *Rubud ulmifolius* S. sont les plus actifs contre toutes les bactéries testées avec des CMI variant entre 4.83 et 19.33 mg /ml. Cependant, la souche bactérienne *Bacillus subtilis* ATCC6633 s'est révélée la plus sensible avec une CMI de 4.83 mg/ml.

L'efficacité optimale de l'extrait brut peut être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés. L'activité inhibitrice des extraits est plus faible que celle obtenue avec les antibiotiques standards utilisés, à savoir la Gentamicine et la Nystatine. Il est clair que l'activité antibactérienne de nos extraits reste inférieure à celle des antibiotiques de référence. Cependant, ces extraits exercent une activité antibactérienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits (**Sökmen et al., 2012**).

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires ainsi que le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique de ces composés pouvant entraîner la toxicité des microorganismes (**Mahboubi et Haggi, 2008**). L'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs à savoir : l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé et la sensibilité des bactéries. Les conditions de séchage et de broyage de la plante peuvent être aussi à l'origine de l'absence de l'activité antibactérienne (**Jones et al., 2014**).

Le mécanisme d'action des extraits polyphénolique et tannique de la plante étudiée est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'extrait d'une plante riche en composés bioactifs exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe ; ce qui entraîne: une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire, une acidification de l'intérieure de la bactérie en bloquant la production de l'énergie cellulaire ainsi que la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Il est aussi bien établi que certains composés bioactifs des plantes dont les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont connus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être dû à l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaire, à l'inhibition des enzymes hydrolytique (lesprotéases et les carbohydrases) ou lié à d'autres interaction avec les effecteurs ou substrat et ions métalliques en inactivant par exemple les adhésines microbiennes et les protéines de transport (**Cowan, 1999 ; Dhaouadi et al., 2010**).

D'après une étude menée par **Tabarki et al. (2017)** l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. ont montré une activité antimicrobienne significative contre six bactéries utilisées. Les diamètres des zones d'inhibitions et les valeurs de

la concentration minimale inhibitrice se situant respectivement entre 8 et 16mm et entre 6.25 et 25mg/ml.

La formation de biofilms par *Staphylococcus aureus* a été inhibée par l'extrait butanolique des racines de *Rubus ulmifolius* à des concentrations comprises entre 50 et 200 µg/ml, ce qui a été attribué à la présence d'acide ellagique et de ses dérivés (**Quave et al., 2012**).

Il a également été identifié que l'acide ellagique xyloside et l'acide ellagique rhamnoside dans les extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. inhibaient la formation de biofilms par *Staphylococcus aureus* (**Fontaine et al., 2017**).

Dans une autre étude, la structure de la Rubanthrone A, un anthrone dérivé des parties aériennes de *Rubus ulmifolius* S., s'est révélée avoir une activité *in vitro* contre *Staphylococcus aureus* à une concentration de 4,5 mg/ml (**Flamini et al., 2002**).

Les cultures planctoniques de *Streptococcus pneumoniae* ont été complètement éradiquées à une concentration *in vitro* de 80 µg/mL de l'extrait butanolique après une nuit d'incubation (**Talekar et al., 2014**).

L'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* avec des valeurs de concentration minimale inhibitrice CMI entre 6,25-25 mg/ml et des zones d'inhibition entre 8- 16 mm de diamètre contre six bactéries différentes a été observée et était plus élevée pour les bactéries Gram- positives (**Tabarki et al., 2017**). Ce qui est en accord avec nos résultats dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait tannique qui présente des CMI variant entre 4.83mg/ml et 19.33mg/ml et des diamètres de zones d'inhibitions qui varient entre 7 et 13 mm.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Les remèdes à base de plantes médicinales constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Actuellement, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en composés bioactifs à savoir les polyphénols et les tanins qui possèdent des activités biologiques (**Daglia, 2012**).

Jusqu'à aujourd'hui, la source la plus fiable des principes actifs et leurs propriétés thérapeutiques c'est les plantes médicinales.

Pour cela nous avons contribué au sein du laboratoire de recherche des produits naturels « **LAPRONA** » à l'évaluation de l'activité anti-hémolytique vis-à-vis des globules rouges humains et de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de différentes souches microbiennes responsables des pathologies des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S.

A la lumière des résultats obtenus, il est important de préciser qu'une activité positive anti-hémolytique et antimicrobienne dépend de la variation quantitative et/ou qualitative des composés phénoliques présents dans les extraits car toute substance active peut être toxique à certaines doses.

Globalement, nos résultats ont démontré que les extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. avaient un potentiel protecteur contre l'hémolyse. L'extrait polyphénolique en particulier présente une très bonne activité anti-hémolytique (86.7 %) voir supérieure à celle de l'extrait des tanins (77.46 %) et à l'acide ascorbique (74.06%).

Les résultats positifs obtenus lors de l'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits de *Rubus ulmifolius* S. sont en effet très encourageants. Principalement, l'extrait tannique qui a présenté une très bonne activité anti microbienne par rapport à l'extrait polyphénolique contre la souche bactérienne *Bacillus subtilis* mais aucun effet antifongique vis-à-vis de *Candida albicans*

Nous pouvons conclure après analyse que l'espèce *Rubus ulmifolius* S. possède plusieurs fonctions biologiques : anti-hémolytique et antimicrobienne, attribuable à la présence de composants bioactifs dans ses feuilles.

Comme perspectives nous nous proposons de ;

- élargir le spectre d'activités biologiques : anti cancéreuse, anti ulcéreuse ...
- caractériser après isolement les principes actifs qui sont responsables des propriétés pharmacologiques.
- élargir l'étude par utilisation de techniques plus performantes et par différentes méthodes.

- préciser la toxicité des extraits pour déterminer leur utilisation.
- approfondir les recherches pour d'autres plantes médicinales algérienne.

La mise au point de médicament bio à base de ces extraits, nécessite plus d'études c'est pourquoi ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires poussée sur d'autres composés par d'autres techniques, afin d'établir une relation structure- activité.

Il serait très intéressant d'exploiter et approfondir plus les recherches de ses activités ainsi que d'autres activités *in vivo* et *in vitro* sur les caractéristiques des composés actifs dans les extraits de cette plante pour dévoiler d'autres activités biologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

* A *

Abderrazak M, Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. p : 177. ISBN 10: 2100506382.

Ahmad N, Anwar S, Fazal H, Abassi BH. (2013). Plantes médicinales utilisées en médecine indigène par les habitants de la vallée de Madyan dans le district de Swat, au Pakistan. *Int J Med plantes aromatiques*, 3(1) : 47-54.

Ait Youcef M. Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press, Paris, 2006.

Ak T, Gulcin I. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological*, 174(1): 27-37.

Akhtar K, Ali Shah SW, Shah AA, Shoaib M, Haleem SK, Sultana N. (2017). Pharmacological effect of *Rubus ulmifolius* Schott as antihyperglycemic and antihyperlipidemic on streptozotocin (STZ)-induced albino mice. *Applied Biological Chemistry*, 60 (4), 411-418.

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 *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 221: 46-53.

Ali N, Shoaib M, Shah SWA, Shah I, and Shuaib M. (2017). Pharmacological profile of the aerial parts of *Rubus ulmifolius* Schott. *BMC Complement. Altern. Med*, 17: 59.

Aliouat F. (2014). Etude des activités antioxydantes et antiproliférative réalisées in vitro des extraits méthanoliques fruit et partie aeriennne (feuilles et tiges) d'une plante médicinale : *Rubus ulmifolius* Schot. Pp: 32-34.

Amarti F, El Ajjouri M, Ghanemi M, Satrani B, Aafi A, Farah A, Khia A, Guedira M, Chaouche A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobiennne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9(3) : 149-157.

Ane S. La phytothérapie se soigner par les plantes. Edition Nogaret thrhart, Paris, 2006. 191p.

Arrif S. (2009). Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre *Verbascum* : *V. ballii* et *V. dentifolium*. Thèse de Doctorat en Science. Université El Hadj Lakhdar- Batna. Faculté des Sciences. Département de Chimie. 172p.

Asres K, Seyoum A, Veereshan C, Bucar F, & Gibbons S. (2005). Naturally derived anti HIV agents. *Phytother. Res*, 19: 557-581.

Atefeibu ESL. (2002). Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii*. Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p.

* B *

Bachy E, Houot R, et Dony A. (2015). Hématologie adulte et pédiatrique. *Onco Hématologie (Ellipses)*, 9 : 44-46.

Bandeira RV, Melai B, Ciono P, Flamini G, Pistelli L. (2016). Aroma profile of *Rubus ulmifolius* flowers and fruits during different ontogenetic phases. *Chemistry & biodiversity*, 13 (12) : 1776-1784.

Belhacène L, Gritti C, Sirvent L, & Argagnon O. (2021). Compte-rendu de la première sortie batologique du groupe *Rubus* de la SBOcc : le Haut-Languedoc. *Carnets botaniques*, 75 : 1-15.

- Beloued A. :** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger 2005, 284p.
- Benaissa O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*. Constantine. 63.
- Benslama A. (2016).** Substances d'Origine Végétale. Université Mohamed Khider Biskra, 68.
- Bernard B.** Plantes médicinales du monde croyance et réalité. Edition ESTEM, 2001. 199p.
- Bergogne-Bérézin E, Dellamonica P. (1999).** Antibiothérapie en pratique clinique. 2ème Ed. Masson. Paris. France.
- Bertrand B.** Collection Le compagnon végétal. Volume 5. Ed. de Terrain, 1997.
- Bérubé-Gagnon, J.** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. : Université du Québec à Chicoutimi, 2006.
- Bezzaz, N.** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magistère : chimie organique. M'sila : Université de M'sila. Algérie, 2014, page 14.
- Bodas R, Lopez S, Fernandez M, Garcia-Gonzalez R, Rodriguez A, Wallace R. (2008).** In vitro screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 245-258.
- Bonarska-Kujawa D, Pruchnik H, Oszmianski J, Sarapuk J et Kleszczynska H. (2010).** Changes Caused by Fruit Extracts in the Lipid Phase of Biological and Model Membranes. *Food Biophysics*, 6(1): 58–67.
- Boudjouref M.** Etude de l'activité anti oxydante et anti microbienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif, 2011.
- Bragazza L, Freeman C. (2007).** High nitrogen availability reduces polyphenol content in Sphagnum peat. *Science of the Total Environment*, 377: 439–443.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Edition : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.
- Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 198-260 p.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition Lavoisier. Paris. 1234p.

* C *

- Caillet S, Lacroix M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand Frappier, université de Laval (Québec) .
- Chanforan C. (2010).** Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes

modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université D'AVIGNON et des PAYS de VAUCLUSE.

Chaudhuri S, Banerjee A, Basu K, Sengupta B, Sengupta PK. (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.

Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, Maes L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro "proof-of-concept". *Journal of Ethnopharmacology*, 106: 290-302.

Cowan MM. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564 – 582.

Crestini C, Lange H. (2015). A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, 123: 139–147

* D *

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. P: 317. 22.

Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 1-8.

Dellile A. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3ème Ed. Bert. 6: 11-144.

Dey A, Nandy S, Mukherjee A, Modak BK. (2021). Sustainable utilization of medicinal plants and conservation strategies practiced by the aboriginals of Purulia district, India: a case study on therapeutics used against some tropical otorhinolaryngologic and ophthalmic disorders. *Environ Dev Sustain*, 23(4): 5576–5613.

Dreyfus B, Cordonnier C, Vernant JP. (1992). Anémies hémolytiques extracorporelles non immunologiques. In : Breton-gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP éd. L'hématologie de Bernard Dreyfus. Paris : Flammarion : 509-523.

Dhaouadi K, Raboudi F, Estevan C, Barrajon E, Vilanova E, Hamdaoui M, Fattouch S. (2010). Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (59): 402-406.

* E *

Egert S. and Rimbach G. (2011). Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements?. *Advances in nutrition*, 2 : 8-14.

Equipe des enseignants : Phytothérapie, la santé par les plantes du Dumenat, phytothérapie faculté de médecine. Paris XII Bio, 2007.

Evans KJ, Symon DE, Whalen MA, Hosking JR, Barket RM, Oliver JA. (2007). Systematics of the *Rubus fruticosus* aggregate (Rosaceae) and other exotic *Rubus* taxa in Australia. *Australian Systematic Botany*, 20: 187-251.

* F *

- Fazio A, Plastina P, Meijerink J, Witkamp RF, Gabriele B. (2013).** Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: Fatty acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory properties of the methanolic extracts. *Food chemistry*, 140(4) : 817-824.
- Ferrez Y, Royer JM. (2015).** Identification de dix espèces communes de *Rubus* du nord-est de la France. *Les Nouvelles Archives de la Flore jurassienne et du nord est de la France*. 13 : 126-127.
- Fettah A . (2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat : université mohamed khider biskra.
- Ferrez Y, Bornand C. (2019).** Nouvelles observations de taxons de *Rubus* (sous-genre *Rubus*) dans le canton de Vaud. *Bulletin du Cercle vaudois de botanique*, 48 : 125-140.
- Flamini G, Catalano S, Caponi C, Panizzi L, Morelli I. (2002).** There anthrones from *Rubus ulmifolius*. *Phytochemistry*, 59: 873-876.
- Fontaine BM, Neelson K, Lyles JT, Jariwala PB, Garcia-Rodriguez JM, Quave CL, et Weinert EE. (2017).** Identification de l'acide ellagique rhamnoside en tant que composant bioactif d'un extrait botanique complexe avec une activité anti biofilm. *Frontiers in Microbiology*. 8 : 496.

* G *

- Goldstein :** Enseignement supérieur Médecins ; Lille 2003.
- Gravot A. (2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- Guignard JL. (2000).** Les composés aromatiques In : Biochimie végétal. Ed : Dunod. 161- 217.

* H *

- Halimi A.** Les plantes médicinales en Algérie. Edition BERTI, Alger 2004, 304p.
- Hartzfeld PW, Forkner R, Hunter MD, Hagerman AE. (2002).** Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *J.Agric. Food Chem*, 50: 1785-1790.
- Hayek SA, Gyawal IR, Ibrahim SA. (2013).** Microbial Pathogens and strategies for combating Them : science, technology and Education- Volume 2 : Antimicrobial Natural Products. *Formatex Research Center : Badajoz*, 910- 920.
- Horde P. (2014).** Hémolyse – Définition. sante-medecine.commentcamarche.net.

* I *

- Ibba A, Piras A, Rosa A, et al. (2021).** Fatty Acid Profile Antimicrobial Activity of *Rubus ulmifolius* Schott Extracts Against Cariogenic Bacterium *Streptococcus mutans*. *biointerface research in applied chemistry*, 125(1): 25-33.

Iserin P. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins. 2nd édition, Dorling Kindersley Limited, Londres. 2001.

*** J ***

James A. Le pouvoir des plantes, Edition MARABOUT. Paris 1997, 697p.

Joffin JN, Leyral G. (2001). Microbiologie technique 1 dictionnaire des techniques. 3ème Ed. Biologie Technique. Bordeaux. France.

Jones M, Ying J, Huttner B, Evans M, Maw M, Nielson C, Rubin MA, Green T, Samore MH. (2014). Relationships between the importation, transmission, and nosocomial infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an observational study of 112 Veterans Affairs Medical Centers. *Clinical infectious diseases*, 58(1): 32-39.

*** K ***

Kumar S, and Pandey AK. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 162750: 1-16.

*** L ***

Lamy E, Rawel H, Schweigert FJ, Silva FC, Ferreira A, Costa AR, Antunes C, Almeida AM, Coelho AV, Sales-Baptista E. (2014). The effect of tannins on mediterranean ruminant ingestive behavior: the role of the oral cavity. *Molecules*, 16 : 2766-2784.

Lemus I, Garcia R, Delvillar E, Knop G. (1999). Activité hypoglycémiante de quatre plantes utilisées en médecine populaire chilienne. *Recherche en phytothérapie : PTR*, 13(2) : 91-94.

*** M ***

Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Lausanne, Presse Polytechniques et universitaires romandes, 2005, 192p. (collection Biologie).

Mahboubi M, Haghi G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Menthapulegium* L. essential oil. *Journal of ethnopharmacology*, 119(2): 325-327.

Manganelli RU, Tomei P. (1999). Ethnopharmacobotanical studies of the Tuscan Archipelago. *J Ethnopharmacol*, 65(3) : 181-202.

Marc T, Gérard W, Denis L. (2001). Classification es anti-inflammatoire, in : Guide de pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4^{ème} Ed. 426p.

Martin A, Barros L, Carvalho AM, Santos-Buelga C, Fernandes IP, Barreiri F, et al. (2014). Phenolic extracts of *Rubus ulmifolius* Schott flowers : characterization, microencapsulation and incorporation into yogurts as nutraceutical sources, *Food Funct*, 5: 1091-1100.

Mezzour H, Belhaj Khelifa A, Neffati F, Douki W, Ben Amor A, Najjar MF (2006). Determination de l'hémoglobine plasmatique et evaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en Biochimie Clinique. *Revue francophone des laboratoires*, 386 : 59- 64.

Messaoudi S. Les plantes médicinales. Edition Dar EL FIKR TUNIS. 2008, 200p.

Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Mladenka P, Macakova K, Filipský T, Zatloukalova L, Jahodar L., Bovicelli P. et Saso L. (2011). In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5): 693-701.

Mohamedi Z. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Université Abou Bakr Belkaid, 2006.

* N *

Naidu AS. (2000). Natural food antimicrobial system. Boca Raton, FL : CRC Press.

* O *

Okusa PN, Penge O, Devleeschouwer M, Duez P. (2007). Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). *J. Ethnopharmacol*, 112 : 476–481.

Oyedapo 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 *

Paul I. Larousse des plantes médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2007. 235p.

Pandey R, Pandey R et Shukla SS. (2013). Anti-inflammatory potential of ethanol extract of *Rubus ulmifolius* (Schott). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 6(3): 300-303.

Panizzi L, Caponi C, Catalano S, Cioni PL, Morelli I. (2002). In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *J. Ethnopharmacol*, 79: 165-168.

Pessini GL, Prado Dias Filho Celso B, Nakamura V, Cortez DAG. (2003). Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper Regnelli* (Miq). C.D.C. Var. *Pallescens* (C.D.C). Yunk. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, P 98.

Pfaller MA, Messer SA, 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.

Ponce AG, Fritz R, Delvalle C, et Roura SI. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic*, 3.

Psotová J, Lasovsky J, and Vicar J. (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomedical Papers*, 147(2): 147-153.

* Q *

Quave CL, Estévez-carmona M, Compadre CM, Hobby G, Hendrickson H, Beenken KE, Smeltzer MS. (2012). Ellagic acid derivatives from *Rubus ulmifolius* inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and improve response to antibiotics. *PloSone*, 7(1): 28737.

Quideau S. (2009). Chemistry and Biology of an underestimated class of bioactive plant polyphenols Ellagitannins. *World Scientific Publishing*, 1-367.

* R *

Redondo LM, Chacana PA, Dominguez JE, Miyakawa MEF. (2014). Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in microbiology*, 5(118) : 1-7.

Rene B. Dictionnaire thérapeutique de plantes. 2009.

Richter G. (1993). Métabolisme des végétaux.p.p: 267,287,296,297,409, 411 ,439,451.

Rios JL, Recio MC. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 : 80-84.

Robert A. : Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinal science et thérapeutique, 2^{ème} édition Max Wichtl. 2003.

Roux D. Catier O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du cahier du préparateur en pharmacie, 141- 146.

Ruiz-Rodríguez BM, Sánchez-Moreno CB, De Ancos B, de Cortes Sánchez-Mata M, Fernández-Ruiz V, Cámara M, Tardío J. (2014). Wild Arbutus unedo L. and Rubus ulmifolius Schott fruits are underutilized sources of valuable bioactive compounds with antioxidant capacity. *Fruits*, 69(6): 435-448.

Ruiz Vigo W. Comparaison de l'activité anti hémolytique d'extraits hydro alcoolique de fruits de Rubus ulmifolius « mure » et de Rubus idaeus « framboise ». Faculté des Sciences de la Santé., Perou., 2020.

* 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.

Sarni-Manchado P. & Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier, 02-11.

Schulz M, Seraglio SKT, Della Betta F, Nehring P, Valese AC, Daguer H, Gonzaga LV, Costa ACO, Fett R. (2019). Blackberry (Rubus ulmifolius Schott) : Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in edible stages. *Food Research Internationnal*, 122 : 627-634.

Seragui S, Derraji S., Mahassin F. and Cherrah Y. (2013). Résistance bactérienne: Etat de lieu au Maroc. *Maroc Medical*, 35(3): 199-205.

Shankari SL, Babu NA, Rani V, and Priyadharsini C. (2014). Flavonoids: clinical effects and applications in dentistry: a review. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 6(1): S26- S29.

Sili Cycle Inc. 2017. SiliaPlate – TLC Visualization Methods. Vol. Quebec City. 2017.

Sökmen BB, Aydın S, and Kınalıoğlu K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistesscruposus* (Schreb) Norman. *IUFS Journal of Biology*, 71(1) : 43-51.

Stevanovic T, & Perrin D. (2009). Chimie du bois. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes, 179-180.

Streichman S et Gescheidt Y. (1998). Cryohemolysis for the detection of hereditary spherocytosis: correlation studies with osmotic fragility and autohemolysis. *AJH*, 58: 206- 12.005.

*** T ***

Tabarki S, Aouadhi C, Mechergui K, Hammi KM, Ksouri R, Raies A, et al. (2017). Comparaison of phytochemical composition and biological activities of *Rubus ulmifolius* extracts originating from four regions of Tunisia. *Chem. Biodiversity*, 14.

Talkar SJ, Chochua S, Nelson K, Klugman KP, Quave CL, Vidal JE. (2014). 220 D-F2 from *Rubus ulmifolius* kills *Streptococcus pneumoniae* planktonic cells and pneumococcal biofilms. *Plos One*, 9(5): 97314.

Tekwu EM, Pieme AC, Beng VP. (2012). Investigations Of Antimicrobial Activity Of Some Cameroonian Medicinal Plant Extracts Against Bacteria And Yeast With Gastrointestinal Relevance. *Journal Of Ethnopharmacology*, 142: 265-273.

Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2 : 1231-1246.

*** W ***

Wilhelm N. (1995). Botanique général.10^{ème} édition.

*** Y ***

Yu Z, & Dahlgren RA. (2005). Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage. *J.Chem.Ecol*, 26: 2119-2140.

*** Z ***

Zakaria I, Ahmat N, Jaafar FM, Widyawaruyanti A. (2012). Flavonoids with antiplasmodial and cutotoxic activities of *Macaranga triloba*. *Fitoterapia*, 83: 968-972.

Ziegler J, Facchini P. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *AnnualReview of Plant Biology*, 59: 735 – 769.

Résumé

Rubus ulmifolius Schott connue sous le nom de la mure sauvage est une plante largement utilisée en médecine populaire pour ses propriétés thérapeutiques. Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet anti-hémolytique et antimicrobien des extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. L'évaluation de l'activité anti-hémolytique a démontré que les extraits polyphénoliques et tanniques des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. possèdent un effet inhibiteur de l'hémolyse induit par l'hypotonie et la chaleur important avec un pourcentage de 86.7 % et 77.46 % respectivement à la concentration de 0.125mg/ml. Cette activité anti-hémolytique est supérieure à celle de l'acide ascorbique (74.06%) à 1.5 mg/ml. L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundin*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*. L'extrait tannique a présenté la meilleure activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 12,75mm mais aucun effet antifongique. L'extrait polyphénolique quant à lui a présenté une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Proteus mirabilis* avec un diamètre de la zone d'inhibition de 15.25mm, et une activité antifongique modérée. les CMI ont indiqués que la souche *Bacillus subtilis* ATCC6633 s'est révélée la plus sensible vis-à-vis de l'extrait tannique avec une CMI égale à 4.83 mg/ml confirmant ainsi les résultats de la méthode de diffusion sur disques. Cette étude a permis de déduire que les feuilles de *Rubus ulmifolius* S. constituent un gisement intéressant qui mérite d'être exploiter dans différents domaines notamment le domaine de la santé de par ses propriétés biologiques.

Mots clés : *Rubus ulmifolius*, la mure sauvage, activité anti-hémolytique, activité antimicrobienne.

Abstract

Rubus ulmifolius Schott, also known as wild blackberry, is a plant widely used in folk medicine for its therapeutic properties.

The aim of the present study was to evaluate the anti-hemolytic and antimicrobial effect of polyphenolic and tannin extracts from the leaves of *Rubus ulmifolius* S. Evaluation of the anti-hemolytic activity showed that the polyphenolic and tannin extracts of *Rubus ulmifolius* S. leaves have a significant inhibitory effect on hypotonia- and heat-induced hemolysis, with percentages of 86.7% and 77.46% respectively at a concentration of 0.125mg/ml. This anti-haemolytic activity was greater than that of ascorbic acid (74.06%) at 1.5mg/ml. The antimicrobial activity of the extracts was estimated in terms of the diameter of the zone of inhibition around the discs containing the extracts to be tested against *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundin*, *Proteus mirabilis* and *Candida albicans*. The tannin extract showed the best antibacterial activity against *Bacillus subtilis* with a diameter of the zone of inhibition equal to 12.75mm, but no antifungal effect. The polyphenolic extract showed significant antibacterial activity against *Proteus mirabilis*, with a zone of inhibition diameter of 15.25mm, and moderate antifungal activity. The MICs showed that the *Bacillus subtilis* ATCC6633 strain was the most sensitive to the tannin extract, with a MIC equal to 4.83 mg/ml, confirming the results of the disk diffusion method. This study has shown that the leaves of *Rubus ulmifolius* S. constitute an interesting resource that deserves to be exploited in various fields, particularly health, due to its biological properties.

Keywords : *Rubus ulmifolius*, the Wild blackberry, activity anti-hemolytic, anti-microbial activity.

المخلص

Rubus ulmifolius Schott المعروف باسم بلاك بيري البري هو نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب الشعبي لخصائصه العلاجية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد للانحلال والتأثير المضاد للميكروبات لمستخلصات البوليفينول والتانين لأوراق *Rubus ulmifolius* S. أظهر تقييم النشاط المضاد للانحلال أن مستخلصات البوليفينول والتانين لأوراق *Rubus ulmifolius* S. لها تأثير مثبط كبير لانحلال الدم الناجم عن نقص التونز والحرارة بنسبة 86.7 % و 77.46 % على التوالي بتركيز 0.125 مغ/م. هذا النشاط المضاد للانحلال أكبر من نشاط حمض الأسكوربيك (74.06%) عند 1.5 مغ/م. تم تقدير النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات من حيث قطر منطقة التثبيط حول الأقراص التي تحتوي على المستخلصات المراد اختبارها ضد *Bacillus subtilis* و *Enterococcus faecalis* و *Listeria monocytogenes* و *Citrobacter freundin* و *Proteus mirabilis* و *Candida albicans* أظهر مستخلص التانين أفضل نشاط مضاد للبكتيريا ضد *Bacillus subtilis* بقطر منطقة التثبيط يساوي 12.75 مم ولكن ليس له تأثير مضاد للفطريات. أظهر مستخلص البوليفينول، من جانبه، نشاطا مهما مضادا للبكتيريا تجاه *Proteus mirabilis* بقطر منطقة التثبيط 15.25 مم، ونشاط معتدل مضاد للفطريات. وأشار MIC أن سلالة *Bacillus subtilis* ATCC6633 ثبت أن الأكثر حساسية فيما يتعلق استخراج التانين مع MIC يساوي 4.83 مغ / مل مما يؤكد نتائج طريقة الانتشار على الأقراص. جعلت هذه الدراسة من الممكن استنتاج أن أوراق *Rubus ulmifolius* S. تشكل وديعة مثيرة للاهتمام تستحق الاستغلال في مختلف المجالات، ولا سيما مجال الصحة بسبب خصائصها البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: *Rubus ulmifolius*، العليق البري، نشاط مضاد للانحلال، نشاط مضاد للميكروبات.